

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201990579 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.09.30

(22) Дата подачи заявки
2017.08.23

(51) Int. Cl. *A61K 38/39* (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 9/02 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТА КОЛЛАГЕНА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СПОСОБНОСТИ К
ВЫНОСЛИВОСТИ И СТИМУЛЯЦИИ РАСЩЕПЛЕНИЯ ЖИРОВ

(31) 10 2016 116 160.8; 10 2017 102 873.0

(32) 2016.08.30; 2017.02.14

(33) DE

(86) PCT/EP2017/071184

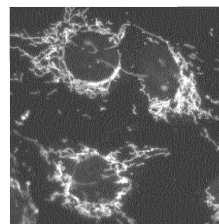
(87) WO 2018/041684 2018.03.08

(71) Заявитель:
ГЕЛИТА АГ (DE)

(72) Изобретатель:
Эссер Штеффен, Хаусманнс Штефан,
Фрех Ханс-Ульрих (DE)

(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к применению гидролизата коллагена для улучшения способности к выносливости путем повышения митохондриальной активности. Кроме того, изобретение относится к применению гидролизата коллагена для стимуляции расщепления жиров, и в особенности для уменьшения массы тела, путем повышения митохондриальной активности.



A1

201990579

201990579

A1

ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТА КОЛЛАГЕНА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СПОСОБНОСТИ К ВЫНОСЛИВОСТИ И СТИМУЛЯЦИИ РАСЩЕПЛЕНИЯ ЖИРОВ

5

Настоящее изобретение относится к применению гидролизата коллагена для улучшения способности к выносливости.

10

Кроме того, изобретение относится к применению гидролизата коллагена для стимуляции расщепления жиров, и в особенности для уменьшения массы тела.

15

Гидролизат коллагена, который в особенности получают путем ферментативного гидролиза исходных материалов животного происхождения, содержащих коллаген, состоит из смеси пептидов, молекулярная масса которых распределена в определенном диапазоне размеров в зависимости от исходного материала и условий получения. Применение гидролизата коллагена в качестве биологически активной пищевой добавки известно достаточно давно, в частности для профилактики и/или лечения нарушений, связанных с костями, суставами или соединительной тканью, тем более что удалось доказать стимулирующее действие пептидов коллагена на синтез эндогенной

20

внеклеточной матрицы в этих типах тканей (см., например, Bello et al., *Curr. Med. Res. Opin.* 2006 (22) 2221-2232).

25

В настоящее время неожиданным образом было обнаружено, что гидролизат коллагена также приводит к повышению митохондриальной активности в клетках человека и животных, т.е. к увеличению количества митохондрий на клетку и/или увеличению отдельных митохондрий.

30

Из этого открытия следует, что гидролизат коллагена в соответствии с настоящим изобретением может быть целенаправленно использован для улучшения способности к выносливости и для стимуляции расщепления жиров у людей и животных путем повышения митохондриальной активности в мышечных клетках.

Способность к выносливости организма человека или животного коррелирует со способностью аэробного метаболизма обеспечивать мускулатуру необходимой энергией в форме АТФ (аденозинтрифосфата) в течение более длительного периода времени. Для аэробной способности решающим является

поглощение кислорода, которое, в свою очередь, определяется тремя факторами: поступлением кислорода через легкие, переносом кислорода через сердечно-сосудистую систему и использованием кислорода в мышечных клетках. Тогда как максимальное поступление кислорода в значительной степени
5 предопределено индивидуальными анатомическими данными (общая площадь поверхности альвеол), то перенос и использование кислорода могут быть улучшены с помощью тренировок и других мер, причем последний этап, как правило, является решающим ограничивающим фактором. Поэтому способность к выносливости зависит в основном от количества митохондрий (на мышечную
10 клетку или общую мускулатуру), в которых происходят реакции дыхательной цепи, потребляющие кислород и АТФ.

В целом, повышение митохондриальной активности означает, что скорость метаболизма в организме увеличивается, и для получения энергии большее количество питательных веществ метаболизируется за единицу времени. Однако
15 более высокая катаболическая активность обмена веществ неизбежно приводит (при постоянном поступлении питательных веществ) к усиленному снижению резервов организма, т.е. к стимуляции расщепления жиров. Расщепление длинноцепочечных карбоновых кислот, высвобождаемых из жировой ткани, происходит в основном во всем организме и, особенно в печени, так что для
20 данного аспекта изобретения, в отличие от улучшения способности к выносливости, важны не только митохондрии в мышечных клетках.

В частности, применение гидролизата коллагена в соответствии с изобретением включает нетерапевтическое применение, т.е. введение гидролизата коллагена людям или животным, которые не нуждаются в
25 медицинском лечении с точки зрения их выносливости или массы тела. Скорее, применение осуществляют, с одной стороны, с целью обычно желаемого увеличения способности к выносливости. Это может способствовать улучшению качества жизни и особенно актуально для спортсменов. С другой стороны, снижение массы тела в результате стимуляции расщепления жиров может быть
30 желательным, в первую очередь по косметическим причинам, т.е. для улучшения пропорций тела.

Однако наряду с этим изобретение также охватывает терапевтическое применение гидролизата коллагена для профилактики и/или лечения патологического состояния, характеризующегося снижением митохондриальной

активности. В особенности, патологическое состояние может характеризоваться снижением способности к выносливости и/или увеличением массы тела.

В контексте данного терапевтического применения патологическое состояние предпочтительно выбирают из ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений сердечного ритма, сердечной недостаточности, гипотонии, гипертонии, нарушений обмена веществ, сахарного диабета, метаболического синдрома, сидеробластной анемии, нарушений функции почек и печени, невропатии, атаксии, эпилептических приступов, слабоумия, болезни Альцгеймера, аутизма, депрессий, синдрома хронической усталости, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, рассеянного склероза, инсультоподобных симптомов, мигрени, миоклонии, паралича, невралгий, гиперпатий, гиперестезий, нарушений глотания, рвоты, запора, диареи, дегенерации волокон зрительного нерва и сетчатки, нарушений движения глаз, птоза, ночной слепоты, тугоухости, глухоты и поражений внутреннего уха. При этих показаниях, благодаря повышению количества митохондрий соответственно митохондриальной активности, может быть достигнут терапевтический эффект.

Поскольку повышение митохондриальной активности снижает уровень глюкозы, то введение гидролизата коллагена может также оказать положительное влияние на профилактику и/или лечение рака, т.е. злокачественных опухолей. Это основано на предположении того, что опухолевые клетки покрывают свои потребности в энергии главным образом за счет анаэробного метаболизма (ферментации молочной кислоты) и для этого обязательно зависят от глюкозы. Таким образом, повышенное потребление глюкозы в клетках организма ослабит опухолевые клетки.

В рамках изобретения также было обнаружено, что гидролизат коллагена приводит к повышенной экспрессии фермента АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК). Этот регуляторный фермент равным образом влияет на энергетический метаболизм клетки, так что увеличение количества АМФК оказывает положительное влияние на способность к выносливости и расщепление жиров. Возможно, что существует прямая корреляция между обусловленным гидролизатом коллагена повышением митохондриальной активности и повышением экспрессии АМФК.

В случае любых применений в соответствии с настоящим изобретением гидролизат коллагена предпочтительно вводят энтерально, в частности перорально.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения гидролизат коллагена вводят в форме биологически активной пищевой добавки. Особенно предпочтительным является введение в виде раствора, например, в виде готовых ампул или в виде порошка. Благодаря своей хорошей растворимости, гидролизат коллагена также можно добавлять в различные напитки, не вызывая помутнения. Посредством применения нейтрального на вкус гидролизата коллагена можно повысить его восприятие потребителями.

В соответствии с одним предпочтительным вариантом осуществления изобретения биологически активная пищевая добавка наряду с гидролизатом коллагена не содержит никаких других белков или гидролизатов белков. В известных биологически активных пищевых добавках используют различные белки для наращивания мышечной массы и поддержания мышц, в особенности у спортсменов, с целью замены углеводов и жиров в значительной степени белками в качестве источников энергии. Однако предлагаемое в изобретении применение основано не на действии гидролизата коллагена как источника энергии, а на описанном выше специфическом воздействии на митохондриальную активность.

Соответственно этому в другом варианте осуществления изобретения биологически активная пищевая добавка помимо гидролизата коллагена не содержит других физиологически активных компонентов.

Однако в качестве альтернативы изобретение также включает в себя тот случай, когда гидролизат коллагена вводят в качестве составной части (пищевой) композиции с различными другими составными частями. В частности, гидролизат коллагена может быть добавлен в пищевой продукт или изделия вкусовой промышленности, например, шоколадный батончик, протеиновый батончик или злаковый батончик (так наз. функциональные продукты питания), или в молоко, молочные продукты (например, йогурт) и заменители молока (например, соевое молоко, миндальное молоко и кокосовое молоко).

Независимо от формы введения, гидролизат коллагена обычно вводят в количестве от 1 до 40 г в сутки, предпочтительно от 2,5 до 30 г в сутки, более предпочтительно от 10 до 25 г в сутки, и в особенности от 12,5 до 20 г в сутки.

Если гидролизат коллагена применяют в качестве не единственной физиологически активной составной части биологически активной пищевой добавки, то для применения в соответствии с изобретением его можно комбинировать с одним или несколькими другими компонентами, оказывающими положительное влияние на общее состояние здоровья, и в особенности на способность к выносливости. Такие компоненты предпочтительно выбирают из витамина С, витаминов группы В, D, Е и К, конъюгированных линоленовых кислот, кофеина и его производных, экстракта гуараны, экстракта зеленого чая, галлата эпигаллокатехина, креатина, L-карнитина, L-цитруллина, L-аргинина, α -липоевой кислоты, N-ацетилцистеина, NADH, D-рибозы, аспартата магния, антиоксидантов, таких как антоциан, каротиноидов, флавоноидов, ресвератола, глутатиона, супероксиддисмутазы и ксантанов, таких как мангиферин, минеральных веществ, таких как железо, магний, кальций, цинк, селен и фосфор, а также других белков, гидролизатов или пептидов, таких как соевый, пшеничный или сывороточный белок.

Еще один предпочтительный вариант осуществления изобретения относится к комбинации гидролизата коллагена с убихиноном-10 и/или убихинолом, т.е. окисленной или восстановленной формой коэнзима Q₁₀, причем предпочтение отдают убихинолу в силу его лучшей биодоступности. Даже при ежедневном приеме от 50 до 100 мг убихинола наблюдали положительное влияние на физическую работоспособность, причем повышение митохондриальной активности предполагается благодаря антиоксидантному действию убихинола. Поэтому таким способом может быть поддержано действие гидролизата коллагена при упомянутых выше показаниях, которые сопровождаются митохондриальной дисфункцией. Альтернативно или дополнительно, также возможна комбинация гидролизата коллагена с пирролохинолинхиноном (PQQ), который недавно был обнаружен в качестве важного окислительно-восстановительного кофактора.

В конкретном варианте осуществления изобретения введение гидролизата коллагена комбинируют с тренировкой на выносливость или высотной тренировкой. Тренировки на выносливость могут увеличить аэробную способность обмена веществ. Кроме того, известно, что физическая тренировка в условиях относительной кислородной недостаточности (гипоксическая тренировка) оказывает сильное влияние на способность к выносливости,

поэтому при одновременном приеме гидролизата коллагена в каждом случае можно ожидать синергетический эффект. Это представляет особый интерес для спортсменов.

С другой стороны, в контексте изобретения в такой же степени возможно и целесообразно, если введение гидролизата коллагена осуществляют при отсутствии тренировки на выносливость, высотной тренировки или тренировки мышц. В частности, в экспериментах на животных (см. ниже) было показано, что в соответствии с изобретением воздействия на митохондриальную активность и т.д. уже проявляются в сочетании с нормальной физической активностью.

В соответствии с изобретением молекулярная масса используемого гидролизата коллагена может варьироваться в широких пределах, причем верхняя граница задается тем, что гидролизат коллагена в отличие от денатурированного коллагена или желатина обладает достаточно высокой степенью гидролиза, чтобы быть водорастворимым при комнатной температуре и не превращаться в гель. Растворимые пептиды гидролизата коллагена могут хорошо всасываться в организме. Как правило, гидролизат коллагена имеет среднюю молекулярную массу от 200 до 25.000 Да, предпочтительно от 1.000 до 6.000 Да, более предпочтительно от 1.200 до 4.000 Да, еще более предпочтительно от 1.500 до 3.500 Да, и в особенности от 2.800 до 3.300 Да.

Гидролизат коллагена выгодно получают посредством ферментативного гидролиза исходного материала, содержащего коллаген. Для этого гидролиза в особенности применяют эндопептидазы и/или экзопептидазы микробного или растительного происхождения.

Содержащий коллаген исходный материал, как правило, выбирают из шкур или костей позвоночных животных, предпочтительно млекопитающих, и в особенности из шкур крупного рогатого скота или свиней (спилки крупного рогатого скота соответственно свиные шкуры с остатками жира). Гидролизат коллагена может быть получен из этих исходных материалов либо одностадийным способом, либо с помощью промежуточной стадии желатина, и в этом случае можно использовать как желатин типа А, так и желатин типа В.

В качестве альтернативы, для применения в соответствии с изобретением гидролизат коллагена может быть получен путем экспрессии рекомбинантных генов. При использовании природных коллагеновых последовательностей, в частности от крупного рогатого скота или свиней, и их экспрессии в генетически

модифицированных клетках (например, дрожжах, бактериях или растительных клетках, особенно табаке) могут быть получены продукты, практически идентичные продуктам гидролиза соответствующего содержащего коллаген сырья. При этом можно получить более узкое или точно заданное молекулярно-массовое распределение. Альтернативно, последовательности могут быть изменены вследствие мутаций, чтобы повлиять на определенные свойства продукта.

Кроме этого, объектом настоящего изобретения является способ улучшения способности к выносливости и/или стимуляции расщепления жиров, и в частности для уменьшения массы тела, за счет увеличения митохондриальной активности. Способ предпочтительно включает энтеральное, в особенности пероральное, введение гидролизата коллагена человеку или животному. Способ может быть как терапевтическим, так и нетерапевтическим.

Изобретение будет более подробно пояснено с помощью результатов экспериментов *in vitro* и *in vivo*, которые описаны в контексте нижеследующих примеров.

Представлено:

На фигуре 1: Флуоресцентно-микроскопический снимок клеток SH-SY5Y, которые были инкубированы в присутствии гидролизата коллагена.

Примеры

1. Увеличение числа митохондрий благодаря гидролизату коллагена

Эффективность гидролизата коллагена для увеличения числа митохондрий можно было показать *in vitro* с помощью нервных клеток человека (клеточная линия нейробластомы SH-SY5Y).

Клетки SH-SY5Y инкубировали в культуральной среде с различными концентрациями гидролизата коллагена в 0,05 мас. %, 0,2 мас. % и 2,5 мас. %. Для этого использовали гидролизат коллагена из желатина из свиных шкур с остатками жира со средней молекулярной массой в диапазоне от 3.000 Да, который был получен ферментативным гидролизом (в дальнейшем упоминается как гидролизат коллагена А). Молекулярно-массовое распределение пептидов, которое было определено с помощью гель-проникающей хроматографии, приведено в нижеследующей Таблице 1:

Таблица 1: Распределение ММ гидролизата коллагена А

Фракция	Мас. %
> 7.500 Да	< 10
3.500 – 7.500 Да	20 - 30
1.500 – 3.500 Да	30 - 33
500 – 1.500 Да	25 - 38
100 – 500 Да	< 5

Чтобы сделать возможным прямое определение числа митохондрий, митохондриальный белковый компонент ТОМ20 был флуоресцентно помечен.

5 ТОМ20 представляет собой субъединицу рецепторного комплекса во внешней мембране митохондрий, который выполняет функцию переноса цитозольных белков-предшественников (препептидов) в митохондрии. Там белки, которые являются ферментами дыхательной цепи или цикла лимонной кислоты, активируются путем отщепления предварительной последовательности.

10 Таким образом, количество флуоресцентно меченного ТОМ20, видимое во флуоресцентном микроскопе, является мерой числа митохондрий в клетке. Клетки, инкубированные с 0,05 мас. %, 0,2 мас. % и 2,5 мас. % гидролизата коллагена представлены на фигурах 1А, 1В соответственно 1С, причем с растущей концентрацией отчетливо виден прирост светлой (в оригинале

15 зеленой) флуоресценции в областях вокруг ядра клетки (в оригинале синей). Таким образом, гидролизат коллагена способствует увеличению числа митохондрий в клетках SH-SY5Y, и тем самым повышению общей митохондриальной активности.

2. Активация фермента АМФК гидролизатом коллагена *in vitro*

20 АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК) участвует в снабжении энергией как жировой ткани, так и мышц. Поскольку АМФ образуется при потреблении АТФ, то его можно рассматривать как показатель нехватки энергии. Таким образом, экспрессия АМФК служит для активации энергетических резервов жирового депо и в процессе гликолиза.

25 Чтобы определить влияние гидролизата коллагена на экспрессию АМФК, миоциты человека инкубировали в среде, содержащей 0,5 мг/мл гидролизата коллагена в течение промежутка времени, составляющего 24 часа. После

удаления среды РНК экстрагировали из клеточного слоя, а количество АМФК-РНК определяли с помощью ПЦР с использованием специфичных праймеров.

По сравнению с контролем без гидролизата коллагена АМФК-РНК была значительно увеличена (более чем в 600 раз). Тем самым из этих данных следует стимулирующее влияние гидролизата коллагена на энергетический метаболизм клетки.

3. Активация фермента АМФК гидролизатом коллагена *in vivo*

Положительное воздействие гидролизата коллагена на экспрессию АМФК также можно было подтвердить с помощью исследования на животных *in vivo*.

Для этой цели мышей ежедневно кормили количеством гидролизата коллагена, соответствующим человеческой эквивалентной дозе 10 г, в течение 3 месяцев. После того, как мышей умерщвляли, четырехглавые мышцы полностью иссекали, быстро замораживали и измельчали. Из мышечной ткани были экстрагированы растворимые белки, а количество АМФК было определено с помощью иммуноферментного анализа (ELISA).

По сравнению с контрольной группой, которая не получала гидролизат коллагена, количество АМФК увеличилось в 1,5 - 2 раза.

4. Влияние гидролизата коллагена на выработку NADH *in vitro*

Образование высокоэнергетической формы $\text{NADH} + \text{H}^+$ никотинамидадениндинуклеотида из низкоэнергетической формы NAD^+ эквивалентно обеспечению энергией в форме АТФ. Таким образом, оно представляет собой косвенную меру митохондриальной активности в мышечных клетках.

Для этого эксперимента миоциты человека инкубировали в течение 6 дней в среде, содержащей 0,5 мг/мл гидролизата коллагена. После удаления среды триглицериды экстрагировали, и с помощью ферментов глицеролкиназы и глицерол-3-фосфатдегидрогеназы определяли энергию, содержащуюся в триглицеридах или глицерине, в форме высвобожденного $\text{NADH} + \text{H}^+$.

По сравнению с контролем без гидролизата коллагена количество NADH увеличилось примерно в 2 раза.

5. Повышение плотности митохондрий у крыс *in vivo*

В доклиническом исследовании заметное повышение плотности митохондрий (то есть увеличение количества и/или размера митохондрий) в

скелетных мышцах крыс может быть продемонстрировано путем введения различных гидролизатов коллагена.

Исследование проводили на самцах крыс линии CD[®] IGS (Charles River Laboratories, Sulzfeld), возраст которых в начале периода исследования составлял 64 дня, и масса тела составляла от 300 до 400 г. Тестируемая группа и контрольная группа состояли из шести животных в каждой.

В начале исследования ($t = 0$) у каждой крысы была взята биопсия тонкой иглой из четырёхглавой мышцы бедра (*quadriceps femoris*). Затем животные тестируемых групп в течение четырех недель получали суточную дозу в 200 мг соответствующего гидролизата коллагена (см. ниже) на кг фактической массы тела (что соответствует суточной дозе в 15 г у человека с массой тела 75 кг). Гидролизат коллагена растворяли в концентрации 20 мг/мл в соответствующем количестве водопроводной воды и вводили желудочный зонд. Животные контрольной группы каждый раз получали одинаковое количество водопроводной воды без гидролизата коллагена.

Наряду с описанным выше гидролизатом коллагена А, в других тестируемых группах применяли гидролизат коллагена В из желатина из спилка шкур крупного рогатого скота, который имеет среднюю молекулярную массу 2000 Да, и гидролизат коллагена С из желатина из спилка шкур крупного рогатого скота, который имеет среднюю молекулярную массу 3500 Да, каждый из которых получают ферментативным гидролизом. Распределения молекулярных масс всех трех гидролизатов приведены в нижеследующей Таблице 2:

Таблица 2: Распределение ММ гидролизатов коллагена в мас. %

Фракция	Гидролизат А	Гидролизат В	Гидролизат С
> 7.500 Да	< 10	< 3	4-14
3.500 – 7.500 Да	20-30	10-20	18-25
1.500 – 3.500 Да	30-33	25-32	30-38
500 – 1.500 Да	25-38	40-50	28-36
100 - 500 Да	< 5	< 15	< 7
Средняя ММ	3.000 Да	2.000 Да	3.500 Да

После окончания периода исследования ($t = 4$ н.) всех крыс умерщвляли и снова осуществляли биопсию тонкой иглой четырёхглавой мышцы бедра. В течение четырех недель средний прирост массы у крыс составлял около 30 %, причем между тестируемой группой и контрольной группой не было

5 существенной разницы.

Для определения плотности митохондрий, биопсии, взятые до и после периода исследования, были препарированы для анализа с помощью трансмиссионного электронного микроскопа, как описано в литературных источниках (см. A. Glauert und P. Lewis: Biological Specimen Preparation for

10 Transmission Electron Microscopy, Princeton Legacy Library, 2014). В каждом случае были оцифрованы отдельные участки поверхности биопсии мышц размером $15,17 \times 15,17$ мкм (230 мкм^2) и оценены полуколичественно. При этом с помощью 10 точечных проб из каждой биопсии была определена средняя

15 площадь митохондрий по отношению к общей площади. Митохондрии можно было локализовать благодаря четко видимой, характерной структуре внутренней мембраны с её кристами.

В нижеследующей Таблице 3 представлено развитие плотности митохондрий (мкм^2 митохондрий на 230 мкм^2 общей площади) у животных тестируемой группы с гидролизатом коллагена А:

20 Таблица 3: Временное развитие тестируемой группы А

№ крысы	Тестируемая группа А, $t = 0$	Тестируемая группа А, $t = 4$ н.
1	9,82	11,97
2	10,36	17,44
3	6,84	12,36
4	8,15	17,46
5	8,03	15,61
6	6,18	13,29
Среднее значение	8,23	14,69
Стандартное отклонение	$\pm 1,63$	$\pm 2,48$

В результате введение гидролизата коллагена А в течение четырех недель привело к весьма значительному увеличению плотности митохондрий в среднем на 78,5 %, что также является статистически значимым ($p = 0,001$).

25 Аналогичные данные также демонстрирует сравнение плотности митохондрий между тестируемыми группами с гидролизатами коллагена А, В и

С, а также контрольной группой в каждом случае через четыре недели в соответствии со следующей Таблицей 4:

Таблица 4: Сравнение тестируемых групп А, В и С с контрольной группой

№ крыс	Контрольная группа t = 4 н.	Тестируемая группа А t = 4 н.	Тестируемая группа В t = 4 н.	Тестируемая группа С t = 4 н.
1	8,95	11,97	15,06	14,66
2	6,84	17,44	15,11	18,76
3	11,73	12,36	16,09	19,97
4	8,76	17,46	13,39	16,53
5	9,74	15,61	15,43	19,72
6	10,28	13,29	14,65	17,56
Среднее значение	9,38	14,69	14,96	17,86
Стандартное отклонение	±1,64	±2,48	±0,90	±2,04

5 Плотность митохондрий в тестируемых группах в среднем была на 56,6 % (А), на 59,5 % (В) и на 90,4 % (С) выше, чем в контрольной группе, что также является статистически значимым ($p = 0,001$). Значение «Коэна d» в качестве меры величины эффекта для всех тестируемых групп составляет более 2,5, что в каждом случае представляет собой очень сильный эффект.

10 В заключение, это исследование ясно демонстрирует, что введение гидролизата коллагена приводит к значительному увеличению плотности митохондрий в мышечных клетках, и тем самым также и к соответствующему повышению митохондриальной активности. Этот эффект может быть подтвержден с помощью гидролизатов коллагена различного происхождения.

15 (свиней или крупного рогатого скота) и молекулярно-массового распределения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение гидролизата коллагена для улучшения способности к выносливости путем повышения митохондриальной активности.

5

2. Применение гидролизата коллагена для стимуляции расщепления жиров, и в особенности для уменьшения массы тела, путем повышения митохондриальной активности.

10 3. Применение по п. 1 или 2, причем применение является нетерапевтическим применением, в частности косметическим применением.

15 4. Применение по п. 1 или 2, причем применение представляет собой терапевтическое применение для профилактики и/или лечения патологического состояния, которое характеризуется уменьшением митохондриальной активности, и в особенности сниженной способностью к выносливости и/или повышенной массой тела.

20 5. Применение по п. 4, причем патологическое состояние предпочтительно выбирают из ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений сердечного ритма, сердечной недостаточности, гипотонии, гипертонии, нарушений обмена веществ, сахарного диабета, метаболического синдрома, сидеробластной анемии, нарушений функции почек и печени, невропатии, атаксии, эпилептических приступов, слабоумия, болезни
25 Альцгеймера, аутизма, депрессий, синдрома хронической усталости, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, рассеянного склероза, инсультоподобных симптомов, мигрени, миоклонии, паралича, невралгий, гиперпатий, гиперестезий, нарушений глотания, рвоты, запора, диареи, дегенерации волокон зрительного нерва и сетчатки, нарушений движения глаз,
30 птоза, ночной слепоты, тугоухости, глухоты и поражений внутреннего уха.

6. Применение по одному из предыдущих пунктов, причем гидролизат коллагена вводят энтерально, в особенности перорально.

7. Применение по п. 6, причем гидролизат коллагена вводят в виде биологически активной пищевой добавки, в особенности в виде раствора или порошка.

5 8. Применение по п. 7, причем биологически активная пищевая добавка наряду с гидролизатом коллагена не содержит других белков или гидролизатов белков.

10 9. Применение по п. 7 или 8, причем биологически активная пищевая добавка кроме гидролизата коллагена не содержит других физиологически активных компонентов.

15 10. Применение по одному из пунктов 6 - 9, причем гидролизат коллагена вводят в количестве от 1 до 40 г в сутки, предпочтительно от 2,5 до 30 г в сутки, более предпочтительно от 10 до 25 г в сутки, в особенности от 12,5 до 20 г в сутки.

20 11. Применение по одному из пунктов 1 - 8 или 10, причем гидролизат коллагена комбинируют с одним или несколькими компонентами, которые выбирают из витамина С, витаминов группы В, D, Е и К, конъюгированных линоленовых кислот, кофеина и его производных, экстракта гуараны, экстракта зеленого чая, галлата эпигаллокатехина, креатина, L-карнитина, L-цитруллина, L-аргинина, α -липоевой кислоты, N-ацетилцистеина, NADH, D-рибозы, аспартата магния, антиоксидантов, таких как антоциан, каротиноидов, флавоноидов, ресвератрола, глутатиона, супероксиддисмутазы и ксантанов, таких как мангиферин, минеральных веществ, таких как железо, магний, кальций, цинк, селен и фосфор, а также других белков, гидролизатов или пептидов, таких как соевый, пшеничный или сывороточный белок.

30 12. Применение по одному из пунктов 1 - 8, 10 или 11, причем гидролизат коллагена комбинируют с убихиноном-10 и/или убихинолом, который предпочтительно вводят в количестве от 50 до 100 мг в сутки, и/или с пирролохинолинхиноном (PQQ).

13. Применение по одному из предыдущих пунктов, причем введение гидролизата коллагена комбинируют тренировкой на выносливость или высотной тренировкой.

5 14. Применение по одному из пунктов 1 - 12, причем введение гидролизата коллагена осуществляют при отсутствии тренировки на выносливость, высотной тренировки или тренировки мышц, в особенности в комбинации с нормальной физической активностью.

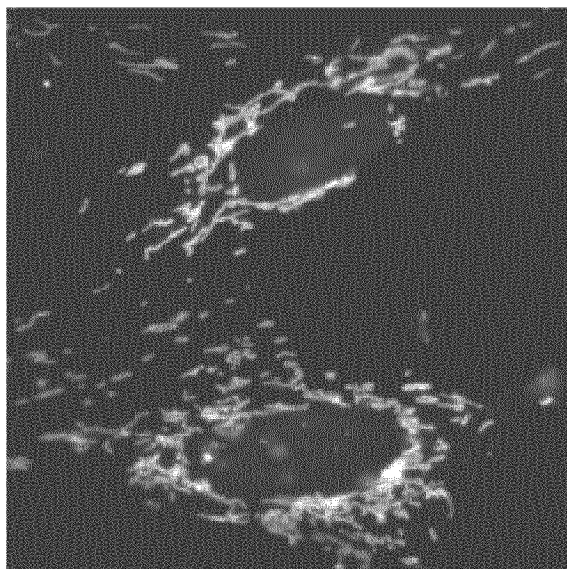
10 15. Применение по одному из предыдущих пунктов, причем гидролизат коллагена имеет среднюю молекулярную массу от 200 до 25.000 Да, предпочтительно от 1.000 до 6.000 Да, более предпочтительно от 1.200 до 4.000 Да, еще более предпочтительно от 1.500 до 3.500 Да, в особенности от 2.800 до 3.300 Да.

15 16. Применение по одному из предыдущих пунктов, причем гидролизат коллагена получают ферментативным гидролизом содержащего коллаген исходного материала.

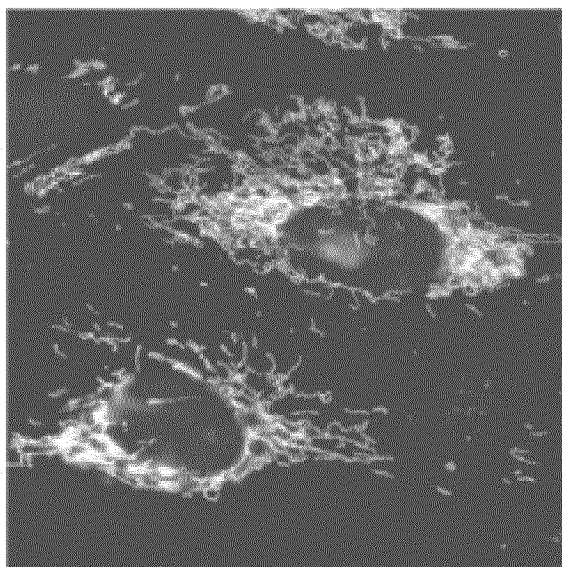
20 17. Применение по п. 16, причем коллагенсодержащий исходный материал выбирают из шкур или костей позвоночных животных, предпочтительно млекопитающих, в особенности шкур крупного рогатого скота или свиней.

25 18. Применение по одному из пунктов 1 - 15, причем гидролизат коллагена получают путем экспрессии рекомбинантных генов.

ФИГ. 1А



ФИГ. 1В



ФИГ. 1С

