

В монографии описаны биотехнологии переработки слоевищ кустистых лишайников с образованием  $\beta$ -олигосахаридов, обладающих свойствами: повышать биоусвояемость фармаконов антибактериального, иммуномодуляторного, актопротекторного, адаптогенного и др. направлений действия; детоксикантов внутренних сред организма; модификаторов гликокаликса клеточных мембран (важно при коррекции метаболических нарушений при сахарном диабете, атеросклерозе, в онкологии). Образование лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов приводит к деиммобилизации из  $\beta$ -полисахаридной матрицы слоевищ лишайников кислот антибактериального действия эффективных даже в отношении микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, на сам природный антибактериальный комплекс реакция устойчивости штаммов бактериальных клеток не развивается. Книга может представлять интерес для широкого круга специалистов в области биотехнологии, медицинской биохимии и биологии, фармакологии, медицины.

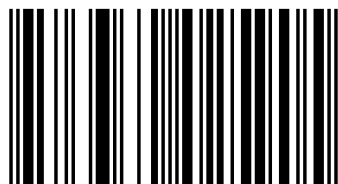


Борис Кершенгольц

# Лишайники: биотехнологии переработки, биопрепараты на их основе



Кершенгольц Борис Моисеевич, доктор биологических наук профессор, академик и вице-президент АН Якутии, главный научный сотрудник Института биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН (Якутск), автор более 420 научных работ (в т.ч. 6 монографий, 42 патента) в области экологической и медицинской биохимии, биотехнологии и радиобиологии



978-3-330-02590-5

**Борис Кершенгольц**

**Лишайники: биотехнологии переработки, биопрепараты на их  
основе**



**Борис Кершенгольц**

**Лишайники: биотехнологии  
переработки, биопрепараты на их  
основе**

**LAP LAMBERT Academic Publishing RU**



## **Impressum / Выходные данные**

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Библиографическая информация, изданная Немецкой Национальной Библиотекой. Немецкая Национальная Библиотека включает данную публикацию в Немецкий Книжный Каталог; с подробными библиографическими данными можно ознакомиться в Интернете по адресу <http://dnb.d-nb.de>.

Любые названия марок и брендов, упомянутые в этой книге, принадлежат торговой марке, бренду или запатентованы и являются брендами соответствующих правообладателей. Использование названий брендов, названий товаров, торговых марок, описаний товаров, общих имён, и т.д. даже без точного упоминания в этой работе не является основанием того, что данные названия можно считать незарегистрированными под каким-либо брендом и не защищены законом о брендах и их можно использовать всем без ограничений.

Coverbild / Изображение на обложке предоставлено: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

Verlag / Издатель:

LAP LAMBERT Academic Publishing

ist ein Imprint der / является торговой маркой

OmniScriptum GmbH & Co. KG

Bahnhofstraße 28, 66111 Saarbrücken, Deutschland / Германия

Email / электронная почта: [info@omniscryptum.com](mailto:info@omniscryptum.com)

Herstellung: siehe letzte Seite /

Напечатано: см. последнюю страницу

**ISBN: 978-3-330-02590-5**

Copyright © Борис Кершенгольц

Copyright © 2016 OmniScriptum GmbH & Co. KG

Alle Rechte vorbehalten. / Все права защищены. Saarbrücken 2016

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН

**ЛИШАЙНИКИ: БИОТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ,  
БИОПРЕПАРАТЫ НА ИХ ОСНОВЕ**

Кершенгольц Б.М.

2017 год

## Оглавление

	стр
1. Введение (биохимический состав лишайников и почему они могут быть источником биоактивных веществ для производства биопрепаратов при биотехнологическом переделе)	4 – 12
2. О лишайниках .....	12 – 16
3. Биотехнологии обработки лишайникового сырья .....	16 - 26
4. Биопрепараты из лишайникового сырья .....	26 - 83
4.1. Способность лишайниковых $\beta$ -олигосахаридов к повышению биодоступности активного вещества комплексных биопрепаратов	26 – 27
4.2. Биопрепараты детоксикационного действия .....	28 – 34
4.3. Коррекция метаболических нарушений при сахарном диабете и атеросклерозе .....	35 - 49
4.4. Антибактериальная активность ягелевых биопрепаратов .....	49 - 59
4.5. Адаптогенная и актопротекторная активность ягелевых биопрепаратов, в том числе в спортивной медицине ...	59 - 72
4.6. Перспективы использования ягелевых биопрепаратов в онкологии ( <i>детоксикация при лучевой и/или химиотерапии; модификация гликокаликса клеточных мембран</i> ) .....	72 - 84
5. Использование ягелевых биопрепаратов в пищевой промышленности .....	84 - 88
Заключение .....	88 - 89
Список цитированной литературы .....	90 - 100

## Аннотация

Монография на 100 с., включая 37 рис., 36 табл., 183 источника.

В монографии приведена краткая информация о кустистых лишайниках: ареалам их произрастания, месту и роли в экосистемах, применению в народной медицине и в питании. Проанализированы материалы по биохимическому составу лишайников и показано, что в неизменном виде они не представляют большого интереса для биотехнологического передела, так как содержащиеся в них биоактивных веществ, включая лишайниковые кислоты, находятся в иммобилизованном виде в ячейках очень прочных  $\beta$ -полисахаридов и обладают очень низкой биоусвояемостью, за исключением особого отдела желудка северных оленей – рубца. Вместе с тем, при биотехнологическом переделе с использованием современных физико-химических процессов, приводящих к разрыву значительной части  $\beta$ -гликозидных связей (кроме того, что происходит деиммобилизация биоактивных веществ, содержащихся в слоевищах - прежде всего лишайниковых кислот антибактериального действия), удастся получить ценнейший продукт – лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды.

Рассмотрены особенности таких биотехнологических методов, как обработка слоевищ лишайников диоксидом углерода в состоянии сверхкритического флюида и механохимическая активация. Благодаря тому, что образующиеся лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды не гидролизуются в желудочно-кишечном тракте, в крови, легко проникают в силу свои малых размеров и бифильности через клеточно-мембранные комплексы, им присущи свойства:

- активных переносчиков через клеточно-мембранные комплексы различного рода фармаконов (микроэлементы, витамины, лишайниковые кислоты, биоактивные вещества антибактериального, иммуномодуляторного, актопротекторного, адаптогенного и др. действия), способствуя тем самым повышению в несколько раз их биоусвояемости;
- детоксикантов внутренних сред организма (кровь, лимфа, межклеточные жидкости), связывая различного рода экзо- и эндотоксины и выводя их из организма;
- модификаторов олигосахаридных комплексов гликокаликса клеточных мембран, что имеет значение при коррекции метаболических нарушений, например, при сахарном диабете, возможно при злокачественных перерождениях клеток (в онкологии).

Кроме того, деиммобилизация лишайниковых кислот антибактериального действия в результате биотехнологического передела приводит к тому, что биопрепараты лишайниковой линейки обладают высокой антибактериальной активностью даже по отношению к лекарственно устойчивым формам, например микобактерий туберкулеза. Причем на сами эти природные антибактериальные комплексы, в силу особенностей их изоструктурного состава, не развивается реакция устойчивости штаммов бактериальных клеток;

Отмеченное выше позволяет считать перспективным продолжение биотехнологических работ направленными на создание на основе лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов комплексных биопрепаратов, в которых фармаконами выступали бы природные биоактивные вещества (из северных лекарственных и пищевых растений и животных тканей) самого разнообразного спектра действия. Причем такое комплексообразование привело бы к резкому повышению уровня биоусвояемости и биоактивности последних, при снижении в несколько раз вводимой дозы. Это является важным во многих отраслях профилактической, спортивной и лечебной медицины, включая эндокринологию, онкологию, наркологию, гематологию, геронтологию и многие другие, а также в целом ряде отраслей ветеринарии и пищевой промышленности.

Книга может представлять интерес для широкого круга специалистов в области биотехнологии, медицинской биохимии и биологии, фармакологии, медицины

Ответственный редактор: д.б.н., профессор Журавская А.Н.

Работа выполнена в рамках проекта №9 Программы ФНИ СО РАН VI.62.1. Фундаментальные основы биотехнологий создания средств терапии и диагностики заболеваний, 2013-2016 гг.



В оболочках гиф содержатся гемицеллюлозы, в межклеточных пространствах - пектиновые вещества, которые, впитывая воду, вызывают набухание слоевища. В относительно большом количестве (до 5% воздушно-сухой массы) содержатся дисахариды (сахароза, трегалоза) и полиспирты (маннит, эритрит, сифулин).

Лишайники содержат много ферментов - амилазу, инвертазу, уреазу, каталазу, лихеназу и другие, в том числе и ферменты внеклеточного действия. Активность ферментов, участвующих в обмене веществ и находящихся в микобионте лишайников, неодинакова. Она зависит от их видовых особенностей. Уреазная активность у лишайников весьма значительна. Например, у *Cladonia verticillata* 75% уреазной активности сосредоточено в фикобионте.

Богаты лишайники и витаминами, в числе которых аскорбиновая и никотиновая кислоты, биотин, цианокобаламин и др., а также пигментами (хлорофилл *a*, *b*, иногда каротины и ксантофиллы).

Вторичные лишайниковые вещества, на долю которых приходится до 5% сухой массы конечные продукты обмена веществ, представляют собой безазотистые соединения фенольного характера, близкие по своей природе к дубильным веществам растений, но более простого строения. Общее их количество достигает 270, из которых около 80 встречаются только в лишайниках. В первую очередь это лишайниковые кислоты (усниновая, леканоровая, анациевая, рамалиноловая, вульпиновая, хризопетраровая, леппариновая, ризокарповая и др.). Функция их окончательно не установлена, но они способствуют разрушению минерального субстрата, подавляют всхожесть семян цветковых растений, а также рост и развитие бактерий, мхов, грибов. Некоторые вещества отличаются горьким вкусом, поэтому не поедаются животными. Другие, напротив, придают лишайнику приятный аромат и яркий цвет, что используется человеком в парфюмерной промышленности и для производства красителей. Специфика веществ, синтезируемых отдельными видами лишайников, имеет большое значение в их классификации (хемотаксономия). Есть и такие, которые встречаются и в других организмах, например мевалоновая кислота и др. Особенностью вторичных лишайниковых веществ является их высокая видоспецифичность.

К вторичным лишайниковым веществам относятся:

- Природные антибиотики - усниновые и другие кислоты и их производные.
- Комплекс веществ антиоксидантного действия: орселиновые, лекноровые, грифоровые, хиастовые кислоты и хиноны (в том числе гидроксинафтохинонов).
- Вещества радиопротекторного действия и защищающие от действия УФ-излучения: гидроксинафтрахиноновые и др. ароматические пигменты, депсидоны, антранорины.
- Полиненасыщенные жирные кислоты, включая  $\omega$ -ненасыщенные ЖК (эйкозопентаеновые и докозагексаеновые).

Лишайниковые кислоты (ЛК) – это обширная группа органических соединений, содержащихся в лишайниках. Встречаются во многих родах лишайников (*Ramalina*, *Evernia*, *Cladonia*, *Anzia* и др.). Обычно для каждого вида лишайников характерно несколько определённых ЛК, что может служить систематическим (таксономическим) признаком.

Водные экстракты из лишайников издавна применялись в народной медицине, т. к. для большинства ЛК характерна антибиотическая активность. Для химического строения всех

ЛК характерно наличие двух остатков полизамещённых фенолов или фенолкарбоновых кислот, связанных друг с другом в различных комбинациях.

К структурному типу депсидов относятся антибиотики сферородин, леканоровая (рис.2, структура I), анациевая, рамалиновая и др. кислоты. Простейший представитель ЛК структурного типа депсидонов — антибиотик физодовая кислота (рис. 2, структура II). К структурному типу дибензофурана относится широко распространённая в лишайниках усниновая кислота (рис. 2, структура III) - эффективный антибиотик, используемый при лечении кожных заболеваний и столбняка.

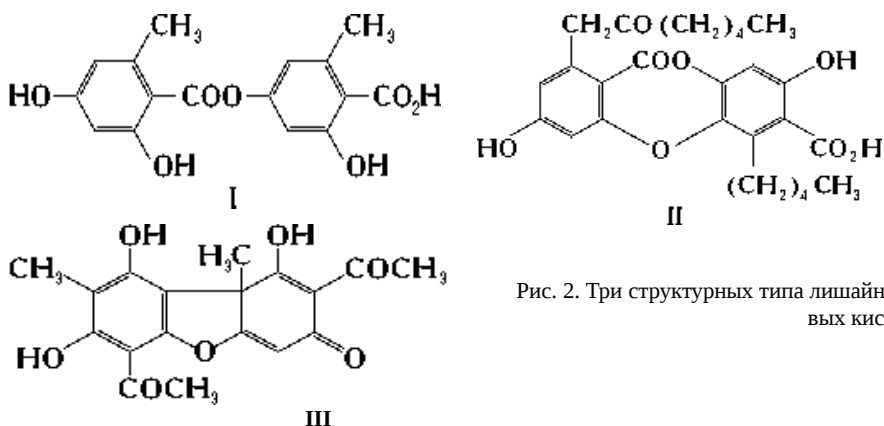


Рис. 2. Три структурных типа лишайниковых кислот.

Все эти типы ЛК биосинтезируются целиком из остатков уксусной кислоты; большинство из них активно против микобактерий.

К четвёртому структурному типу ЛК (1,4-дифенилбутадиена) относятся ядовитые вульпиновая, хризопетраровая и лепрариновая кислоты, а также эпанорин и ризокарповая кислота, содержащие остатки аминокислот лейцина и тирозина.

У лишайников наблюдается избирательное накопление ряда соединений, например цинка, тяжелых металлов, радиоактивных веществ. Поэтому лишайники чаще всего остро реагируют на изменение экологических условий и могут служить индикатором состояния чистоты окружающей среды.

Вместе с тем, анализ литературы по физиологии и ветеринарии северного оленя, а также теоретический анализ биохимических свойств  $\beta$ -олигосахаридов, которые образуются из лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов в рубце северного оленя, показал, что весьма большую ценность должны представлять именно эти соединения, т.к. они:

1) Благодаря своим оптимальным размерам и бифильности, хорошо всасываются в кровь, лимфу, межклеточные жидкости и цитоплазму клеток.

2) Благодаря наличию большого количества разных функциональных полярных и заряженных групп, способны прочно связывать экзогенные и эндогенные токсины во внутренних средах организма человека, в том числе эндотоксины малой и средней молекулярной массы, образующиеся при воспалительных процессах любой этиологии, токсикозах беременности,



обострениях аллергических состояний (гистаминовой интоксикации) и др., а также катионы тяжелых металлов, радионуклиды, токсичные компоненты газовых сред (СО, токсичные оксиды серы и азота), алкогольные токсины, фенольные соединения, токсические альдегиды и кетоны, канцерогены, липидные шлаки и выводить их из организма человека.

3) Будучи «нагруженными» низкомолекулярными активными вещества БАДов и/или лекарств, препаратов *способны существенно повышать их биосовместимость.*

4) Будучи по своему строению похожи на олигосахаридные компоненты гликокаликса клеточных мембран, **способны**, при нарушении структуры последних, *их модифицировать (Важно, при коррекции метаболических нарушений при СД, атеросклерозе, при онкопатологии).*

Из вышеуказанного перечня свойств лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов особо следует выделить их способность к детоксикации внутренних сред организма, т.к. именно экзо- и эндоинтоксикации крови, лимфы, межклеточных жидкостей и субструктур клеток является общей предисторией в патогенезе подавляющего большинства неинфекционных и инфекционных заболеваний человека [Подымов, 1981; Коллагеновые болезни ..., 1962; Мусил, 1985; Классификация и критерии ..., 1995; Гаркави и др., 1998; и др.]. А детоксикация организма, согласно одному из основных положений Стратегии европейского терапевтического общества, является обязательной стадией предшествующей любому терапевтическому или хирургическому лечению организма.

Актуальность разработки способа детоксикации внутренних сред организма связана также с тем, что в условиях глобальных изменений климата, особенно ярко проявляющихся в высоких широтах, и повышения техногенных нагрузок на экосистемы, необходимо поддерживать экологические равновесия (т.е. осуществлять детоксикацию) не только в окружающей среде, но и в организме человека.

В свою очередь, интоксикация внутренних сред организма приводит к:

- Разбалансировкам функционирования иммунной системы, которые приводят либо к иммунодепрессиям и к росту инфекционной заболеваемости, либо к активации аутоиммунных процессов, обуславливающих пандемическому рост аллергических заболеваний и болезней, в патогенезе которых имеются аутоиммунные стадии (ревматоидные артриты и артрозы, сывороточные вирусные гепатиты, астматические заболевания, системные заболевания типа «красной волчанки») либо к онкопатологиям в патогенезе которых имеются стадии толерантности иммунной системы к онкоклеткам.

- Нарушениям функционирования эндокринной регуляторной системы, приводящим к разрегулированию метаболизма на различных иерархических уровнях, в том числе к нарушениям процессов адаптации к изменяющимся условиям среды (гипоталамо-гипофизарная система, надпочечники, щитовидная и поджелудочная железы и др.), и соответственно к формированию болезней адаптации и метаболическим нарушениям: гипертериозам (чаще к гипотериозам), сахарному диабету, атеросклеротическим заболеваниям и т.д. [Соломонов и др., 2006; Кершенгольц и др., 2003; Петрова и др., 1999, 2000; Ревич и др., 2008].

- Повышению встречаемости эндотоксических состояний, включая адреналиновую и гистаминовую интоксикации, эндоинтоксикацию при аутоиммунных воспалительных процессах и метаболических нарушениях.

Вышесказанное позволяет предположить, что повышение степени эндо- и экзоинтоксикации внутренних сред организма вносят весомый вклад в резкое увеличение встречаемости и омоложение в последние десятилетия таких заболеваний, как сахарный диабет, онкопатологии, атеросклеротические болезни, заболевания щитовидной железы и аутоиммунные системные болезни, инфекционные заболевания, в том числе гепатиты, туберкулез и др. Вследствие разбалансировки иммунной и эндокринной регуляторных систем, снижения адаптивного потенциала уменьшается устойчивость организма человека к действию стресс-факторов физической, химической, социально-психологической природы. Это, в свою очередь, вызывает повышение вероятности нарушений в функционировании нейро-регуляторной системы, формирования пограничных психических состояний, включая постстрессовые психосоматические, аддитивные расстройства, «синдром хронической усталости», депрессии и др. [Кершенгольц и др., 2004; Kerchengolts и др., 2001].

Вместе с тем, следует отметить, что даже бурное развитие фармацевтической промышленности, точнее разработка и производство новых, все более активных форм синтетических *моноконпонентных* фармацевтических препаратов, в том числе новых семейств полусинтетических и синтетических антибактериальных и противовирусных препаратов, простагландинов и синтетических цитостатиков, антидепрессантов, продуцентов генно-инженерных технологий эндокринного действия, не приводит к успеху в решении указанных проблем. Причины этого в том, что Природа является неизмеримо мудрее и изобретательнее, чем человек, и в ответ на синтез, например, новых антибиотиков мы получаем всё ускоряющийся процесс формирования лекарственной устойчивости бактериальных штаммов к ним, новые мутантные формы патогенных бактерий и вирусов, формирование иммунодепрессивных состояний в организме человека. В ответ на действие эндокринных препаратов снижается активность желез внутренней секреции, в ответ на безудержное использование антиоксидантных препаратов и биоактивных добавок (БАД) антиоксидантного действия снижается активность пероксисомных органелл клеток, они становятся беззащитными к действию многих канцерогенных факторов среды, соответственно растёт риск онкологических патологий и т.д.

Всё вышесказанное приводит нас к осознанию того, что для сохранения здоровья людей в условиях сочетания глобальных изменений климата и среды обитания вследствие хозяйственной деятельности (особенно в тех группах населения, которые живут и работают в экстремальных условиях) необходимо искать принципиально новые нетрадиционные пути [Хазанов, 2003; Кершенгольц и др., 2004а]. Одним из них может быть использование арсенала, созданного самой Природой, и адаптивного потенциала различных биологических систем, в первую очередь, функционирующих в условиях экстремального климата. Например, разработка биопрепаратов из природного северного растительного и животного сырья, которое отличается повышенным содержанием физиологически активных веществ по сравнению с аналогичными видами из средней полосы России, а главное, обладает большим структурным их разнообразием (изомеры, гомологи, производные по степени окисленности и т.д.)

[Кершенгольц, Жуков, 2006]. Являясь количественной мерой адаптивного потенциала биосистемы, это позволяет им выживать в экстремальных условиях природной и техногенной среды, т.к. именно структурное разнообразие ФАВ регуляторного и защитного действия определяет способность открытой, сильно неравновесной и нелинейной биосистемы к самоорганизации [Кершенгольц, 1995; Кершенгольц и др., 2009; Кершенгольц, Колосова, 2016].

Вместе с тем, так как большинство этих ФАВ являются веществами неспецифического действия (*например, модифицируют активность ферментов биоэнергетических или других общих стадий катаболических и анаболических процессов, обладают антиоксидантами, антибактериальными, иммуномодулирующими, цитостатическими и др. свойствами*), то, будучи введенными в организм человека, они оказывают хороший *биогенный* профилактический и лечебный эффект в качестве ФАВ адаптогенного, регуляторного, иммуномодуляторного, детоксикационного, антибактериального и т.д. действия. Причём структурное разнообразие этих ФАВ, при их использовании в качестве активного вещества биопрепаратов, позволяет избежать негативных побочных эффектов, характерных для монокомпонентных химиофармацевтических препаратов, *например формирования устойчивости патогенных (условно патогенных) штаммов микроорганизмов к действию препарата антибиотического действия*. Следует также отметить, что регуляторным действием в биосистемах, включая организм человека, обладают не отдельные ФАВ, а определённый ансамбль их структурного семейства. Поэтому получать все компоненты такого комплекса синтетическим путём – весьма сложная и дорогая задача. Иное дело разработать биотехнологии их *интактного* выделения из соответствующего вида воспроизводимого и экологически чистого биосырья.

Таким образом, одним из наиболее эффективных подходов корректировки экологических равновесий в организме человека при действии на него экологически неблагоприятных факторов среды, особенно в условиях действия экстремальных климатических и техногенных факторов, является сочетанное использование детоксикации внутренних сред организма в отношении экзо- и эндотоксинов, и повышения адаптивного потенциала организма путем более эффективного использования природных ФАВ, поступающих в организм с продуктами питания и биопрепаратами [Голдовский, 1941; Duarte., Kovoog, 1965; Брехман, Гриневич, 1978; Гаркави и др., 1998; Reigi, 1980; Гриневич и др., 1977; Брехман, Нестеренко, 1988; Кершенгольц и др., 1995, 2003; Петрова и др., 1996, 1999, 2000, 2003].

Процесс создания новых лекарств, биодобавок является длительным и требует больших вложений – именно поэтому актуальным является поиск путей повышения интенсивности уже существующих фарм- и биопрепаратов. В литературе известен подход к разработке высокоэффективных лекарственных препаратов, который основан на использовании метода клатрирования (комплексообразования) фармаконов (активного действующего вещества фармпрепаратов) с растительными гликозидами. Созданные таким путём лекарственные композиции имеют существенно меньшую терапевтическую дозу активно действующей субстанции, следовательно, менее токсичны [Душкин и др., 2010; Толстикова и др. 2007]. Привлекательность предложенного подхода состоит еще и в том, что используются композиции известных, клинически обстоятельно апробированных препаратов с нетоксичными веще-

ствами. Последние, обычно не обладая базовой активностью, служат для того, чтобы, связываясь в комплекс с фармаконом, обеспечить ему защиту от метаболических превращений (инактивации), более совершенный транспорт и повышенное сродство к рецепторам. Эффект клатрирования фармаконов – получение композиций со сниженными дозами и токсичностью, но сохраняющих высокую базовую активность, доказан для комплексов глицирризиновой кислоты с известными препаратами психотропного (флуоксетин, фенибут), кардиотропного (нифедипин, аллапинин), противовоспалительного (ацетилсалициловая кислота, бутадион, индометацин, ортофен, анальгин) и лютеолитического (простагландин клопростенол) действия [Толстикова и др., 2007]. Также важным является и то обстоятельство, что применение известных веществ позволяет резко снизить затраты на доклинические исследования и клиническую апробацию лекарственных композиций.

Одним из наиболее перспективных направлений является создание механохимических комплексов на основе полимерной матрицы природных поли- и олигосахаридов, пролонгирующих действие активного вещества (фармакона), повышающих его биологический (в том числе терапевтический) эффект в несколько раз, при этом снижая дозу и токсичность.

В качестве фармаконов нередко используются физиологически активные вещества лекарственных растений. Традиционное получение ФАВ из растительного сырья включает обязательную стадию – экстракцию растворителями различной полярности. Недостатками традиционной экстракционной технологии выделения ФАВ являются: использование токсичных и пожароопасных органических растворителей, инактивация части ФАВ в процессе экстрагирования, невысокая степень извлечения за одну стадию обработки, и как следствие, многократное повторение экстрагирования, повышение производственных затрат, загрязнение окружающей среды и потеря части ФАВ [Пономарев, 1976].

Одним из перспективных направлений переработки растительного сырья является использование «free solvent» процессов, таких как механохимическая твердофазная обработка без участия растворителей в одну технологическую стадию [Ломовский 1994, 1999, 2001; Ломовский и др., 1998, 1999, 2000; Алтунина и др., 1999; Панкрушина, Ломовский, 2001]. Использование данной твердофазной технологии обработки веществ основывается на физико-химических эффектах, общих для прикладной механохимии – от активации твердых веществ, вследствие разупорядочения и образования дефектов, до осуществления твердофазных химических реакций непосредственно в ходе обработки [Ляхов и др., 2010].

Большая часть ФАВ в растительном сырье связана в водонерастворимые комплексы и лишь небольшая их часть может находиться в биологически доступной форме. Ударно-истирающее воздействие с добавками твердофазных химических реагентов (например, солей), сопровождается, наряду с разрушением клеточных стенок, изменением химического состава компонентов растительного сырья в результате разрыва ряда химических связей (даже таких прочных как  $\beta$ -гликозидных) и протекания химических реакций, вплоть до образования некоторых очень важных ФАВ именно в процессе механохимической обработки сырья. Успешная механохимическая обработка биологического сырья увеличивает как содержание, так и спектр водорастворимых компонентов в конечном продукте.

Ранее были получены предварительные данные, свидетельствующие о том, что интенсивная механоактивация растительного сырья, повышающая степень диспергирования, сопровождается увеличением выхода и разнообразия состава ФАВ [Королев и др., 2003; Иванов и др., 2006], а также их активацией [Душкин и др., 2008; Иващенко и др., 2002]. Показано существенное улучшение фармакологических характеристик малорастворимых лекарственных веществ, различных полисахаридов и  $\beta$ -циклодекстрина за счет их совместной механоактивации [Душкин и др., 2010].

Накопленные в области нутрициологии данные свидетельствуют о том, что в современных условиях жизни для поддержания экологических равновесий в организме человека и адекватного обеспечения потребности организма в необходимых пищевых и ФАВ адаптогенного, иммуномодуляторного и защитного действия, необходимы альтернативные источники, к которым можно отнести дикорастущие съедобные и лекарственные растения Якутии, отличающиеся повышенным содержанием ФАВ с широким спектром действия и полифункциональными свойствами [Егоров, 1954, 1969; Слепцова, 1971; Говоров, Торговкина, 1974; Гантимур и др., 1986; Ихсанова и др., 1986; Макаров, 1989; Кершенгольц и др., 1996, 2003; Кузьмина, 2002; Попова, 2003].

Одними из них являются лишайники [Курсанов, 1945; Моисеева, 1961; Карев и др., 1962; Рыкова, 1980; Соловьева, 2008]. Вместе с тем, во-первых, сами лишайники, обладая повышенной сорбционной активностью, могут в больших количествах сорбировать тяжелые металлы и радионуклиды при произрастании в экологически неблагоприятных условиях. Во-вторых, в слоевищах лишайников значительная часть потенциально биоактивных ФАВ содержится в иммобилизованном виде в ячейках очень прочных, негидролизующихся и очень объемных  $\beta$ -полисахаридов, неспособных ни гидролизироваться в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) организма человека, ни, тем более, всасываться и лишь небольшая их часть может находиться в биологически доступной форме. Следует отметить, что лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды по структуре весьма близки к хитозаном [Кершенгольц и др., 2012].

Разрабатываемые и используемые биотехнологии использования лишайников в целях поддержания и повышения адаптивного потенциала организма человека в условиях экологически неблагоприятной среды, должны отвечать следующим критериям:

- экологической чистоты лишайникового и другого используемого биосырья;
- экологической чистоты самих биотехнологий;
- сохранения экологических равновесий в природе после заготовки слоевищ лишайников.

Разрабатываемые комплексные биопрепараты должны обладать следующими свойствами:

- хорошо всасываться из ЖКТ во внутренние среды организма и транспортироваться через различного рода мембранные комплексы;
- «активный носитель» не должен разрушаться (гидролизироваться, окисляться) во внутренних средах организма;
- «активный наполнитель» должен обладать хорошей сорбционной активностью как по отношению к фармакону, так и к эндо- и экзотоксинам, т.е. как транспортировать

фармакон во внутренние среды организма (обеспечивая его высокую усвояемость), так и выводить экзо- и эндотоксины из организма, а также иметь структуру  $\beta$ -гликозидных фрагментов близких к соответствующим структурам гликокаликса клеточных мембран животных клеток, что позволило бы не только повысить трансмембранную активность комплекса ФАВ, но и, при необходимости, повышать активность клеточных функциональных мембранных систем, обеспечивающих трансмембранный транспорт питательных и регуляторных компонентов, продуктов обмена, рецепцию межклеточных регуляторов, межклеточную адгезию и т.д.

Назрела необходимость разработки биотехнологических основ создания биопрепаратов, обладающих универсальной детоксикационной функцией, повышенной активностью и усвояемостью действующего вещества при снижении дозы на основе механохимической активации слоевищ лишайников для повышения устойчивости организма человека к действию различных стресс-факторов среды.

## **2. О лишайниках**

Развиваясь на почве, стволах деревьев, валунах и скалах, лишайники образуют в биогеоценозах определенные растительные группировки - синузии, которые являются компонентами биогеоценозов и играют определенную роль в их жизни, динамике и круговороте веществ [Трасс, 1965; Бязров и др., 1971]. Лишайниковые синузии в силу своеобразия лишайников как организмов (медленный рост, особый тип питания и обмена веществ, своеобразие продуктов метаболизма) обладают некоторой автономностью развития и рядом специфических черт: их видовой состав беднее по сравнению с группировками цветковых растений; вегетативные процессы протекают в них намного медленнее, и т. д. Вместе с тем, несмотря на некоторую автономность развития, лишайниковые синузии находятся в определенных отношениях с другими компонентами биогеоценозов [Трасс, 1965]. Прежде всего, с ними связана большая группа животных. В основном это беспозвоночные, но есть и крупные позвоночные животные, поедающие лишайники. В «лишайниковых зарослях» обитает огромное количество клещей, ногохвосток, сеноедов, гусениц, листоедов, тараканов, пауков, клопов, цикад, жуужелиц и др. Всего было зарегистрировано около 400 видов беспозвоночных животных, жизнь которых так или иначе связана с лишайниками [Бязров, 1988]. Некоторые из них всего лишь пришельцы из других биотопов - верхних горизонтов почвы, подстилки, стволов и крон деревьев - и используют слоевища лишайников как временное убежище. Но целый ряд животных - клещи, ногохвостки, сеноеды, гусеницы бабочек и др. - связаны с лишайниками гораздо теснее. Они питаются слоевищами лишайников и продуктами их разрушения. В биогеоценозах лишайники вместе с некоторыми насекомыми и другими беспозвоночными животными, а также со своей микросредой образуют особые биогеосинузии. Занимая такие экологические ниши, как стволы деревьев, поверхность валунов и др., они усложняют структуру биогеоценозов, влияют на круговорот веществ в них, повышают эффективность использования солнечной радиации.

Используя энергию солнечных лучей, поглощая воду и минеральные соли для построения своего тела, лишайники образуют определенную фитомассу. В биогеоценозах разных типов биомасса лишайников различна. Нередко она невелика, но в некоторых биогеоце-

нозах, особенно в тундровых и лесных, лишайники дают значительную биомассу. Так, например, было подсчитано, что общая биомасса лишайников в некоторых биогеоценозах горных тундр составляет 38,65 ц/га, а в долинных тундрах - 19,08 ц/га. В лесных биогеоценозах она несколько ниже, но в лишайниковом сосняке может достигать 20 ц/га, в сосняке брусничном - 5,6 ц/га, в некоторых биогеоценозах широколиственных лесов -  $1,8 \div 6,0$  ц/га [Бязров, 1969; Ковыалева, Иванова, 2012; Самбыла, 2007, 2014; Зибзеев, 2007].

Наряду с накоплением фитомассы, в биогеоценозах идет и обратный процесс — отмирание лишайников. Вследствие старения и механического повреждения некоторые слоевища лишайников опадают на поверхность почвы. Скорость распада этих слоевищ достаточно высока, причем на первых стадиях большую роль в этом процессе играют беспозвоночные животные. В результате разложения различные вещества, заключенные в слоевищах лишайников, попадают в почву и способствуют накоплению ряда химических элементов в верхних ее слоях и образованию почвенного гумуса. Эти вещества оказывают также влияние на почвенную микрофлору и другие организмы биогеоценозов.

Одно время полагали, что специфические лишайниковые вещества нерастворимы в воде и поэтому в природных условиях их влияние на другие организмы биогеоценозов исключается. Однако исследования, проведенные в последние годы, показали, что лишайниковые кислоты все же в какой-то степени растворяются в воде. Например, растворимость усниновой кислоты составляет в среднем  $29 \pm 14$  мкМ. Было показано, что усниновая кислота может вымываться из лишайников и, попадая в почву, влиять на развитие почвенной микрофлоры. Например, в почвах под лишайниками, содержащими усниновую кислоту, аммонифицирующих бактерий было обнаружено в 100 раз меньше, чем на соседних участках. Лишайниковые кислоты оказывают также тормозящее действие на прорастание семян и развитие проростков травянистых и древесных растений. Но, с другой стороны, возможно, что лишайникам в лесных биогеоценозах принадлежит и роль «защитников» деревьев. Это предположение имеет некоторые основания. Известны факты, показывающие, что дерево, покрытое лишайниками, менее подвержено разрушительной деятельности грибов, повреждающих древесину, чем дерево без лишайников. Изучение антибиотических свойств лишайниковых веществ показало, что ряд лишайниковых кислот (физодовая, усниновая, вульпиновая и др.) действительно подавляют рост грибов - разрушителей древесины.

Лишайники принимают участие и в химическом выветривании пород. Им нередко принадлежит роль пионеров растительности при заселении свежеоблаженных субстратов (каменистых поверхностей, щебнистого грунта, песчаных почв и т. д.) в горах, Арктике, Антарктике и других районах земного шара. Обычно первыми облаженные субстраты заселяют бактерии, аэрофильные водоросли, актиномицеты и грибы, подготавливающие субстрат для расселения лишайников. Лишайники в молодых местообитаниях образуют инициальные стадии растительной жизни. Время заселения лишайниками того или иного субстрата бывает различным, оно колеблется в небольших пределах - от 5 до 20 (40) лет. Первыми поселенцами на свежеоблаженных субстратах могут быть различные формы лишайников: накипные, листоватые и кустистые. Причем зарастание субстратов происходит постепенно, в несколько сменяющих друг друга стадий. Эти смены лишайниковой растительности вызываются рядом



причин: постепенным изменением физических и химических свойств субстрата в результате воздействия на него лишайниковых гиф, взаимоотношением между собой лишайниковых слоевищ, их отмиранием, изменениями условий среды и др.

Все стадии зарастания каменных поверхностей горных пород можно проследить, например, на ледниковых моренах, постепенно обнажающихся в результате отступления ледника. На Полярном Урале первые слоевища лишайников появляются на моренах через 10 лет после отступления ледника. Среди пионеров, заселяющих обнаженные каменные поверхности, имеются как накипные лишайники (*Lecanora polytropa*, *Rhizocarpon tinei*, *R. concretum*), так и листоватые (*Umbilicaria cylindrica*, *U. proboscidea* и др.), которые образуют первые диффузные синузии. Некоторые из этих видов-пионеров (например, виды рода *Rhizocarpon*) имеют широкую экологическую амплитуду и присутствуют в лишайниковых синузиях дольше других. Но обычно на моренах, насчитывающих 50—70 лет, на каменных поверхностях доминируют уже листоватые лишайники (*Umbilicaria hyperborea*, *U. proboscidea* и др.). На древних моренах обычна синузия с участием видов пармелии (например, синузия *Parmelia centrifuga* — *Haematomma ventosum*). На переходных участках древних морен в окружающей тундре можно видеть конечную стадию сукцессии — дегенерацию лишайникового покрова и появление высших растений. Но в некоторых случаях можно встретить резкую остановку в ходе сукцессии. Например, на древних моренах, насчитывающих 8000 лет, можно наблюдать одну из синузий накипных лишайников (*Lecanora polytropa* — *Rhizocarpon concretum*).

На тех же моренах можно проследить и зарастание мелкоземисто-щебнистых субстратов, которое также происходит в результате сукцессионных смен. Например, при формировании синузии *Cetraria nivalis* — *Solorina crocea*, развивающейся на хорошо освещенных мелкоземисто-щебнистых субстратах, определены три стадии постепенного зарастания субстрата, причем уже на второй стадии были обнаружены высшие растения и мхи. Формирование другой синузии (*Stereocaulon alpinum* — *Cetraria cucullata*), развивающейся в местах, где чередуются небольшие пятна мелкозема и щебенки, проходит через четыре стадии сукцессии. И только на последней стадии появляется ряд высших растений.

На севере лишайники являются ценным кормом для животных, например исландский мох (*Cetraria islandica*), ягель (*Cladonia* sp.) и др.

Лишайники используются в пищу человеком, особенно в Китае и Японии. Предполагают, что библейская манна небесная есть не что иное, как сорванные ветром таломы накипного лишайника, растущего в горах, аспидилия съедобная (*Aspicilia esculenta*). Этот лишайник составлял значительную часть рациона племен, населявших пустыни. Есть сведения об использовании лишайников в пищу египтянами, индейцами, жителями северных стран.

Применение лишайников в лечебных целях уходит корнями в Средневековье. В народной медицине использовали и используют в настоящее время, например, лобарию (*Lobaria pulmonaria*), цетрарию исландскую (*Cetraria islandica*) для лечения легочных заболеваний. В лишайниках обнаружено много биологически активных веществ, в частности антибиотиков. Были разработаны некоторые антимикробные препараты на основе усниновой кислоты.

Из лишайников получали красители для тканей, лакмус. В парфюмерной промышленности используют лишайниковые вещества для придания стойкости духам.

По размерам слоевища лишайников, зная ежегодный прирост, можно определить возраст того субстрата, на котором они обитают (от нескольких десятилетий до нескольких тысячелетий).

Лишайники чутко реагируют на загрязнение атмосферы, особенно фтором, оксидами серы, азота, поэтому их используют в качестве индикатора состояния окружающей среды. Существует метод определения чистоты окружающей среды — лишеноиндикация [Мартин, 1982]. Выяснено, что в экологически неблагополучных районах сначала исчезают кустистые, затем некоторые листоватые и накипные лишайники.

Территория Якутии является своего рода резерватом генетического и ландшафтного разнообразия общемирового значения. В её флоре, в качестве лекарственных растений, которые разрешены для использования в научной медицине и применяются в народной медицине как источники повышенного содержания и структурного разнообразия ФАВ, известны 88 видов трав, 26 кустарников и кустарничков, 7 деревьев [Анышакова, 2013].

В настоящее время для расширения сырьевой базы лекарственного и пищевого растительного сырья используются относительно малоисследованные объекты, к которым относятся лишайники. Видовое разнообразие последних на территории Якутии насчитывает свыше пятисот видов. Среди огромного разнообразия известных видов лишайников особый интерес представляет изучение семейства Кладониевые (*Cladoniaceae*) по двум причинам:

1) Это один из наиболее сложных в химическом отношении представителей лишайников.

2) Основную биомассу ягеля (75–85%) на Северо-Востоке России образуют представители широко известного рода Кладония (*Cladonia*) - *Cladonia rangiferina*, *C. Stellaris*, *C. arbuscula*, *C. Mitis*. Лишайники рода *Cladonia* считаются индикаторами бедных сухих почв.

Будучи хорошо адаптированными, лишайники играют заметную роль во флоре северных регионов, часто лидируют и порой, при определенных условиях, даже доминируют в растительном покрове этих территорий. На рис. 3 приведена карта индекса узкоареальности лишайников территории России.

Индекс узкоареальности лишайников региона – это отношение произведения средней площади ( $S_n$ ) ареалов всех видов ( $n$ ) и суммы видов  $n$ , встречающихся в регионе ( $k$ ) к произведению средней площади ( $SN$ ) ареалов всех  $N$  видов и суммы видов  $N$ , встречающихся в Северной Евразии ( $R$ ):  $[(\sum S_n \cdot n) / k] / [(SN \cdot N) / N]$ , выраженный в %. Чем выше индекс, тем большее преобладание локально распространенных таксонов.

Так как слоевища лишайников эффективно сорбируют из окружающей среды тяжелые металлы и радионуклиды, то важным условием для их использования в качестве биосырья для биотехнологического передела является предварительная оценка их чистоты в предполагаемых местах сбора. По Якутии такая оценка была произведена (табл.1) и её результаты позволили четко определить места сбора лишайников для последующей их биотехнологической переработки – это площадки, на которых содержание Pb, As, Cd, Hg,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$  в слоеви-

щах лишайников было бы более чем в 10 раз ниже чем ПДК<sub>лиш.е.продукты</sub> [Анышакова, 2014; Анышакова, Смагулова, 2014; Смагулова, Анышакова, 2014].

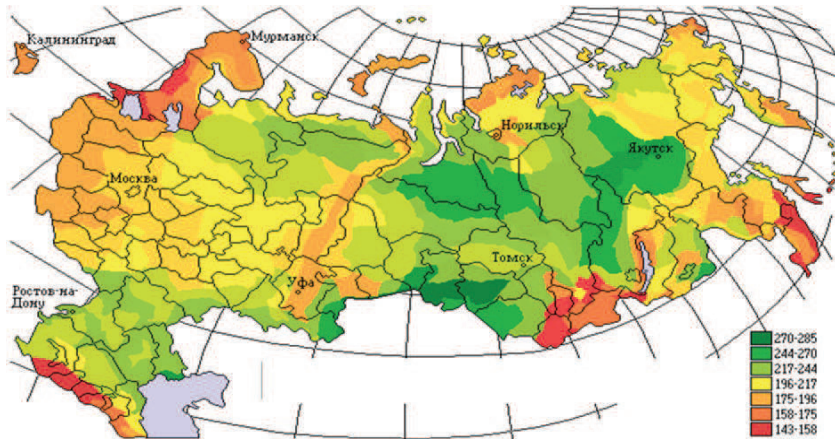


Рис. 3. Карта индекса узкоареальности лишайников территории России.

Таблица 1.

Содержание тяжелых металлов (ТМ), биогенных элементов (БЭ) в мг/кг, радионуклидов в Бк/кг в талломах лишайников из ряда районов Якутии

Содержание ТМ, БЭ (мг/кг), радионуклидов (Бк/кг) и ПДК <sub>лиш.е.продукты</sub>	Место отбора проб (район РС (Я))						
	Анабар-ский	Верхневи-люй-ский	Окрестно-сти г. Якут-ска	Мегино-Канга-лас-ский	Ал-данский	Нам-ский	Мо-мский
Pb ≤ 2,0	1,200	0,016	0,020	0,024	0,380	0,960	0,260
As ≤ 1,0	-	0,002	0,027	0,002	0,0230	0,005	0,005
Cd ≤ 2,0	0,003	0,280	<0,002	0,320	0,003	<0,002	<0,002
Hg ≤ 0,5	-	0,092	0,018	0,010	<0,004	<0,002	<0,002
I 11,0	-	0,810	0,440	1,010	0,020	-	-
Se 0,5	-	<0,020	0,040	<0,020	<0,020	-	-
Ca 1200	106,3	154	16,2	308	120	165	128
Mg 400	64,7	23	187,1	54	24	52,5	42
P 1200	6,1	68,1	33,3	0,8	0,71	68,1	11,5
Fe 15	2,1	6,8	6,7	7,1	150	6,8	6,6
K 2000	119	570	434,5	164	321,5	900	724
Na 3300	80,5	90	106,2	91	61	90	92,2
Li 50	0,006	5,2	4,1	23	1,75	-	-
<sup>137</sup> Cs 200	-	<3	3,8	<3	<3	<3	-
<sup>90</sup> Sr 100	83	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<0,5	-

3. Биотехнологии обработки лишайникового сырья.

Методы получения β-олигосахаридов из лишайниковых β-полисахаридов, являются фактически методами биотехнологического моделирования процессов, протекающих в отделах желудка (рубец и сетка) северного оленя (рис. 4), где при участии специфичных ферментов β-гликозидаз происходит расщепление очень прочных β-гликозидных связей в лишайниковых трехмерных β-полисахаридах.

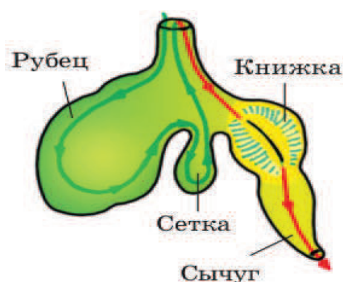


Рис. 4. Схематическое строение желудка северного оленя

В Институте биологических проблем криолитозоны СО РАН и Северо-Восточном федеральном университете им.М.К.Аммосова (г.Якутск) были апробированы две современные физико-химические биотехнологии.

1) Биотехнология, включающая стадию предэкстракционной обработки биосырья диоксидом углерода в состоянии сверхкритического флюида ( $t > 31,3^{\circ}\text{C}$ , давление  $> 73$  атмосфер; рис. 5) [Кершенгольд и др., 2005].

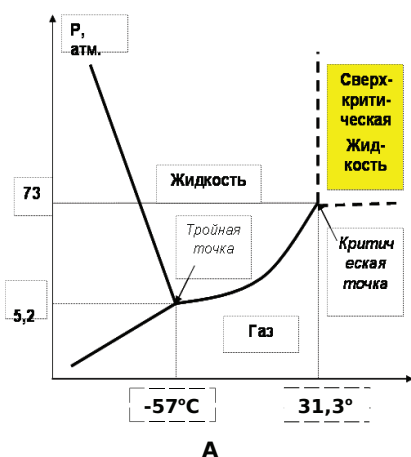


Рис. 5. Фазовая диаграмма диоксида углерода с указанием области состояния «сверхкритическая жидкость» (А), установка для обработки биосырья диоксидом углерода в состоянии сверхкритической жидкости (Б).

$\text{CO}_2$  в сверхкритическом состоянии обладает свойством сверхтекучести, проникает в самые мелкие поры слоевищ лишайников. Более того, в среде такого сверхкритического флюида разрушаются кластеры воды, она переходит в мономолекулярное состояние, резко повышается её химическая активность [Залепутин, 2006] и вода становится способной гидролизовать даже часть очень прочных  $\beta$ -гликозидных связей в лишайниковых трехмерных  $\beta$ -полисахаридах. При этом, во-первых, образуются лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды. Во-вторых, из трехмерных прочных ячеек  $\beta$ -полисахарида высвобождаются (деиммобилизуются) низкомолекулярные вторичные лишайниковые вещества: урсниевые кислоты и другие.

С помощью этой биотехнологии, из слоевищ северных лишайников был получен биопрепарат «Ягель», имеющий патенты РФ, разрешительную документацию Роспотребнадзора и стран ЕВРАЗЭС (рис. 6) [Кершенгольц и др., 2005, 2008, 2011].

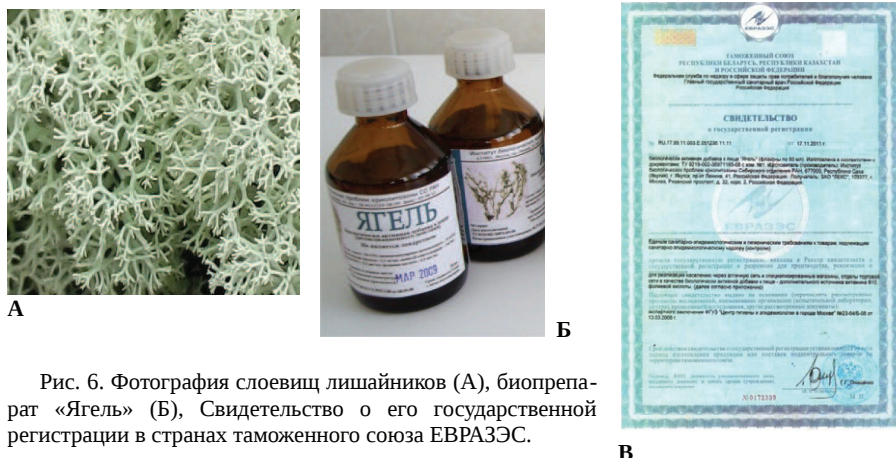


Рис. 6. Фотография слоевищ лишайников (А), биопрепарат «Ягель» (Б), Свидетельство о его государственной регистрации в странах таможенного союза ЕВРАЗЭС.

Таким образом, в БАД «Ягель» мы получаем две группы активных веществ:

1)  $\beta$ -олигосахариды, в т.ч. аминокет- $\beta$ -олигосахариды, образующиеся при гидролизе части  $\beta$ -гликозидных связей в лишайниковых  $\beta$ -полисахаридах водой, активированной в среде сверхкритического  $\text{CO}_2$  (рис. 7);

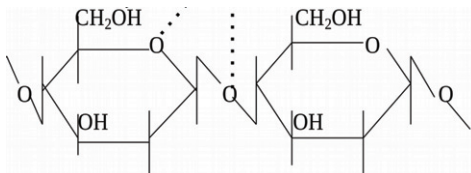


Рис. 7. Структура фрагмента  $\beta$ -олигосахарид

2) усниновые и другие лишайниковые кислоты, обладающие антибактериальным действием и высвободившиеся из прочной  $\beta$ -полисахаридной «матрицы» после её частичного гидролиза (рис. 8).

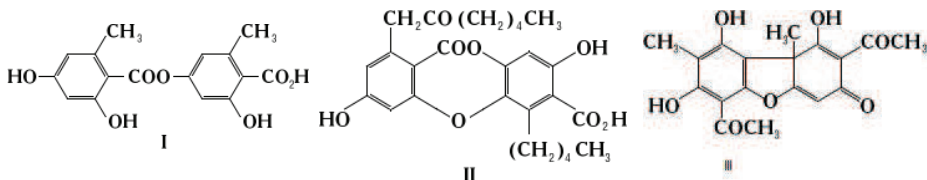


Рис. 8. Простейшие представители лишайниковых кислот: леканоровая (I), физодовая (II), усниновая (III).

**II) Биотехнология механохимической активации трехмерных лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов.** Известно, что при механическом (например, ударном) воздействии на определен-

ные элементы структуры полимеров происходит первичное поглощение механической энергии, далее её концентрация на конкретных ковалентных связях, вплоть до разрыва этих связей. Т.е. химические реакции фрагментации полимеров в твердой фазе, без использования любых растворителей [Болдырев, 1997]. На такой установке (рис. 9) в механохимической реакции получают лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды из лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов в режиме «проточного реактора».

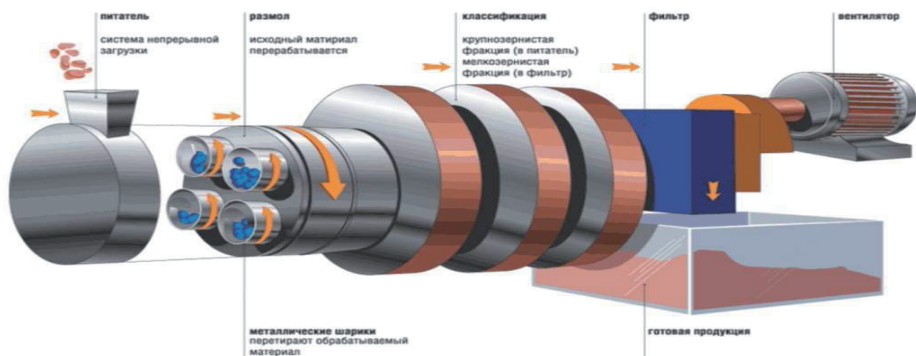


Рис. 9. Типовая конструкция реактора для механохимических превращений.

При механохимическом разрешении трехмерной матрицы лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов также происходит деиммобилизация низкомолекулярные вторичных лишайниковых веществ (НМВЛВ). Причем, в механохимической реакции, в одну стадию, могут происходить и обратные реакции – например, образования супрамолекулярных комплексов между образующимися лишайниковыми  $\beta$ -олигосахаридами и деиммобилизованными НМВЛВ или любыми другими биоактивными низкомолекулярными веществами, вводимыми в механохимический передел вместе со слоевищами лишайников: витаминами, микроэлементами, природными или синтетическими биоактивными веществами антибиотиков, цитостатиков и др. («активными веществами» - «АВ»). При этом, благодаря комплексообразованию с активным носителем («АН»; в данной биотехнологии лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды) резко увеличивается биоусвояемость «АВ» и, соответственно, биологическая активность даже при уменьшенных дозах. Что особенно важно в терапии, например, препаратами антибактериального, цитостатического, эндокринно- и нейрорегуляторного действия и др.

На рис. 10 показана типовая схема организации производства механохимического биопрепарата из лишайникового сырья «Ягель-Детокс» в СВФУ им.М.К.Аммосова.

Для оценки экологичности механохимической биотехнологии необходимо было проверить, не происходит ли взаимодействие органических веществ растений, лишайников с материалом механоактиватора, т.е. оценить степень перехода основных металлов из мелющих тел (Fe, Ni, Cr, Mn) в биосырье. Результаты, приведенные в табл.2. показывают, что при механоактивации слоевищ лишайников не происходит ухудшение экологических свойств данного вида биосырья [Смагулова, Васильев, 2012].



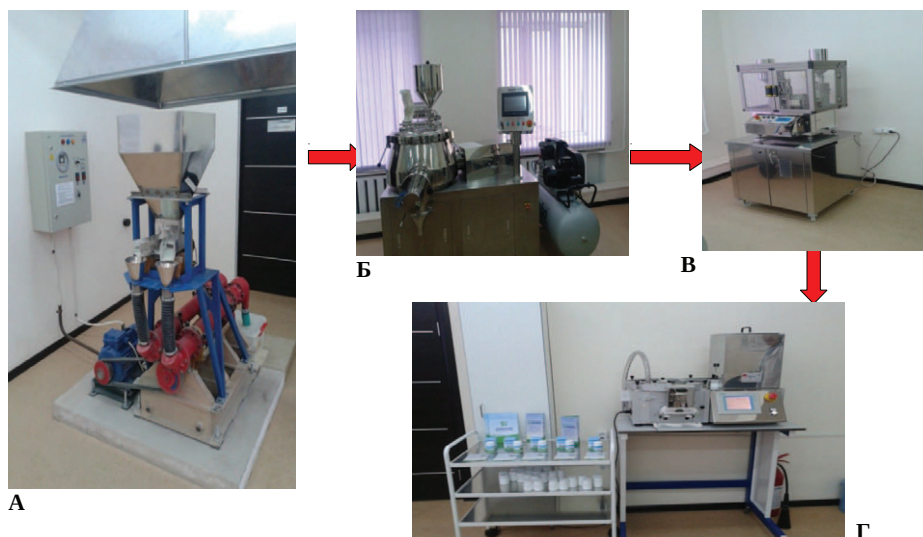


Рис. 10. Схема организации производства механохимического биопрепарата из лишайникового сырья «Ягель-Детокс» в СВФУ им.М.К.Аммосова: (А) – механохимическая мельница; (Б) – фильтрационная система; (В) – капсулирующая машина; (Г) – автомат заполнения баночек капсулами и готовая продукция.

Таблица 2.

Содержание микроэлементов, входящих в состав механоактиватора, в лишайниковом сырье после его механоактивации, по сравнению с грубым помолом

Способ активации	Содержание микроэлементов (мг/г сухой исходной массы)			
	Fe	Ni	Cr	Mn
Грубое измельчение	23,708±0,100	0,213±0,040	0,092±0,002	2,889±0,060
Механоактивация	23,711±0,100	0,212±0,040	0,092±0,002	2,892±0,060

В целом, механохимическая активация биосырья приводит к:

1. Разрыву части прочных  $\beta$ -гликозидных связей в полимерных молекулах с образованием  $\beta$ -олигогликозидных молекул, обладающих повышенной усвояемостью, а также к деиммобилизации низкомолекулярных ФАВ из ячеек матрицы  $\beta$ -полигликозидов.

2. Образованию супрамолекулярных структур (комплексов) между образующимися лишайниковыми  $\beta$ -олигосахаридами и низкомолекулярными биоактивными веществами (рис. 11), участвующими в процессе механохимической активации вместе со слоевищами лишайников, например с усниновыми или другими лишайниковыми кислотами, содержащимися в слоевищах лишайников, за счет взаимодействия полярных групп (например  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$  и др.) лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов (универсальный АН) и низкомолекулярных биоактивных веществ (АВ, «фармакон»).



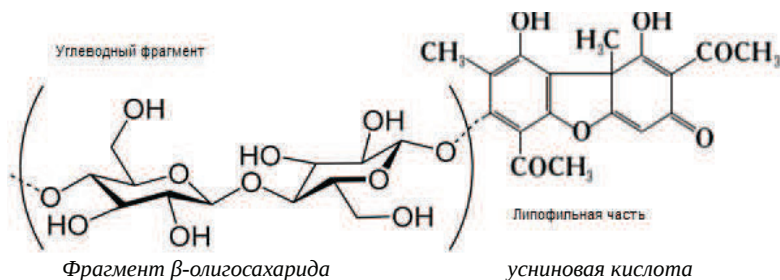
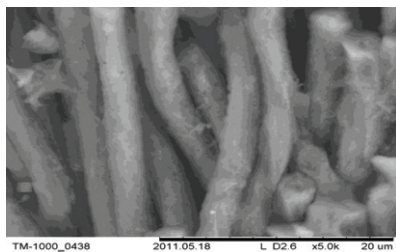


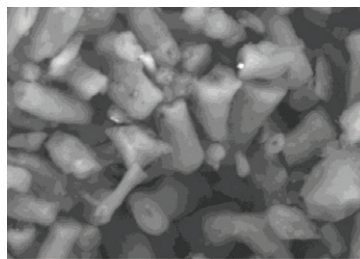
Рис. 11. Схема образования супрамолекулярного комплекса между лишайниковым  $\beta$ -олигосахаридом и лишайниковой усниновой кислотой

Образование лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов из лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов при механоактивации доказано зав. лабораторией механохимических биотехнологий СВФУ В.В.Аньшаковой с сотруд. методами: сканирующей электронной микроскопией (рис.12), атомно-силовой микроскопией (рис. 13), инфракрасной спектроскопией, ЯМР-спектроскопией (рис. 14) и др., а также методом прямого химического титрования «восстанавливающих концов» (свободных альдегидных групп гликозидов; рис. 15) [Аньшакова, 2013].

Из данных, приведенных на рис. 15 видно, что содержание водорастворимых углеводов (продуктов гидролиза части  $\beta$ -гликозидных связей в лишайниковых  $\beta$ -полисахаридах) в сухих образцах грубого помола лишайника рода *Cladonia* составило 4,61 мг/г, в сухих образцах механоактивированного сырья - 33,48 мг/г. Т.е., механоактивация слоевищ лишайников приводит к увеличению в 7,3 раза концентрации водорастворимых ( $\beta$ -олигосахаридов; рис. 15-1). Из данной диаграммы (рис. 15) также видно, что механохимическая активация способствует последующему протеканию твердофазных реакций с образованием супермолекулярного комплекса между активным наполнителем и фармаконом (лишайниковые кислоты, либо известный фармпрепарат; рис. 11).



А



Б

Рис. 12. Сканирующие электронные фотографии структуры ягеля различного измельчения: грубого помола (А), механоактивированного (Б).

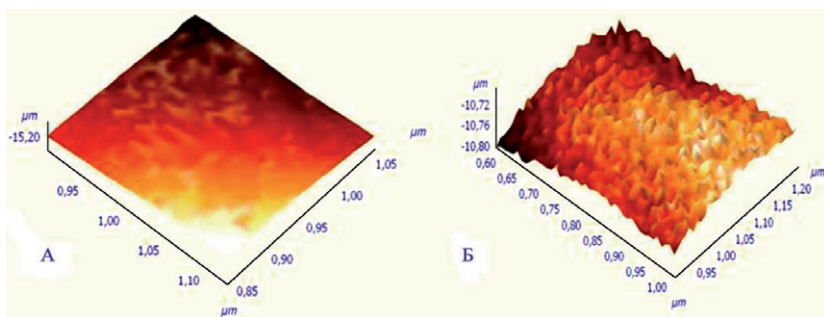


Рис. 13 . Структура поверхности порошка слоевищ лишайников:  
А – грубоизмельченных, Б – механоактивированных.

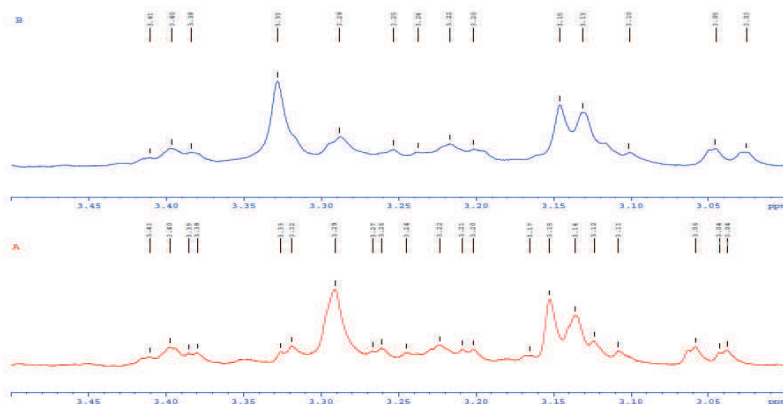


Рис. 14. Протонные спектры ягеля грубого помола (А) и ягеля после механоактивации (В) в аммонийном буфере в интервале 3-3,5 м.д., полученные на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Avance III 400 МГц (Bruker)

*Примечание: При механоактивации уменьшается интенсивности сигнала 3,29 и увеличивается - сигнала 3,33 м.д., что свидетельствует об изменении химического окружения внутри циклов полисахарида, а именно о гидролизе части  $\beta$ -гликозидных связей и образовании  $\beta$ -олигогликозидов из  $\beta$ -полигликозидов*

Дополнительное введение «активного вещества» (например, пенициллина, цефазолина - антибиотика цефалоспоринового ряда в соотношении 1% по массе, либо тканей родиолы розовой, рододендрона золотистого в соотношении 10% по массе) в процесс механохимической активации приводило к эффективному снижению содержания водорастворимых гликозидов в препарате механохимического ягеля (рис. 15-2 ÷ 15-5). Причем при уменьшении массовой доли тканей родиолы розовой или рододендрона золотистого с 10 до 1% регистрируемое содержание водорастворимых лишайниковых гликозидов вновь увеличивалось с 13,2-14,5 до 25-28 мг-эквив.глюкозы/г<sub>тканн</sub>. Это указывает на то, что, образующиеся в процессе механоактивации лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, могут образовывать комплексы с «активным веществом» в том же процессе механоактивации. При этом функциональные группы

водорастворимых  $\beta$ -олигосахаридов оказываются связанными в комплексы с «активным веществом» и не титруются по методу «восстанавливающих концов».

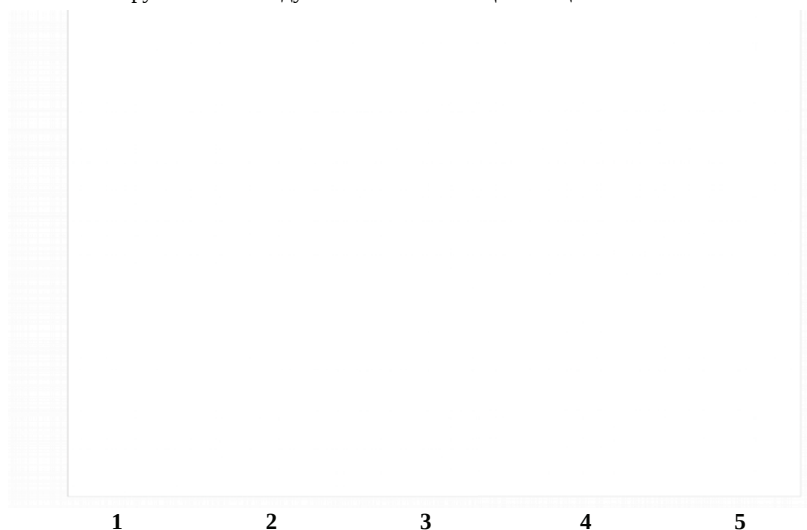


Рис. 15. Содержание водорастворимых углеводов в экстрактах: 1 - слоевищ лишайников рода *Cladonia*; комплексов 2- ягель: пенициллин (100:1); 3 -ягель:цефазолин (100:1); 4-ягель:родиола (10:1) и 5 – ягель:рододендрон (10:1), мг-эквив глюкозы/г<sub>ткани</sub>.

Причем, комплексообразование лишайниковых  $\beta$ -олиго-сахаридов с низкомолекулярными активными вещества (пенициллина, цефазолина, рододендрона золотистого, родиолы розовой) происходит при участии не только гидроксильных, но и карбонильных групп гликозидов, что и приводит к уменьшению концентрации их в свободном состоянии.

Был проведен хроматомасс-спектрометрический анализ фракции низкомолекулярных органических веществ механохимически активированных корней и корневищ *Rhodiola rosea* и смеси слоевищ лишайника рода *Cladonia* и *Rhodiola rosea*, в массовом соотношении 10:1, предварительно определенным, как оптимальное.

Анализ результатов (рис. 16 и 17) показал, что фракция низкомолекулярных органических веществ механохимически активированных корней и корневищ родиолы розовой содержит 43 фракции, в том числе: 23 органические кислоты сложного строения, включая 2 гибберилина (стимуляторы роста растений), относящиеся к карбоновым кислотам тетрациклического дитерпеноидного строения; 14 типов стероидных молекул; по 2 типа спиртовых, сложнэфирных, пептидных и азотсодержащих соединения; 6 типов кетонов и 3 типа углеводородных молекул.

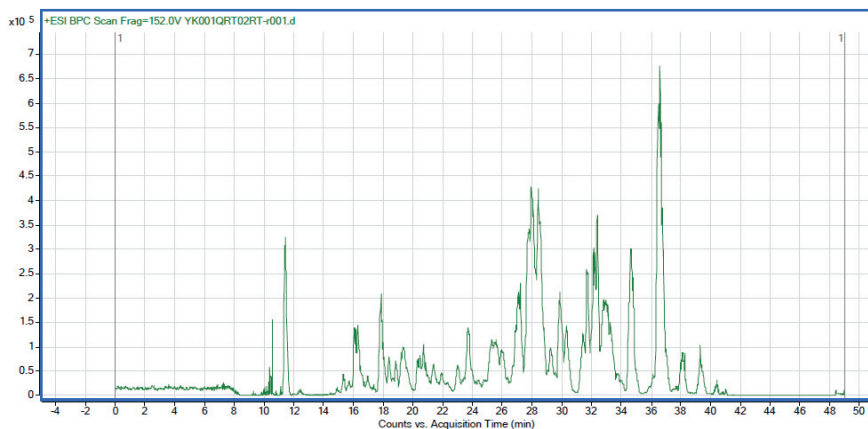


Рис. 16. Хроматограмма экстракта биоконплекса ягель:родиола механоактивированного.

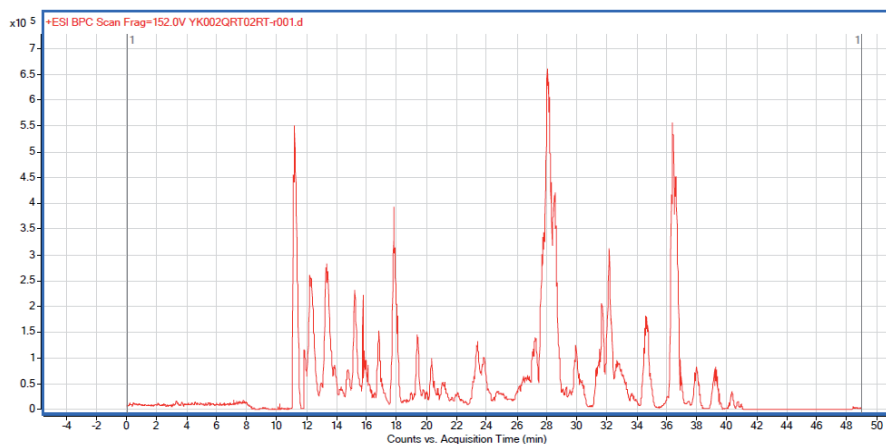


Рис. 17. Хроматограмма экстракта родиолы механоактивированной.

Фракция низкомолекулярных органических веществ механохимически активированной смеси слоевищ лишайника рода *Cladonia* (90%) и родиолы розовой (10%) естественно содержит большее количество соединений – 55, в том числе: 26 органических кислот сложного строения, 14 вещества стероидного строения; 1 тип спиртовых, 3 типа сложнэфирных, 5 – пептидных, 1 - азотсодержащих соединения, а также 4 типа кетонов и 1 тип углеводородных молекул.

Сравнение двух спектрограмм показывает, что, во-первых, фракция низкомолекулярных органических веществ механохимически активированных слоевищ лишайника рода *Cladonia* содержит 40 фракций, в том числе: 15 органических кислот сложного строения, прежде всего урсеновую кислоту, 12 типов стероидных молекул; монотерпеноидный спирт **Eu-**

**calyptol**, 3 типа сложных эфиров, 5 – типов трипептидных молекул, 3 типа кетонов, а также азотсодержащий гетероциклический гликолипид - цереброзид **Psychosine**.

*С содержанием последнего, по-видимому, связана способность препаратов лишайника модифицировать гликокаликс клеточных мембран, в том числе нейронов и клеток эндокринных органов, включая поджелудочную железу.*

Деиммобилизация низкомолекулярных лишайниковых вторичных веществ из трехмерной матрицы лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов при механоактивации была продемонстрирована на примере усниновой кислоты методом сравнения спектров комбинационного (рамановского) рассеивания (рис.18).

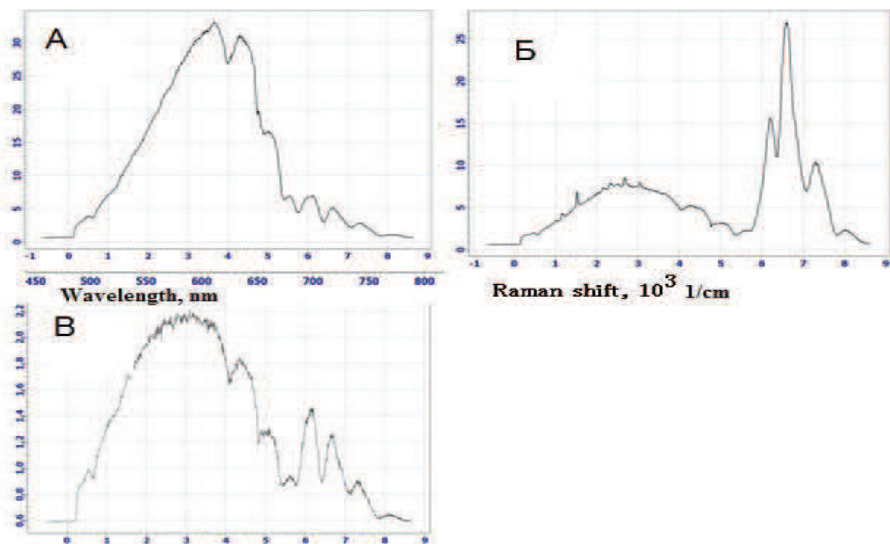


Рис. 18. Спектры комбинационного (рамановского) рассеивания: усниновой кислоты (А); слоевищ лишайников механоактивированных (Б) и грубого помола (В).

*Примечание: Близость частотных диапазонов характерных линий поглощения спектров комбинационного (рамановского) рассеивания для усниновой кислоты (А) и слоевищ лишайников после механоактивации (Б), а также преимущественная флуоресценция в области 570 нм и 720 нм в отличие от спектров слоевищ лишайников грубого помола (В), где можно заметить более низкую интенсивность излучения рамановских пиков, свидетельствует о более высоком содержании деиммобилизованной усниновой кислоты в механоактивированном образце, в отличие от слоевищ лишайников грубого помола.*

Следует подчеркнуть, что данная биотехнология отличается ресурсо- и энерго- мало-затратностью, высокой степенью экологичности и технологичности, так как твердофазные механохимические реакции образования лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов из лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов и супрамолекулярных биогенных высоко усвояемых комплексов «активного наполнителя» с «фармаконом» протекают без участия растворителей, в одну технологическую стадию, с получением порошкового продукта, который далее может быть либо капсули-

рован, либо таблетирован. Это существенно отличает технологичность предлагаемого подхода и свойства полученных биоконплексов от аналогов, полученных с использованием классических технологий.

Специфические же лекарственные свойства биоконплексов определяются свойствами «фармакона». Кроме того, получаемые биопрепараты являются достаточно стерильными, т.к. изначально содержат лишайниковые (в т.ч. усниновые) кислоты антибактериального действия.

Преимущества лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов, как «универсального активного наполнителя и «транспортного средства для «фармакона»:

- не гидролизуются в ЖКТ (содержат прочные  $\beta$ -гликозидные связи);
- наличие большого числа функциональных групп (ОН, NH<sub>2</sub>, =СО и др.), обеспечивающих образование супрамолекулярных комплексов с фармаконом;
- хорошая всасываемость всего комплекса из ЖКТ в кровь, благодаря своему бифильному строению и размерам;
- легкая транспортируемость через клеточные мембраны за счет своих размеров и строения близкого к олигогликозидными фрагментами гликокаликса клеточных мембран.

Таким образом разработана механохимическая биотехнология получения высокоактивных комплексов ФАВ, состоящих из «универсального АН» - лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов и разнообразных «фармаконов», выступающих в качестве «активного вещества лекарственных средств».

## **4. Биопрепараты из лишайникового сырья**

По биотехнологии обработки слоевищ лишайников диоксидом углерода в состоянии сверхкритической жидкости [Кершенгольц и др., 2008, 2010, 2011] и механохимической активационной биотехнологии созданы биопрепараты серии «Ягель»: «Ягель», «Ягель-М», «Ягель-Т» («Ягель-Детокс») детоксикационного по отношению к внутренним средам организма (кровь, лимфа, межклеточные жидкости), антибактериального, противодиабетического и актопротекторного действия, также имеющие патенты РФ и Свидетельства ЕВРАЗЭС [Аньшакова и др., 2012, 2012а, 2012б, 2013а], которые используются в профилактической, лечебной и спортивной медицине, а также в целях повышения биодоступности «активного вещества» в составе комплексных биопрепаратов, в качестве «активного носителя» в которых выступают лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды.

### **4.1. Способность лишайниковых $\beta$ -олигосахаридов к повышению биодоступности активного вещества в составе комплексных биопрепаратов**

Эффект повышения биодоступности «активного вещества» (фармакона; АВ) благодаря комплексообразованию с лишайниковыми  $\beta$ -олигосахаридами, как с «активным носителем» был продемонстрирован на примере микроэлементного комплекса в экспериментах по модельной гастральной (30 мМ НСl, 1 г/л, 37°C, 4 часа) и энтеральной (защелачивание NaHCO<sub>3</sub> до pH 8,0; 1 г/л, 37°C, 2 часа) экстракциях предварительно механоактивированных

комплексов слоевищ лишайников с корнями и корневищами родиолы розовой и рододендрона золотистого как источников микроэлементов [Аньшакова, Кершенгольц, 2011; Аньшакова, 2013]. Результат оценивали по данным элементного анализа. Изменения в химическом микроэлементном составе контрольных (грубое совместное измельчение слоевищ лишайников и вышеуказанных биоисточников микроэлементов) и механохимически активированных биоккомплексов ягель:родиола и ягель:рододендрон показаны на рис. 19, где приведен коэффициент экстракции микроэлементов (МЭ), представляющий отношения содержания МЭ в экстрактах механоактивированного комплекса к содержанию микроэлементов в экстрактах контрольного образца (без механохимической активации).

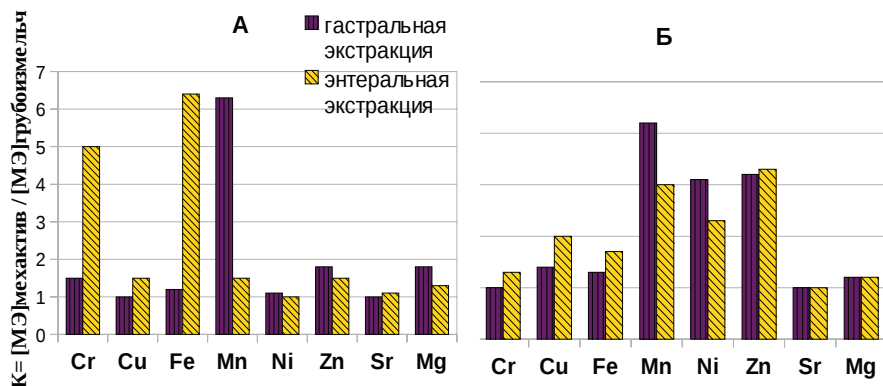


Рис. 19. Влияние механоактивации биоккомплексов на гастроэнтеральные экстракции микроэлементов. А – для комплекса ягель:родиола; Б – для комплекса ягель:рододендрон.

Эксперимент по гастроэнтеральной экстракции контрольных и механохимически активированных образцов показал следующие результаты:

- практически не извлекается небиоогенный Sr (!);
- переход биогенных микроэлементов в водорастворимую форму наблюдается по большей части у образцов, подвергшихся механохимической активации, в отличие от смесей грубого помола. Из комплекса ягеля с рододендроном активнее экстрагируются ионы Mn, Ni, Zn, Cu, из комплекса ягеля с родиолой - ионы Cr, Fe, Mn, Mg, Zn (рис. 19).

По-видимому, повышение степени экстракции микроэлементов из комплексов при их механохимической активации обусловлено тем, что при частичном гидролизе β-поли-сахаридов увеличивается число ОН-групп и фенольные группы превращаются в фенолятные, при этом проявляя себя как комплексообразователи с ионами металлов.



## 4.2. Биопрепараты детоксикационного действия

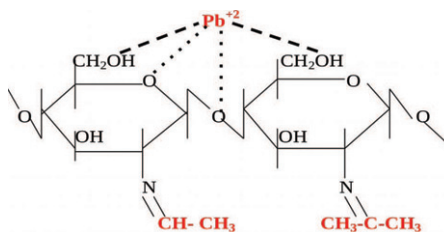
### 4.2.1. Сорбционная активность препаратов серии «Ягель»

Адсорбционная активность *in vitro* механохимически активированного порошка «Ягель-Детокс» по катионам тяжелых металлов (на примере  $\text{Co}^{2+}$ ) и по метиленовому синему (как аналогу органических эндотоксинов малой и средней молекулярной массы; рис.20.2) приведена в табл. 3 [Аньшакова и др., 2012а]. Схематически структура комплекса показана на рис. 20.1, на котором в качестве катиона тяжелого металла указан катион свинца, в качестве органического вещества связанного с фрагментом лишайникового  $\beta$ -олигосахарида в виде основания Шиффа - остаток ацетальдегида (красный шрифт).

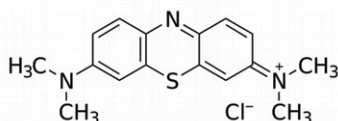
Таблица 3.

Адсорбционная активность порошка ягеля по различным маркерам, ммоль/кг

маркер - сорбтив	Сорбционный материал	Адсорбционная активность, ммоль/кг	
		20 мин	24 часа
Метиленовый синий	Порошок ягеля грубого помола	84±3	121±2
	Порошок «Ягель-Детокс»	138±4	150±3
Ион $\text{Co}^{2+}$	Порошок ягеля грубого помола	42±2	60±2
	Порошок «Ягель-Детокс»	150±4	185±4



(1)



(2)

Рис. 20. (1) Схема структуры фрагмента  $\beta$ -олигосахарида со связанным катионом свинца и карбонильными органическими соединениями – альдегидами, в виде оснований Шиффа а также (2) формула красителя метиленового синего.

Сорбционная суточная емкость у механоактивированного образца составила 48,0 мг/г или 150,0 ммоль/кг по органическому веществу (на примере метиленового синего; табл. 3). Следует отметить, что это очень высокие показатели по сравнению с известными адсорбентами, такими как полифепан и глина белая, адсорбционная емкость которых по метиленовому синему составляет 10,0 и 11,4 мг/г, соответственно. Скорость адсорбции также выше у механоактивированного препарата: в первые 20 мин адсорбция составила 92% его суточной адсорбционной емкости, в отличие от ягеля грубого помола, где за этот же промежуток времени адсорбционная емкость была в 1,6 раза ниже, чем у механоактивированного образца и составила лишь 69% суточной активности [Аньшакова и др., 2012а].

Адсорбционную емкость для солей тяжелых металлов определяли на примере ионов  $\text{Co}^{2+}$  из стандартных растворов  $\text{CoCl}_2$  в интервале концентраций 0,2-1 М. Адсорбционная ем-

кость биопрепарата «Ягель-Детокс» составила 185 ммоль/кг, что в 3,1 раза превосходит адсорбционные свойства порошка ягеля грубого помола (табл. 3).

Также были проведены исследования адсорбционных свойств механоактивированного биопрепарата «Ягель-Детокс» *in vitro* в отношении молочной кислоты (МК) - «токсина усталости», по сравнению с ягелем грубого помола (немеханоактивированным). Результаты приведенные в табл.4, показывают, что механоактивация слоевищ лишайника увеличивает сорбционную активность по молочной кислоте *in vitro* в 1,7-2,7 раза, в зависимости от концентрации молочной кислоты в исходном растворе.

Таблица 4.

Определение величины адсорбции

pH	[Молочная кислота] <sub>0</sub> , мМ (кол-во МК в 200 мл раствора, ммоль )	[Молочная кислота] в растворе через 4 часа, мМ (кол-во МК в 200 мл раствора, ммоль)	<sup>*)</sup> Кол-во адсорбированной молочной кислоты на 1 г порошка «Ягель-Детокс», ммоль/г (в % от исходного количества МК в растворе)	<sup>*)</sup> Кол-во адсорбированной молочной кислоты на 1 г порошка ягеля грубого помола, ммоль/г (в % от исходного количества МК в растворе)
1,26	34,0 (6,8)	3,0 (0,6)	6,2 (91,2)	3,6 (52,9)
0,98	56,0 (11,2)	4,0 (0,8)	10,4 (92,8)	4,8 (42,8)
0,78	125,5 (25,1)	28,5 (5,7)	19,4 (77,3)	7,5 (29,9)
0,70	248,5 (49,7)	117,3 (23,5)	26,2 (52,7)	9,8 (19,7)

<sup>\*)</sup> В 200 мл раствора молочной кислоты указанной концентрации вносили 1 г биопрепарата «Ягель-Детокс» и оставляли на 4 часа при перемешивании. Исходную и остаточную (равновесную) концентрацию молочной кислоты определяли титрованием 0,1 н раствором NaOH по фенолфталеину.

В табл. 5 приведены результаты, указывающие на то, что механоактивированные ягелевые биопрепараты хорошо сорбируют эндотоксины (на примере молочной кислоты) не только *in vitro*, но и *in vivo*.

Таблица 5.

Содержания лактата в крови животных

Вводимые биопрепараты	Лактат, ммоль/л	
	30 день	45 день
Контроль	11,2±0,4	13,9±0,7
Порошок ягеля грубого помола	10,2±0,5	12,6±0,7
Биопрепарат «Ягель-Детокс»	8,1±0,4	7,9±1,3

Снижение её концентрации в крови белых мышей после введения в корм механоактивированных ягелевых препаратов в течение 30-45 дней, на фоне интенсивной физической нагрузки достигало 28-43%, против 8,9-9,4% при употреблении ягеля грубого помола.

Как будет показано в дальнейшем, это имеет большое значение для спортивной и профилактической медицины в экстремальных условиях жизнедеятельности человека, так как снижение уровня «токсина усталости» в крови и мышцах даже при интенсивной физической нагрузке способствует повышению адаптивного потенциала, выносливости и работоспособности организма человека.

Полученные результаты, наряду со способностью  $\beta$ -олигосахаридов увеличивать число и активности бифидо- и лактобактерий, модулировать липидный метаболизм, снижать уровень холестерина, триацилглицеридов [Гольдерова и др., 2010] и предотвращать развития рака кишечника [Мельникова, 2003], позволяют предположить, что биопрепараты, содержащие в качестве активного вещества лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды (биопрепараты «ягельевой» серии) будут оптимизировать функции кишечника за счет не только связывания и выведения экзогенных и эндогенных экотоксинов, но и благодаря содействию формированию здоровой микрофлоры в ЖКТ. Мягкое бактерицидное действие лишайниковых кислот также помогает формированию здоровой микрофлоры за счет лизиса патогенных и условно патогенных бактериальных клеток и сорбции (выведения из организма) продуктов их жизнедеятельности.

Большой объем исследований, завершившийся получением патента РФ и внедрением в вино-водочную промышленность [Кершенгольц и др., 2008], был проведен в связи с детоксикационным действием жидкофазного БАД «Ягель» по отношению к алкогольным токсинам (сивушным маслам), основными из которых являются альдегиды. Результаты экспериментальных виварных исследований приведены в табл. 8-12.

Таблица 8.

Динамика выраженности эйфорического действия этанола в дозе 3 г/кг в виде 40% (об.) раствора (1-я группа) и с добавлением комплекса лишайниковых БАВ (2-я группа) у крыс

Группы (n)	Степень эйфорического состояния крыс в баллах после введения этанола через определенное время, часы							Сумма баллов
	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов	6 часов	7 часов	
1-я группа Этанол (15)	4,2 $\pm$ 0,5	4,1 $\pm$ 0,4	3,7 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	19,2 $\pm$ 2,4
2-я группа Этанол + «Ягель» (15)	4,0 $\pm$ 0,4	3,9 $\pm$ 0,3	3,5 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	18,2 $\pm$ 2,1

Группы (n)	Концентрация в крови			
	Этанола, через 3 ч, г/л	Этанола, через 5 ч, г/л	Ацетона, через 3 ч, мг/л	Ацетона, через 5 ч, мг/л
1-я группа. Этанол (15)	2,43 $\pm$ 0,35	1,52 $\pm$ 0,18	10,1 $\pm$ 2,2*	13,9 $\pm$ 2,8*
2-я группа. Этанол + лишайниковые БАВ (15)	2,11 $\pm$ 0,29	1,29 $\pm$ 0,18	5,5 $\pm$ 1,2*	5,6 $\pm$ 1,2*

\*- $p < 0,05$

Анализ результатов, приведенных в таблицах 8-12 показывает, что введение БАД «Ягель» в водно-спиртовую смесь в соотношении 1:100 в целях детоксикации и профилактики алкогольных патологий позволяет снизить в 2÷3 раза токсическое действие алкоголя при полном сохранении эйфорического эффекта; более чем в 20 раз уменьшить постинтоксикационный эффект, в 5,6 раз уменьшить скорость формирования наркоманической алкогольной зависимости.

Таблица 10. Показатели поведения крыс в тесте «Открытое поле» через 17 часов после введения этанола (40°) в дозе 6 г/кг (2-я группа), или этанола (40°) в дозе 6 г/кг с добавкой БАДа «Ягель» (3-я группа) и интактных крыс, которым вместо этанола вводили эквивалентные количества воды (1-я группа).

Группы	Горизон-таль-ная двига-тельная актив-ность	Стой-ки	Общая двигатель-ная актив-ность	Загляды-вание в «дыры»	Встряхи-вания го-ловой	Встряхи-вания передними лапами	Встряхи-вание всем те-лом	Все встря-хивания
1-я группа Контроль (Вода)	292±32	12±5	304±33	3,3±1,2	1,7±1,5	0,2±0,1	0,3±0,1	2,2±1,7
2-я группа Этанол	192±35*	18±4	210±36*	2,3±1,1	5,1±2,1*	3,3±1,2***	0,5±0,2	8,9±3,5***
3-я группа Этанол + лишайнико- вые БАВ	275±31***	11±6	286±32***	3,2±1,2	1,9±,5*	0,3±0,2***	0,3±0,1	2,5±1,8*

Продолжение таблицы 10.

Группы	Кол-во эпизодов нормаль. груминга	Кол-во эпизодов абортивн. груминга	Время груминга	Время пассив-ного поведе-ния	Реакция Штрауба (в %)	Скрежет зубами (в %)	Количест-во дефека-ций	Количест-во урина-ций (в %)
1-я группа Контроль (Вода)	7,2±1,4	1,0±0,7	25,0±20,9	12,4±14,8	0	28,6	2,6 ± 2,8	14,3
2-я группа Этанол	3,9 ± 2,8	1,7±1,1	17,9±10,1	4,9±4,2	35,5	19,6	0,9 ± 1,0*	20,5
3-я группа Этанол + лишайни- ковые БАВ	7,1 ± 1,4	1,0±0,7	26,9±15,1	8,6±14,8	2,1	26,8	2,3 ± 1,3	14,8

Примечание: <sup>1</sup> – данные представлены в виде М ± S.D.;

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  в сравнении с 1-й группой

Таблица 11. Оценка памяти в тесте «Реакция пассивного избегания» у крыс через 17 часов после введения этанола (40°) в дозе 6 г/кг (2-я группа), или этанола (40°) в дозе 6 г/кг с добавкой БАД «Ягель» (3-я группа) и интактных крыс, которым вместо этанола вводили эквивалентные количества воды (1-я группа),  $p < 0,05^*$

Группы (n)	М ± SD, мин					
	Лат. период схода на пол, исходный	Лат. период схода на пол, через 1,5 часа	Δ лат. пери-ода схода на пол	Лат. период избегания ис-ходный	Лат. период избегания через 1,5 часа	Δ лат. пери-ода избегания
1-я группа Вода (15)	5 ± 3	34 ± 21	15 ± 9	6 ± 7	29 ± 22	12 ± 8
2-я группа Этанол (15)	6 ± 4	26 ± 23	10 ± 9	5 ± 6	17 ± 15	6 ± 5
3-я группа Этанол+«Я» (15)	5 ± 3	34 ± 26	15 ± 11	5 ± 6	29 ± 24	12 ± 9

Таблица 10. Показатели поведения крыс в тесте «Открытое поле» через 17 часов после введения этанола (40°) в дозе 6 г/кг (2-я группа), или этанола (40°) в дозе 6 г/кг с добавкой БАДа «Ягель» (3-я группа) и интактных крыс, которым вместо этанола вводили эквивалентные количества воды (1-я группа).

Группы	Горизон-таль-ная двига-тельная актив-ность	Стой-ки	Общая двига-тельная актив-ность	Загляды-вание в «дыры»	Встряхи-вания го-ловой	Встряхи-вания передними лапами	Встряхи-вание всем те-лом	Все встря-хивания
1-я группа Контроль (Вода)	292±32	12±5	304±33	3,3±1,2	1,7±1,5	0,2±0,1	0,3±0,1	2,2±1,7
2-я группа Этанол	192±35*	18±4	210±36*	2,3±1,1	5,1±2,1*	3,3±1,2***	0,5±0,2	8,9±3,5***
3-я группа Этанол + лишайнико- вые БАВ	275±31***	11±6	286±32***	3,2±1,2	1,9±,5*	0,3±0,2***	0,3±0,1	2,5±1,8*

Продолжение таблицы 10.

Группы	Кол-во эпизодов нормаль. груминга	Кол-во эпизодов абортивн. груминга	Время груминга	Время пассив-ного по-веде-ния	Реакция Штрауба (в %)	Скрежет зубами (в %)	Количес-тво дефека-ций	Количес-тво урина-ций (в %)
1-я группа Контроль (Вода)	7,2±1,4	1,0±0,7	25,0±20,9	12,4±14,8	0	28,6	2,6 ± 2,8	14,3
2-я группа Этанол	3,9 ± 2,8	1,7±1,1	17,9±10,1	4,9±4,2	35,5	19,6	0,9 ± 1,0*	20,5
3-я группа Этанол + лишайни- ковые БАВ	7,1 ± 1,4	1,0±0,7	26,9±15,1	8,6±14,8	2,1	26,8	2,3 ± 1,3	14,8

Примечание: <sup>1</sup> – данные представлены в виде М ± S.D.;

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  в сравнении с 1-й группой

Таблица 11. Оценка памяти в тесте «Реакция пассивного избегания» у крыс через 17 часов после введения этанола (40°) в дозе 6 г/кг (2-я группа), или этанола (40°) в дозе 6 г/кг с добавкой БАД «Ягель» (3-я группа) и интактных крыс, которым вместо этанола вводили эквивалентные количества воды (1-я группа),  $p < 0,05$ \*

Группы (n)	М ± SD, мин					
	Лат. период схода на пол, исходный	Лат. период схода на пол, через 1,5 часа	Δ лат. пери-ода схода на пол	Лат. период избегания ис-ходный	Лат. период избегания через 1,5 часа	Δ лат. пе-риода избегания
1-я группа Вода (15)	5 ± 3	34 ± 21	15 ± 9	6 ± 7	29 ± 22	12 ± 8
2-я группа Этанол (15)	6 ± 4	26 ± 23	10 ± 9	5 ± 6	17 ± 15	6 ± 5
3-я группа Этанол+«Я» (15)	5 ± 3	34 ± 26	15 ± 11	5 ± 6	29 ± 24	12 ± 9

Анализ результатов, приведенных в табл. 8-12 показывает, что введение БАД «Ягель» в водно-спиртовую смесь в соотношении 1:100 в целях детоксикации и профилактики алкогольных патологий, позволяет снизить в 2÷3 раза токсическое действие алкоголя при полном сохранении эйфорического эффекта; более чем в 20 раз уменьшить постинтоксикационный эффект, в 5,6 раз уменьшить скорость формирования наркоманической алкогольной зависимости.

Соответствующие эффекты были подтверждены при испытаниях БАД «Ягель» на волонтерах (n=25) по стандартным методикам, на основании их письменного согласия [Огурцов, Нужный, 1999; 2001]. Волонтеры - 25 практически здоровых мужчин в возрасте от 18 до 37 лет (средний возраст 22,2 года). Тестировали состояния острой алкогольной интоксикации и постинтоксикационное, возникающие после употребления крепкого алкогольного напитка в дозе 1,5 г/кг, содержащего БАД «Ягель» (напиток №1), и аналогичного напитка без добавки (напиток №2).

При проведении аналогичных исследований на волонтерах разными исследовательскими коллективами тестирующая доза алкоголя колеблется от 1,0 до 1,64 г/кг. Использование более высоких доз рискованно и этически мало допустимо [Нужный и др., 1995]. Ни волонтеры, ни исследователи шифров напитков не знали. Для оценки эффектов напитков номер 1 и 2, кроме применения стандартных психофизиологических и клинико-физиологических методов, проводили регистрацию содержания алкоголя в выдыхаемом воздухе и температуру тела в аксиальной (подмышечной) области. Субъективная оценка тяжести индивидуальных проявлений острой алкогольной интоксикации (опьянения) и постинтоксикационного состояния проводили с помощью двойного анкетирования. Обе анкеты заполнялись испытуемыми на следующий день после каждого сеанса испытаний. В первой испытуемые отмечали те нарушения самочувствия, которые ощущались ими на высоте алкогольного опьянения. Во второй - нарушения самочувствия, которые ощущались ими наутро следующего дня после употребления напитка.

Основные обобщения результатов испытаний с участием волонтеров свелись к следующему.

1. Токсикокинетика алкоголя после употребления исследуемых напитков различается. Для напитка №2 (без добавок лишайниковых БАВ) характерна типичная динамика содержания алкоголя в выдыхаемом воздухе с концентрационным максимумом через 1 час после окончания его употребления с последующим медленным снижением концентрации этанола. После употребления напитка №1 (с добавками лишайниковых БАВ) верхняя часть концентрационной кривой существенно сглажена, а концентрационный максимум (сниженный в 2,9÷3,1 раза) возникает через 2,5 часа. Фаза элиминации алкоголя после употребления напитка №1 протекает с более высокой скоростью.

2. Острая алкогольная интоксикация, развивающаяся после употребления напитков №1 и №2, по клиническим, объективно регистрируемым и субъективно переживаемым проявлениям, обнаруживает следующие различия:

- напиток №1 создает более выраженный положительный эмоциональный фон (чаще развивается повышенное и реже – пониженное настроение) и, в отличие от напитка №2, не

вызывает развития дисфорических расстройств (раздражительность, озлобленность, агрессивность);

- алкогольный напиток №2, в отличие от напитка №1, вызывает достоверно более выраженное нарушение психофизиологического состояния; наиболее отчетливо это проявляется изменением лабильности центральной нервной системы;

- напиток №2 вызывает более выраженные нарушения способности сохранять равновесие и фиксировать положение тела в состоянии стоя.

3. Постинтоксикационное состояние, развивающееся наутро после употребления напитков №1 и №2 по клиническим, объективно регистрируемым и субъективно переживаемым проявлениям, обнаруживает следующие различия:

- в структуре проявлений состояния постинтоксикации, спровоцированной напитком №2 чаще встречаются некоторые симптомы («дрожание пальцев рук», «чрезмерная потливость», «изменение кожной чувствительности») и регистрируются симптомы, отсутствующие в структуре постинтоксикационного состояния, спровоцированного употреблением напитка №1 («бледность», «нервное напряжение», «желание принять алкоголь»);

- напиток №2, в отличие от напитка №1, вызывает нарушение способности сохранять равновесие и фиксировать положение тела в состоянии стоя;

- напиток №2 по сравнению с напитком №1 провоцирует более выраженные отклонения от контрольных величин показателей частоты сердечных сокращений и пульсового давления при выполнении испытуемыми активной ортостатической пробы.

4. С учетом особенностей биологического действия исследуемых напитков, обнаруженных в ходе исследования, алкогольный напиток №1 оказывает на организм человека существенно менее выраженное токсическое действие.

Это позволило разработать способ профилактики и купирования похмелья с помощью питьевой воды, содержащей микродобавки БАД «Ягель» [Кершенголец и др., 2016а]

Таким образом, на моделях *in vitro* и в исследованиях *in vivo* показано, что биопрепараты «ягелевой» серии (активное вещество – лишайниковые β-олигосахариды), хорошо всасываясь в кровь и другие биологические жидкости, проникая через клеточные мембраны и имея высокую удельную поверхность, обладают потенциальной способностью хорошо адсорбировать экзо- и эндотоксины различной природы, в том числе эндотоксины малой и средней молекулярной массы, образующиеся при воспалительных процессах различной этиологии, к которым, в частности, относятся токсины пептидно-белкового происхождения, а также катионы тяжелых металлов. Высокая сорбционная способность лишайниковых β-олигосахаридов связана не только с развитой поверхностью, но и с возрастанием числа функциональных групп, что и позволяет связывать и выводить экзогенные и эндогенные токсины (билирубин, алкогольные токсины, молочную кислоту, продукты тучных клеток и др.) из внутренних сред организма.

#### 4.3. Коррекция метаболических нарушений при сахарном диабете и атеросклерозе

Рост заболеваемости сахарным диабетом (СД) во всем мире носит характер неинфекционной эпидемии. Еще 25 лет назад численность больных сахарным диабетом в мире не превышала 30 млн. человек; в 2014 году их количество увеличилось до 387 млн. (в группе риска более 1 млрд. человек), а к 2035 году общая численность людей, страдающих сахарным диабетом в мире может вырасти на 55% и достигнуть 592 млн. человек [Zimmet, 2001]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), каждые семь секунд в мире умирает один человек с сахарным диабетом; ежегодно – около 4,9 млн. Каждый год в мире проводится более 1 млн. операций по ампутации нижних конечностей при сахарном диабете, более 600 тысяч больных теряют зрение, приблизительно у 500 тысяч пациентов развивается почечная недостаточность (IDF, 2015).

Согласно национальному регистру, в России зарегистрировано около 4 млн. больных СД (данные на январь 2015 г.), большинство из них (91%) – с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). При этом, по данным контрольно-эпидемиологических исследований, истинная заболеваемость СД в России в 3–4 раза превышает официальные данные.

На Северо-востоке России, в частности, в Республике Саха (Якутия), также отмечается значительный рост заболеваемости СД. По итогам 2015 года в РС (Я) на диспансерном учете состоит 21857 больных СД и в течение последних 3 лет эта цифра увеличивается в среднем приблизительно на 3000 человек ежегодно. Распространенность, выраженность и скорость прогрессирования сосудистых осложнений при СД определяются степенью компенсации гликемии. Анализ гликемического контроля при СД в РС (Я) показывает, что 54,8% не достигают целевого уровня гликированного гемоглобина (HbA1c).

Существующая система регистрации новых лекарств привела к появлению 11 классов антидиабетических препаратов, из них девять – с начала 90-х годов и пять – за последние 5 лет [Ягудина и др. 2011; Варфоломеева и др., 2013]

Убедительных доказательств снижения риска макроангиопатий так и не было получено ни для одного из сахароснижающих препаратов и ни для одной из комбинированных схем терапии. В настоящее время введены дополнительные требования к процессу регистрации препаратов, включающие в себя данные по сердечно-сосудистой безопасности [Сыдыкова, Данилова, 2014].

Наиболее распространенным типом СД (75-80% от общего числа больных) является сахарный диабет 2 типа (СД2), связанный, прежде всего, с нарушением не синтеза, а секреции инсулина  $\beta$ -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы [Демидова и др., 2000]. В число метаболических нарушений, вызывающих СД2 входит инсулинорезистентность, секреторная дисфункция  $\beta$ -клеток и гипергликемия.  $\beta$ -клетки островков поджелудочной железы не способны нивелировать повышение концентрации глюкозы в крови адекватным увеличением секреции инсулина [Muoio, Newgard, 2006]. Это объясняет развитие гипергликемии и провоцирование иных метаболических нарушений. Подавление функциональной секреторной активности  $\beta$ -клеток является одним из признаков СД2 и рассматривается как один из вероятных механизмов снижения толерантности к глюкозе с течением времени [Groop, 2000; LeRoith, 2002; DelPrato, Marchetti, 2004; Ahren, 2005]. Эту ситуацию связывают с функциональным секреторным истощением поджелудочной железы в условиях



неправильного питания, нарушениями экологии и образа жизни человека при действии многофакторных стрессов, что определяет и эколого-социально-экономическую природу данного заболевания. По определению ВОЗ сахарный диабет не присущ какому-либо определенному возрасту и региону проживания. Всё вышесказанное заставляет принимать неотложные меры для борьбы с этим заболеванием.

Традиционная сахароснижающая терапия не способна восстановить инсулиносекретирующую функцию  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и имеет целый ряд ограничений в связи с риском развития побочных эффектов терапии (прибавка массы тела, гипогликемия, сердечная недостаточность и др.). В последние годы научные исследования направлены на изучение принципиально нового механизма регуляции гомеостаза глюкозы посредством инкретинов – гормонов желудочно-кишечного тракта, вырабатываемых в ответ на прием пищи и вызывающих стимуляцию секреции инсулина. В результате исследований созданы две новые группы препаратов: ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) и аналоги глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1).

Для лечения пациентов с СД2 используется широкий спектр фармакологических препаратов с различным механизмом действия, направленными на нормализацию гомеостаза глюкозы. В течение многих лет эти препараты, мишенью воздействия которых являются  $\beta$ -клетки и периферические ткани, доминируют на фармацевтическом рынке [Спор et.al, 2005]. Между тем установлено, что, несмотря на большой ассортимент различных групп пероральных сахароснижающих препаратов, редко удается добиться и поддерживать длительное время целевые показатели гликированного гемоглобина, кроме того длительный прием *per os* сахароснижающих фармацевтических препаратов часто приводит к побочным эффектам и имеет строгие противопоказания при обострениях осложнений [Аметов, 2008].

Фитопрепаратам, обладающим способностью снижать сахар в крови и моче, эти недостатки не свойственны. Они включают различные лекарственные растения, обладающие гипогликемическим действием (антидиабетическим действием, в первую очередь за счет повышения уровня секреции инсулина из  $\beta$ -клеток поджелудочной железы) в качестве основного или дополнительного лечения. Растения, обладающие гипогликемическими свойствами, длительное время используются в народной медицине. И именно растениям обязано множество фармацевтических средств, примером тому служит козлятник лекарственный (*Galega officinalis*) из которого был получен метформин – препарат широко применяемый при СД2. Сегодня становится актуальным поиск новых, ранее неиспользовавшихся компонентов в профилактике СД2, сводящийся к созданию технологии получения биоконкомпозитов гипогликемического назначения и использующихся совместно или отдельно со стандартной сахароснижающей терапией.

Вместе с тем, как уже отмечалось, ключевым в патогенезе СД2, особенно на ранних его этапах, является не нарушение синтеза инсулина в  $\beta$ -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы, а ингибирование его секреции в результате нарушений биоэнергетических процессов в этих клетках и, по-видимому, изменений структуры и свойств клеточных мембран, приводящих к формированию ряда дефектов, связанных с «искажениями» процесса

«узнавания» глюкозы или чувствительности к глюкозе рецепторов на мембране  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, или нарушения ионных каналов (рис. 21).

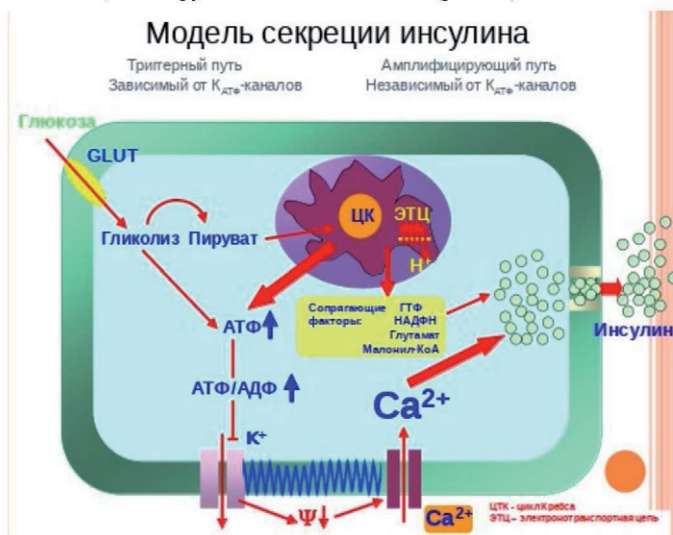


Рис. 21. Модель секреции инсулина.

В первую очередь, причиной этих мембранных дефектов могут быть нарушения структуры олигосахаридных комплексов гликокаликсового слоя клеточных мембран, приводящие к дисфункциям мембранных рецепторных и транспортных комплексов. Следует отметить, что если такие структурные модификации происходят в антигеноспецифичных мембранных комплексах  $\beta$ -клеток панкреоса, то это может привести к активации аутоиммунных процессов по отношению к таким клеткам, что и отмечается при трансформации СД2 в СД1 или в онкопатологию.

В этом отношении весьма перспективными в коррекции метаболических нарушений при лечении СД2 могут быть биопрепараты на основе лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов, близких по структуре олигосахаридам гликокаликсового слоя клеточных мембран [Кершенгольц и др., 2012; Anshakova et.al., 2014; Аньшакова и др., 2014а; Кершенгольц и др., 2014].

Использование лишайников рода *Cladonia* и *Cetraria* в противодиабетической практике подтверждает рецепт лишайникового хлеба, где не последнюю роль отводилась первичному лишайниковому метаболиту - полисахариду лишенину. Лишайниковый хлеб в свою очередь может служить заменой стандартному диабетическому хлебу, где вместо муки добавлялся измельченный порошок лишайника [Isaac Burney Yeo, 1901], употребление в китайской медицине кладонии оленьей (*Cladonia rangiferina* (L.) Nyl.) при гипертензии и супа из дерматокарпона матово-красного (*Dermatocarpon miniatum* (L.) в Китае при высоком артериальном давлении, а также как диуретического средства [Hwang et.al., 2008]. Стереокаулон голый (*Stereocaulon paschale* (L.) Hoffm.) использовался для лечения связанных с диабетом

воспалений. Показательно установленное проявление гипогликемических свойств в модельных экспериментах *in vivo* экстрактов лишайника *Cladonia humilis*, заключающееся в повышении секреции инсулина и синтеза гликогена ( $p<0,05$  и  $p<0,01$ , соответственно), в снижении показателей сахара в крови ( $p<0,05$ ) на примере мышей с аллоксан-индуцированным диабетом, а также способность этого экстракта ингибировать процесс глюконеогенеза ( $p<0,01$ ) и повышать уровень толерантности к углеводам [Yibing Zhang et al, 2012]

Шаройко В.В. в лаборатории биохимии Лундского Университета (Швеция) проведены исследования влияния БАД «Ягель» на культуре клеток инсулом [Чуркина и др., 2011]. В эксперименте  $\beta$ -клетки культивировались в стандартной среде RPMI1640 в присутствии экстракта (разведение 1:100) в течение 1-30 дней. После инкубации  $\beta$ -клеток измерялась их инсулинсекреторная активность в присутствии 2,8 мМ и 16,7 мМ глюкозы (рис. 22).

Важно отметить, что компоненты экстракта не вызывали гибели  $\beta$ -клеток (по сравнению с контролем), что было подтверждено тестом на выживаемость (рис. 23).

Было также изучено влияние БАД «Ягель» на биоэнергетические процессы в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы (рис. 24). Видно, что  $\beta$ -клетки, прединкубированные с БАД «Ягель» имеют больше АТФ. Причем при добавлении 2,4-динитрофенола (разобщитель) и олигомицина (ингибитор АТФ синтазы) уровень АТФ не отличается между контрольными клетками и клетками, прединкубированными с ягелем. Это говорит о том, что БАД «Ягель» каким-то образом влияет на работу митохондрий.

О механизме этого влияния, по-видимому, можно судить по результатам следующего эксперимента, в котором 30-дневное инкубирование  $\beta$ -клеток в присутствии БАД «Ягель» привело к повышению экспрессии одного из двух факторов (Tfam и Sp1), отвечающих за процесс транскрипции митохондрии - Tfam (рис. 25). Этот факт также косвенным образом указывает на взаимодействие лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов с олигосахаридными элементами гликокаликса как клеточных, так и митохондриальных мембран.

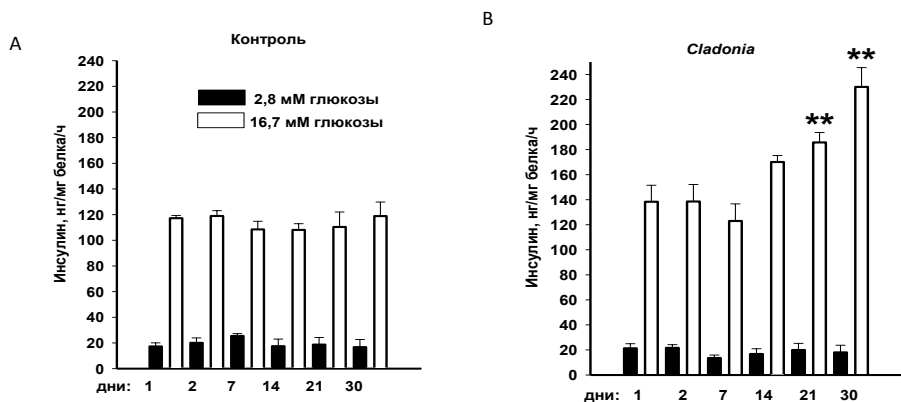


Рис. 22. Секретция инсулина  $\beta$ -клетками 832/13 по сравнению с контрольными клетками (культивация без экстракта;  $n=3$ ,  $p<0,01$ ).

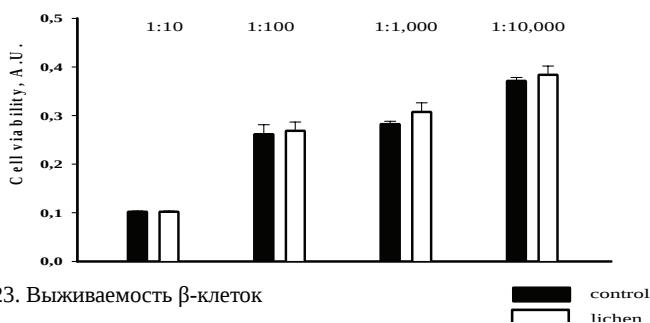


Рис. 23. Выживаемость  $\beta$ -клеток

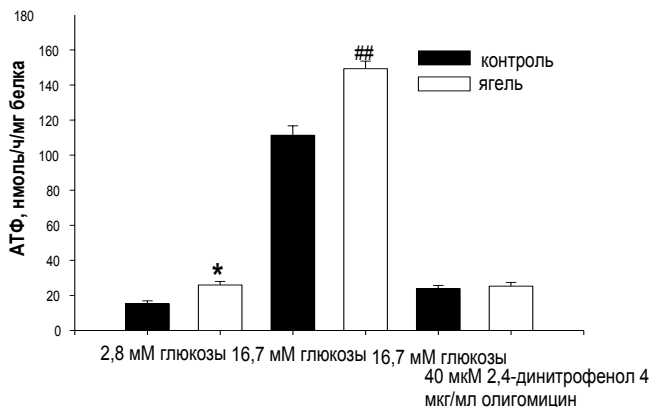


Рис. 24. Накопление АТФ измерялось в  $\beta$ -клетках, инкубированных 30 дней в присутствии экстракта ягеля (1:100). Клетки стимулировали глюкозой 2,8 и 16,7 мМ в течение 1 ч.

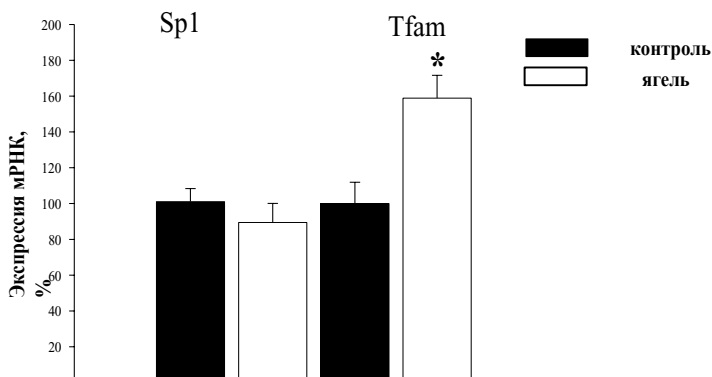


Рис. 25. После 30-дневного инкубирования  $\beta$ -клеток в присутствии ягеля повышается экспрессия фактора транскрипции митохондрии Tfam.

Таким образом, показано, что лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, по-видимому, модифицируют структуры гликокаликса клеточных и митохондриальных мембран (рис. 26), активируют системы секреции инсулина  $\beta$ -клетках поджелудочной железы в 1,4-1,6 раза при инкубации  $\beta$ -клеток

при повышенных уровнях глюкозы в течение 3-4 недель, далее трансмембранного переноса глюкозы в клетку, увеличивая при этом интенсивность клеточного дыхания и митохондриальную активность в мышечных клетках (рис. 24).

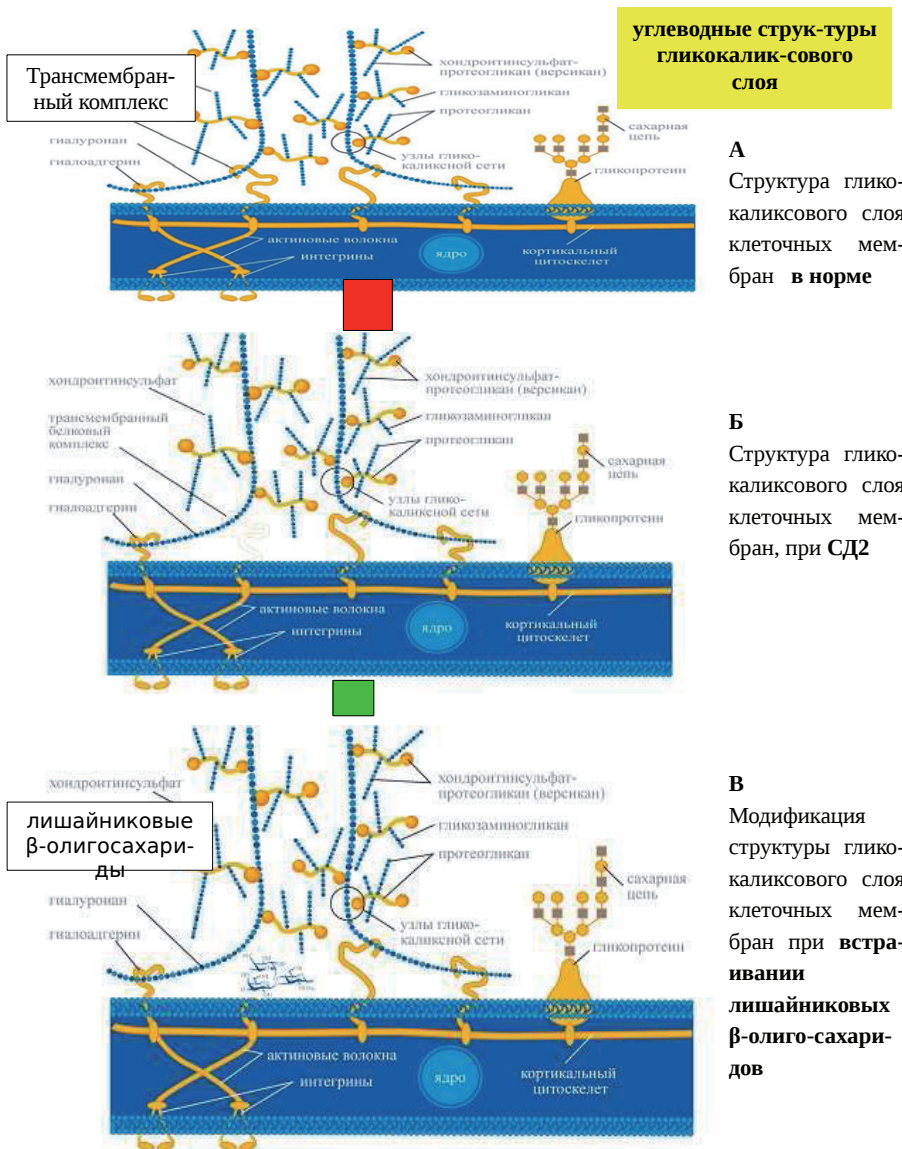


Рис. 26. Схематическое изображение трансформации гликокаликса клеточных мембран при СД2 и при модификации лишайниковыми β-олигосахаридами, приводящей к восстановлению инсулин-секреторных каналов.

Полученные результаты *in vitro* хорошо согласуются с результатами многочисленных серий клинических испытаний БАД «Ягель» и «Ягель-Детокс», независимо от лекарственной формы ягелевого препарата.

Результаты первой серии клинических испытаний БАД «Ягель» больными сахарным диабетом 2-го типа ( $n=98$ , включая пациентов гериатрического центра) показали следующее. В результате 3-4-х недельного приёма препарата «Ягель» уровень сахара крови снизился в  $1,4\div 2,3$  раза (с  $12,4\div 14,6$  до  $6,4\div 8,3$  мМ). Наиболее значимым показателем в отношении снижения уровня сосудистых осложнений сахарного диабета явилось *уменьшение на  $17,5\div 37,4\%$  содержания гликозилированного гемоглобина при одновременном снижении доли липопротеидов низкой плотности на  $18\div 37\%$* . При этом доля больных, находящихся в негативных неспецифических адаптивных реакциях (НАР - «стресс» и «переактивация») [Гаркави и др., 1998], уменьшилась с 19,5% до нуля, а находящихся в позитивных НАР («устойчивая тренировка» и «устойчивая активация») увеличилась с 47,2 до 71,7%.

В группе больных гипертонической болезнью с повышенным уровнем холестерина ( $n=115$ , включая пациентов гериатрического центра) 4-х недельный приём препарата «Ягель» привёл к снижению уровня холестерина в среднем на 10,5%, при достоверной положительной динамике у 92,5% пациентов (в контрольной группе за тот же период уровень холестерина в среднем повысился на 6,2%). Более 80% из них уже после двух первых недель приёма препарата отмечали достоверное улучшение самочувствия. Уровень глюкозы крови, обычно также повышенный у больных атеросклерозом, в экспериментальной группе снизился на 16,5%.

Вторая серия клинических испытаний препарата «Ягель» дала следующие результаты.

При приёме препарата «Ягель» больными сахарным диабетом 2-го типа ( $n=76$ ) достоверно формируется антиоксидантный эффект. Активность процессов перекисного окисления липидов, повышенная по отношению к норме в 2-3 раза, снижается в  $1,5-2,0$  раза; содержание низкомолекулярных антиоксидантов в крови, изначально сниженное в  $1,-2,0$  раза, повышается в 1,5 раза. Улучшается проницаемость клеточных мембран для глюкозы крови. Благодаря этому снижается практически до нормы (на 40-80%) уровень глюкозы в крови.

Отмечено, что у больных страдающих сахарным диабетом 2-го типа в результате 3-х недельного приёма препарата «Ягель» уровень сахара крови снизился в  $1,3\div 2,2$  раза (от  $12,4\div 14,6$  до  $6,6\div 8,5$  мМ). Наиболее значимым показателем в отношении снижения уровня сосудистых осложнений сахарного диабета (генерализованных нарушений энергетического обмена и снабжения всех структур кислородом) явилось *уменьшение на  $17,4\div 37,2\%$  уровня гликозилированного гемоглобина при одновременном снижении на  $18\div 37\%$  доли липопротеидов низкой плотности*. При этом доля больных находящихся в негативных неспецифических адаптивных реакциях уменьшилась с 19,1% до нуля, а находящихся в позитивных НАР увеличилась с 47,6 до 71,4%.

В модельных экспериментах показано, что лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды способны снимать с поверхности биосовместимых полимеров, сорбированный на них холестерин. Да-

лее этот эффект был подтверждён в экспериментах *in vitro* и *in vivo* в отношении стенок сосудов.

Происходит также снижение уровня атерогенного  $\beta$ -холестерина в крови у больных страдающим атеросклерозом. Установлено, что в группе больных гипертонической болезнью с повышенным уровнем холестерина 4-х недельный приём БАД «Ягель» привёл к снижению уровня холестерина в среднем на 9,5% на фоне достоверной положительной динамики у 90,5% пациентов. В контрольной группе за тот же период уровень холестерина в среднем повысился на 5,5%. Более 80% из них уже после двух первых недель приёма препарата отмечали достоверное улучшение самочувствия. Уровень глюкозы крови, обычно также повышенный у больных атеросклерозом, в экспериментальной группе снизился на 15,1%.

В третьей серии клинических испытаний было исследовано влияние БАД «Ягель» на биохимические показатели крови 28 добровольцев: этническая принадлежность - якуты, возраст 31 ÷ 60 лет (средний возраст  $50,2 \pm 9,6$  лет), в том числе 8 мужчин (средний возраст  $47,0 \pm 3,9$ ) и 20 женщин (средний возраст  $50,8 \pm 2,03$ ) с начальными стадиями метаболических нарушений углеводно-липидного обмена, на основании их письменного согласия [Гольдерова и др., 2010] (табл. 13, рис. 27).

Таблица 13.

Средние значения биохимических показателей в сыворотке крови коренных жителей до и после приема БАД «Ягель», ( $M \pm m$ )

Биохимический показатель	Референтные значения	До приема	После приема	$p=$
АлАТ, ед/л	до 40	$40,6 \pm 8,0$	$25,5 \pm 5,5$	$0,003^{1,2}$
АсАТ, ед/л	до 30	$34,7 \pm 6,3$	$33,6 \pm 6,1$	
Коэффициент де Ритиса	1,3 – 1,5	$0,94 \pm 0,08$	$1,42 \pm 0,42$	$0,049^{1,2}$
Гамма-ГТ, ед/л	ж. 7 - 32; м. 11-50	$74,9 \pm 34,6$	$70,0 \pm 32,2$	
Щелочная фосфатаза, ед/л	до 258	$252,2 \pm 30,6$	$238,7 \pm 29,5$	
ЛДГ, ед/л	225 – 450	$358,3 \pm 14,1$	$381,6 \pm 13,9$	
Креатинкиназа (общ.), ед/л	<190	$156,4 \pm 55,1$	$129,4 \pm 12,0$	
Глюкоза, ммоль/л	3,3 - 5,5	$5,53 \pm 0,07$	$4,72 \pm 0,10$	$0,000^{1,2}$
Общий белок, г/л	65 – 85	$78,08 \pm 0,62$	$74,69 \pm 0,85$	$0,002^{1,2}$
Альбумин, г/л	34 – 48	$46,5 \pm 0,4$	$46,4 \pm 0,76$	
Мочевина, ммоль/л	1,7 - 8,3	$4,61 \pm 0,24$	$5,53 \pm 0,35$	$0,036^{1,2}$
Мочевая кислота, мкмоль/л	ж. 155 - 357; м. 268 - 488	$239,4 \pm 18,6$	$249,4 \pm 18,4$	
Креатинин, мкмоль/л	ж. 44 - 80; м. 53 - 97	$80,9 \pm 2,62$	$80,2 \pm 2,9$	
Об. холестерин, ммоль/л	3,6 - 6,5	$6,99 \pm 0,16$	$6,09 \pm 0,19$	$0,004^{1,2}$
Триглицериды, ммоль/л	0,5 - 1,7	$1,24 \pm 0,16$	$1,25 \pm 0,12$	
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,78 - 2,2	$1,56 \pm 0,09$	$1,71 \pm 0,11$	
ХС ЛПНП, ммоль/л	1,68 - 4,53	$3,57 \pm 0,41$	$3,73 \pm 0,16$	
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,8 - 1,5	$0,56 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,06$	
<b>Коэфф. атерогенности</b>	<3	<b><math>3,48 \pm 0,25</math></b>	<b><math>2,56 \pm 0,27</math></b>	$0,005^{1,2}$



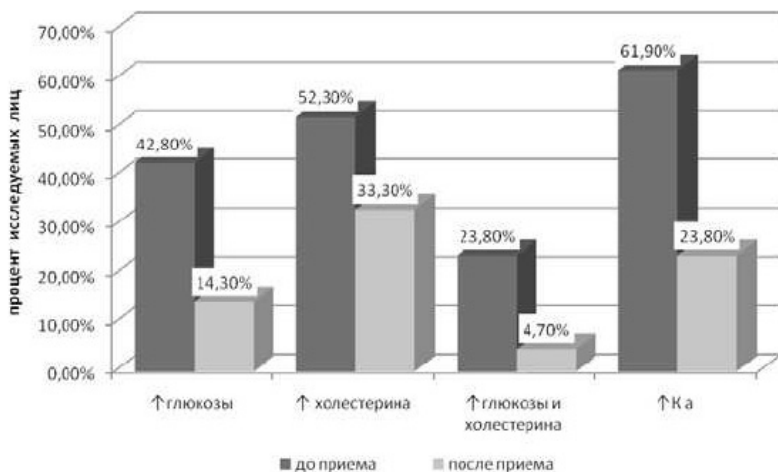


Рис. 27. Процент лиц с повышенным содержанием глюкозы, холестерина, (глюкозы и холестерина вместе), коэффициента атерогенности (Ka) до и после приема БАД «Ягель»

Основной критерий включения в обследуемую группу - повышенный уровень глюкозы ( $\geq 5,5$  ммоль/л) и/либо холестерина ( $\geq 6,5$  ммоль/л) в сыворотке крови. Из обследуемой группы исключались лица с онкологическими заболеваниями, верифицированным диагнозом – «сахарный диабет», обострениями хронических форм заболеваний. В ходе эксперимента нежелательных явлений или побочных эффектов не наблюдалось. Добровольцы в течение трех недель ежедневно принимали БАД «Ягель» за 20-30 мин. до еды (утром и днем) по 20-25 капель. Забор венозной крови из локтевой вены проводили утром натощак: до начала приема «Ягеля» и на 21-й день его приема. Из данных, приведенных на рис. 27 также видно, что после приема БАД «Ягель» доля лиц с повышенным содержанием глюкозы снизилась приблизительно в 3,0 раза (до 14,3%), холестерина – в 1,6 раза (до 33,3%), Ka – в 2,6 раза, а сочетанное повышение глюкозы и холестерина встречается более чем в 5 раз реже по сравнению с аналогичными показателями до приема.

Совокупный анализ полученных данных свидетельствует о том, что трехнедельный прием БАД «Ягель» привел к нормализации углеводно-липидного обмена в организме добровольцев, а именно статистически значимо: снизились уровень глюкозы, общего холестерина, значение коэффициентов атерогенности ( $K_a$ ), активность аланинаминотрансферазы (АлАТ); повысилось содержание ХС ЛПВП. Повышение коэффициента де Ритиса до нормы указывает на то, что БАД «Ягель» обладает адаптогенными свойствами. Следует также отметить увеличение количества корреляционных связей между определяемыми показателями (табл. 13). Например, до приема БАД «Ягель» уровень глюкозы был взаимосвязан только с ИМТ, а после приема данного биопрепарата появились прямые корреляционные связи с уровнем триацилглицеридов ( $r=0,568$ ;  $p=0,009$ ), ЛПОНП ( $r=0,520$ ;  $p=0,019$ ),  $K_a$  ( $r=0,540$ ;  $p=0,014$ ), с возрастом ( $r=0,452$ ;  $p=0,039$ ), с массой тела ( $r=0,466$ ;  $p=0,033$ ). Их анализ показывает, что снижение уровней глюкозы и холестерина, вероятно, связаны прежде всего с умень-



шением активности АлАТ (табл. 13). Можно предположить, что увеличение количества корреляционных связей связано с переходом углеводно-липидного обмена у обследованных нами лиц на качественно другой уровень со сниженными уровнями глюкозы и атерогенных фракций липидного спектра крови, чему способствует химический состав БАД - его антиоксидантное антибактериальное действие, а также способность детоксикации внутренних сред организма (крови, лимфы, межклеточных жидкостей, внутриклеточных структур). В целом, проведенные исследования позволяют сделать вывод, что этот биопрепарат можно рекомендовать для профилактики развития сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений, связанных с гипергликемией.

В следующей серии клинических экспериментов исследовано влияние на углеводно-липидный обмен у больных СД2 другой лекарственной формы ягелевого биопрепарата – «Ягель-Детокс». Лекарственная форма – капсулы пролонгированного действия. Форма приема – *per.os.* [Kershengolts et.al, 2015; Anshakova et.al., 2014; Анышакова и др., 2014а; Кершенгольц и др., 2014].

Информация о пациентах с диагнозом СД2, принявших участие в клинической апробации БАД «Ягель-Детокс» и результаты его клинических испытаний в целях коррекции метаболических нарушений при СД2 приведены в табл. 14 и 15.

Таблица 14.

Информация о пациентах СД2

Группы	Возраст, лет	Пол	Стаж диабета, лет	ИМТ (индекс массы тела), кг/м <sup>2</sup>	n	Тип терапии
Контроль (плацебо)	54±12	20 м 23 ж	28±6	28,2±6,9	43	Метформин
«Ягель-Детокс»	52±15	22 м 18 ж	24±10	27,1±8,2	40	Метформин

Таблица 15.

Результаты лабораторных исследований в начале и через 4 месяца после приема препарата

Группы	Глюкоза, мМ (норма – 3,3÷5,5, для диабетиков – 6,0÷8,5)		Hb <sub>A1c</sub> % (норма – 4,0÷5,2, для диабетиков 4,5÷6,5)		Холестерин, моль/л (норма – 3,1÷6,4, для диабетиков 4,0÷6,6)	
	до	После	до	после	До	после
Контроль (плацебо)	13,4±4,2	12,2±2,4	10,6±1,8	9,2±0,9	7,8±1,3	7,2±1,6
«Ягель-Детокс»	13,2±5,6	<b>7,9±2,1*</b>	10,8±1,1	<b>5,5±0,9*</b>	7,2±2,3	<b>5,1±1,3*</b>

\*) p<0,05

Из материалов, приведенных на рис. 28, видно, что БАД «Ягель-Детокс» в течение 4-х месячного приема достоверно и стабильно снижает уровень не только глюкозы и гликозилированного гемоглобина, но и холестерина, по сравнению с группой плацебо. Достоинством биопрепарата «Ягель-Детокс» является то, что он вызывает постепенное снижение концентрации гликозилированного гемоглобина, что является крайне важным фактором особенно

для пациентов с длительным стажем СД2. В целом, прием биопрепарата «Ягель-Детокс» также можно рассматривать как профилактическое средство (наряду со стандартной терапией) для снижения риска сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете 2-го типа.

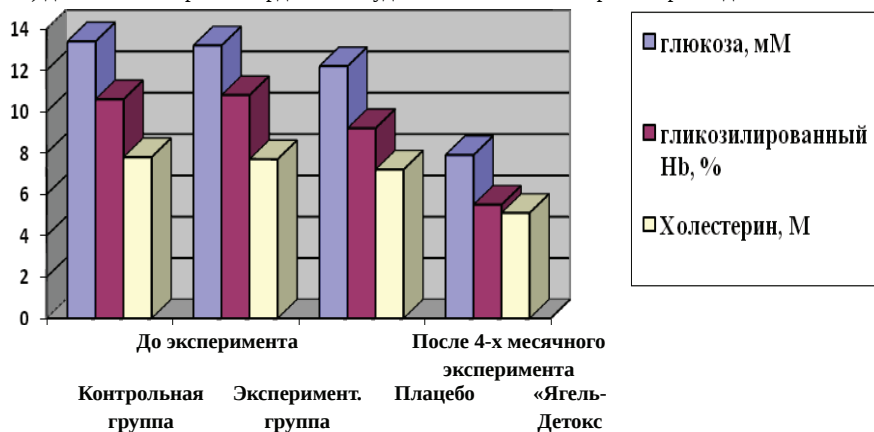


Рис. 28. Влияние 4-х месячного приема БАД «Ягель-Детокс» на содержание глюкозы, гликозилированного гемоглобина и холестерина в крови больных СД2

Патогенетический механизм действия биопрепарата «Ягель-Детокс» при СД2, по-видимому, обусловлен следующими эффектами:

1. Известно, что лимитирующая стадия патогенеза СД2 - снижение секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы связанное с нарушением мембранотранспортных каналов этих клеток для глюкозы и инсулина. Лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, по-видимому, близкие по строению к олигосахаридным компонентам гликокаликса мембран ряда соматических клеток организма человека, способны восстанавливать мембранотранспортные каналы секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы. На рис. 25 показано, что *in vitro* пролонгированное действие биопрепарата «Ягель» увеличивает уровень экспрессии ключевого транскрипционного фактора биогенеза митохондрий Tfam [Чуркина и др., 2011]. А усиление биогенеза митохондрий приводит к повышению скорости потребления глюкозы. Вероятно, данный эффект компонентов биопрепаратов «ягелевой серии» обуславливает снижение концентрации глюкозы крови за счет повышения ее потребления периферическими тканями, с одной стороны, а с другой, за счет увеличения секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы. Известно, также, что пируват (продукт обмена глюкозы), потребляемый митохондриями является ключевым источником АТФ (энергетической валюты клетки), повышение концентрации которой, в свою очередь, стимулирует выброс инсулина  $\beta$ -клетками [Шаройко и др., 2010].

2. Одна из двух таутомерных форм глюкозы (линейная) содержит альдегидную группу, которая легко образует основание Шиффа с  $\text{NH}_2$ -группами лишайниковых амино- $\beta$ -олигосахаридов. Далее, аддукт успешно выводится из организма. Таким образом происходит снижение избыточной концентрации глюкозы крови у пациентов с СД2.

3. Лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды способны также нековалентно связывать атерогенные липидов и токсичные продукты, накопление которых вызвано избыточным содержанием глюкозы и продуктов ее анаэробного превращения (лактата) в крови.

4. Результаты предварительных исследований показали, что БАД «Ягель–Детокс» повышает перистальтику тонкого кишечника, что, активирует L- и K-клетки тонкого кишечника, секретирующие гормоны инкретины – глюкагоноподобный пептид-1 (ГЛП-1) и гастроинтестинальный пептид (ГИП), которые, как известно, оказывают глюкозозависимое инсулинопотное действие на  $\beta$ -клетки островков Лангерганса.

По-видимому, этот механизм – причина достоверно регистрируемого повышения качества жизни (уровня физической и умственной работоспособности, уменьшения утомляемости и т.д.) больных сахарным диабетом после 20-30 дневного курса приёма препарата «Ягель».

Еще больший эффект достигается при апробации комплексного биопрепарата «Ягель-Детокс+листья брусники и толокнянки» (капсулированная форма для приема *per os*). Программа исследования предусматривала комплексное лечение и обследование 200 пациентов: **группа 1** – 100 пациентов, получавших препарат «**Ягель-Детокс**»; **группа 2** (сравнения) – 50 пациентов, получавших **плацебо**; **группа 3** – 50 пациентов, получавших комбинированный препарат «**Ягель-Детокс+листья брусники и толокнянки**», с диагнозом СД2 с метаболическими нарушениями, находившихся на стандартной таблетированной сахароснижающей терапии, и включала: общее клинико-инструментальное обследование, биохимический и клинический анализы крови, а также определение содержания НвА1с (гликированного гемоглобина). У всех пациентов, участвовавших в исследовании, взято информированное согласие. Коррекции предшествующей сахароснижающей терапии не проводилось, препараты назначались дополнительно. Препарат применялся по 1 капсуле 3 раза в день, курс приема составлял 3 месяца. При обследовании больных характерными инструментально-лабораторными признаками, свидетельствующими о метаболических нарушениях, были:

- Гипергликемия (глюкоза венозной плазмы натощак  $>6,1$  ммоль/л, НвА1с $>6,5\%$ ).
- Дислипидемия (ОХС $>4,5$  ммоль/л, ЛПНП $>2,6$  ммоль/л, ЛПВП $<1,0$  ммоль/л (муж) ЛПВП $<1,2$  ммоль/л (жен), ТГ  $>1,7$  ммоль/л).
- Артериальная гипертензия (АД  $>130/80$  мм.рт.ст.).
- Избыточная масса тела и ожирение (ИМТ $>25$  кг/м<sup>2</sup>).

Исходные характеристики групп исследования приведены в табл. 16.

Клинико-лабораторный контроль для оценки эффективности препарата проводили через 3 и 6 месяцев. Для комплексного биопрепарата – через 3 месяца. Для обработки результатов использовались статистические пакеты – StatSoft Statistica v.6.0, SPSS 9.0.

Динамическое наблюдение показало, что комплексный биопрепарат больные переносили хорошо, нежелательных явлений, побочных эффектов не наблюдалось.

Контроль гликированного гемоглобина показал снижение его уровня во всех группах исследования (рис. 29В). Тем не менее, статистически значимое снижение отмечено только в 1-й, а, особенно, в 3-й группе, принимавших препарат в течение 3 мес., с удержанием хорошего результата на 6 мес.(1 и 3 группы).

Таблица 16.

Исходная характеристика групп исследования

Показатели	Группа 1 (N=100)	Группа 2 (N=50) сравнения	Группа 3 (N=50)
НвА1с, %	9,8±1,6	9,2±2,1	9,9±2,1
Глюкоза, натощак, мМ	10,2±1,8	11,6±2,2	11,8±1,6
ОХС, мМ	7,2±1,2	6,8±0,8	6,8±1,8
ЛПНП, мМ	3,1±1,02	2,8±1,05	3,2±1,02
ЛПВП, мМ	0,9±0,12	0,9±0,22	0,8±0,16
ТГ, мМ	2,1±0,12	2,2±0,82	2,2±0,12
АД сист., мм.рт.ст	145±10	149±15	145±20
АД диаст., мм.рт.ст	85±8	88±12	90±12
ИМТ	32±2,8	30±1,8	33±1,6

Показатели глюкозы крови натощак также продемонстрировали значительное среднегрупповое снижение на 3 мес. исследования в 1-й, а особенно в 3-й группах (рис. 29А), причем также с удержанием хорошего результата на 6 мес. в 1-й, особенно в 3-й группах.

**А**\* $p < 0,05$ **В**\* $p < 0,05$ 

Рис. 29. Динамика среднего показателя глюкозы венозной плазмы натощак (А; мМ; норма < 6,1мМ) и среднего показателя НвА1с (В; %, норма < 6,5%) у пациентов с диагнозом СД2, на фоне стандартной таблетированной сахароснижающей терапии: группа 1 (n=100), прием БАД «Ягель-Детокс»; группа 2 (n=50), прием «плацебо»; группа 3 (n=50), прием БАД «Ягель-Детокс+листья брусники и толокнянки»

Улучшение показателей в группе сравнения, получавшей плацебо можно объяснить более частым самоконтролем пациентов, модификацией образа жизни.

Выявлено значительное улучшение показателей содержания общего холестерина крови (ОХС) в группах 1 и 3, за счет снижения уровня триацилглицеридов (ТГ) и повышения содержания липопротеидов высокой плотности (ЛПВП; рис. 30).

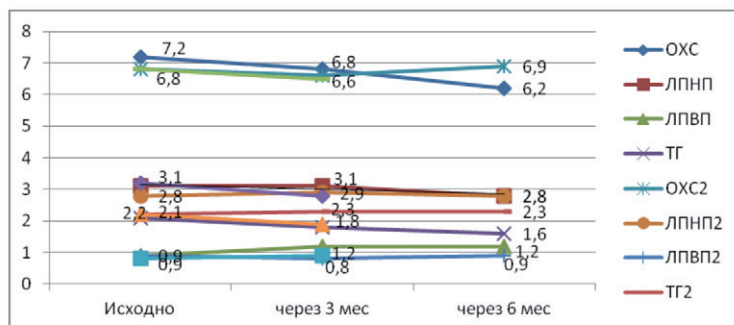


Рис. 30. Динамика показателей липидного спектра  
ОХС – общий холестерин крови; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности;  
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; ТГ – триглицериды

У пациентов второй группы (плацебо) анализ через 3 и 6 месяцев не показал значимых динамических изменений. Контроль динамики АД не выявил значимых изменений показателей в 1 и 2 группах за период исследования. Отмечается значительное среднегрупповое снижения АД в группе 3 (табл. 17).

Таблица 17.

Динамика артериального давления в группах исследования, мм. рт. ст

Группы исследования	Исходно		Через 3 мес		Через 6 мес	
	Систол.	Диастол.	Систол.	Диастол.	Систол.	Диастол.
Группа 1	145±10	85±8	140±18	85±15	142±16	78±12
Группа 2	149±15	88±12	142±12	80±8	144±22	78±18
Группа 3	145±20	90±12	128±10	80±12	130±10	75±10

Среднегрупповое значение индекса массы тела (ИМТ) через 3 месяца исследования снизилось на 1 и более показатель в условных единицах от исходного во всех группах, с удержанием результата в 1-й и, особенно, в 3-й группе и с возвращением к исходному значению во 2-й группе (рис. 31).

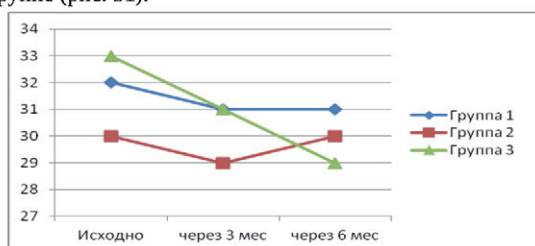


Рис. 31. Динамика индекса массы тела (ИМТ), в условных единицах

Таким образом, анализ результатов проведенного слепого плацебоконтролируемого клинического исследования показал эффективность применения механохимического монокомпонентного биофармпрепарата (из природного лишайникового сырья) в целях коррекции метаболических нарушений в комплексном лечении при СД2. Отмечается положительное влияние на углеводный и жировой обмен пациентов с сахарным диабетом 2 типа. При применении комбинированного фитопрепарата «Ягель-Детокс+листья брусники и толокнянки» отмечается дополнительный положительный эффект по показателям липидного обмена и артериального давления. Не выявлено отрицательного влияния на прибавку массы тела пациентов.

Правильное сочетание диеты, лекарственных и растительных сахароснижающих средств из местного северного природного сырья позволяет пациентам с СД2 поддерживать стойкую компенсацию углеводного обмена. Кроме этого, препарат исследования позволяет дополнительно снизить риски сердечно-сосудистых осложнений, включая ретинопатии, «диабетическую стопу» и др., у данной категории пациентов и отсрочить дальнейшую интенсификацию лечения (увеличение дозы сахароснижающего таблетированного препарата или инициация инсулинотерапии).

Препарат следует назначать по 1 капсуле 3 раза в день курсами по 3 мес. 1-2 раза в год. «Ягель Детокс + листья брусники и толокнянки» можно назначать пациентам любого возраста, независимо от степени тяжести болезни и выраженности ангионейропатий.

В виде монотерапии на фоне диеты препарат можно рекомендовать только при лёгкой форме СД2. Безусловно, речь идет не о самолечении, а о рационализации тех вариантов диетотерапии и фитолечения, которые осуществляют больные под контролем врача.

То, что БАД «Ягель» (или «Ягель-Детокс») вызывает снижение уровня  $\beta$ -холестерина крови у страдающих атеросклерозом (коэффициент атерогенности уменьшается в  $1,3 \div 1,5$  раза), наряду с показанной ранее в Гематологическом научном центре РАМН (г.Москва) антитромбиновой активностью препарата «Ягель», позволяет рекомендовать его в целях профилактики и купирования последствий тяжелейших сосудистых патологий, включая инсульты и инфаркты.

*Специалистами японской фармацевтической фирмой «Iskra Industry Co., LTD» разработана методика, проведены клинические испытания и установлено иммуномодуляторное действия препарата «Ягель» при заболеваниях с аутоиммунной компонентой в патогенезе, на примере высокоэффективного купирования приступов бронхиальной астмы, бронхитов и аллергических состояний с астматическим компонентом.*

#### **4.4. Антибактериальная активность ягелевых биопрепаратов**

Известно об использовании лишайников в качестве антибиотического средства. Так противомикробная активность в отношении стафилококков, стрептококков, кислотоустойчивых микроорганизмов, грибов, простейших и вирусов характеризуется наличием в слоевищах лишайниковых кислот [Подтероб, 2008]. Высокая антибиотическая активность обусловлена,

прежде всего, присутствием в лишайниках усниновой кислоты (рис. 8) и её производных, относящихся также к лишайниковым кислотам [Лузина, Салахутдинов, 201.].

Полученная из лишайников усниновая кислота в виде уснината натрия была предложена под названием «Бинан» для медицинского использования и применялась в качестве наружного средства для лечения ран, ожогов, трещин и в гинекологии. С появлением синтетических и полусинтетических антибиотиков препарат был снят с производства [Телятьев, 1987].

С помощью механохимической биотехнологии был создан биопрепарат «Ягель-М» содержащий комплекс природных лишайниковых кислот (в том числе усниновую), проявляющих цитостатические и антибиотические свойства, эффективный по отношению к большинству патогенных и условно-патогенных штаммов микроорганизмов, в том числе при лечении лекарственно устойчивых форм туберкулеза [Филиппова и др., 2010].

Суть разработанной биотехнологии заключалась в предэкстракционной механохимической активации сухих слоевищ лишайников с добавлением сухой щелочи. Это позволило выделять более полную группу лишайниковых кислот антибактериального действия, благодаря переходу плохо растворимых в воде и водно-спиртовых смесях ароматических фенолов (рис. 8) в хорошо растворимые в воде и водно-спиртовых смесях феноляты. Этим обеспечивается максимальное извлечение всего структурного спектра действующих веществ, каждое из которых присутствует в биосырье в малой концентрации – допороговой с точки зрения формирования лекарственной устойчивости соответствующих бактериальных штаммов. Это обстоятельство не позволяет формироваться реакции устойчивости микроорганизмов к данному антибиотическому комплексу.

(По аналогичной методике предэкстракционной активации отходов лесозаготовки и лесопереработки лиственницы (опила) в присутствии микроколичества щелочи была разработана максимально технологичная, энерго- и ресурсосберегающая биотехнология выделения дигидрокверцетина - ДКВ [Кершенгольц и др., 2010а]. Опил лиственницы подвергался механохимической активации в присутствии щелочи, при этом фентафенол ДКВ в твердофазной химической реакции переходил в форму пентофенолята. Последующая обработкой водой при комнатной температуре приводила к растворению пентофенолятной формы ДКВ. Раствор отделялся фильтрованием или препаративным центрифугированием. Последующее подкисление инициировало переход пентофенолятной формы ДКВ вновь в водонерастворимую пентофенольную. Выпавший осадок, содержащий до 75% ДКВ отделялся от раствора и высушивался).

Таким образом, биопрепарат «Ягель-М» - это 40% водно-спиртовый экстракт из слоевищ лишайников родов цетрарии (*Cetraria*) и кладонии (*Cladonia*), предварительно прошедших механохимическую обработку на экспериментальной установке АГО-2 в присутствии NaOH при 1500 об/мин., антибактериального действия в отношении условно-патогенных, патогенных микроорганизмов и микобактерий туберкулеза (МБТ).

Антибактериальное действие препарата «Ягель-М» доказано в экспериментах на культурах бактериальных штаммов и беспородных белых мышах по стандартным методикам. Исследовали влияние биопрепарата на:

- культуры бактериальных штаммов восьми условно-патогенных и патогенных микроорганизмов;

- биологические свойства МБТ *in vitro*, в том числе обладающих лекарственной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам (ПТП);

- течение экспериментального туберкулеза у беспородных белых мышей.

Контролем служил 40% водно-спиртовой экстракт из слоевищ лишайников без предварительной механохимической обработки.

Показана полная лизирующая способность препарата «Ягель-М» в отношении восьми условно-патогенных и патогенных бактериальных штаммов, включая *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, гемолитическую *E.coli* и других (табл. 18), тогда как, контрольный экстракт (КЭ) показал высокую эффективность только в отношении *Proteus vulgaris*. В остальных случаях отмечена либо едва заметная попытка к лизису, либо микроорганизмы лизировались частично.

Таблица 18. Антибактериальное действие биопрепарата «Ягель-М» и КЭ на культуры условно-патогенных и патогенных бактериальных штаммов

Название видов Бактериальных штаммов	Антибактериальное действие КЭ	Антибактериальное действие препарата «Ягель-М»
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++++
Лактозо-негативная <i>E.coli</i>	++	++++
<i>Klebsiella pneumonia</i>	+	++++
<i>Proteus vulgaris</i>	++++	++++
Гемолитическая <i>E.coli</i>	+	++++
<i>E.coli</i> M-17	++	++++
<i>Salmonella enteritidis</i>	+	++++

\* + - слабый лизис; ++ - частичное лизирование; +++ - почти полный лизис; ++++ - полный лизис.

В целях изучения антибактериального действия биопрепарата «Ягель-М» и КЭ на биологические свойства микобактерий туберкулеза (МБТ) проведено экспериментальное исследование на клинических штаммах МБТ №691, чувствительный к ПТП и №742 устойчивый к стрептомицину в концентрации 25 мкг/мл, изониазиду в концентрации 1 мкг/мл, рифампицину 80 мкг/мл (табл. 19-22) [Филиппова и др., 2008].

Определение активности антибактериального действия испытуемых экстрактов лишайника проводили методом серийных разведений на плотных питательных средах в соотношении от 1:1 до 1:512. В качестве питательной среды применяли традиционные питательные яичные среды для выращивания МБТ – Финн-2 (Ф-2). Эффективность антибактериального действия экстрактов лишайников определяли сроками появления первичного, интенсивного и массивности роста культур МБТ. При действии КЭ на клинические штаммы №691 и 742 в разведениях 1:1, 1:2 и 1:4 отмечалось отсутствие роста микобактерий на средах (бактерицидное действие). В разведении 1:8 происходит задержка начального и интенсивного роста по сравнению с контрольным посевом. Разведение 1:16 оказывает на МБТ умеренное бактериостатическое действие (табл. 19 и 20).



Таблица 19. Антибактериальное действие КЭ лишайника на клинический штамм МБТ чувствительный к ПТП

Серийные разведения КЭ лишайника	Клинический штамм M. tuberculosis №691 чувствительный к ПТП		
	Начальный рост МБТ (в днях)	Интенсивный рост МБТ (в днях)	Массивность роста МБТ (в колонеобразующих единицах)
1:1	Нет роста	—	—
1:2	Нет роста	—	—
1:4	Нет роста	—	—
1:8	10	17	Рост до 50 колоний
1:16	6	12	Рост до 100 колоний
1:32	6	12	Сплошной рост колоний по всей среде
1:64	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:128	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:256	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:512	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
Контроль	4	8	Сплошной рост колоний по всей среде

Таблица 20. Антибактериальное действие КЭ лишайника на клинический штамм МБТ с множественной лекарственной устойчивостью к ПТП

Серийные разведения КЭ лишайника	Клинический штамм МБТ №742 устойчивый к ПТП (стрептомицину в концентрации 25 мкг/мл, изониазиду в концентрации 1 мкг/мл, рифампицину 80 мкг/мл)		
	Начальный рост МБТ (в днях)	Интенсивный рост МБТ (в днях)	Массивность роста МБТ (в колонеобразующих единицах)
1:1	Нет роста	—	—
1:2	Нет роста	—	—
1:4	Нет роста	—	—
1:8	17	21	Рост до 10 колоний
1:16	12	17	Рост до 50 колоний
1:32	8	13	Рост до 100 колоний
1:64	8	13	Рост более 100 колоний
1:128	6	13	Сплошной рост колоний по всей среде
1:256	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:512	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
Контроль	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде

Препарат «Ягель-М» в разведениях 1:1, 1:2 и 1:4 также оказывает бактерицидное действие на МБТ клинического штамма №691 (табл. 21). Разведение 1:8 оказывает бактериостатическое действие. Слабое бактериостатическое действие оказывают разведения 1:16 и 1:32 с задержкой начального и интенсивного роста на 6 дней и ростом до 100 КОЕ по сравнению с контролем. Бактерицидное действие препарата «Ягель-М» на клинический штамм №742 наблюдалось в разведениях 1:1, 1:2, 1:4 и 1:8 (табл. 22). Начиная с разведения 1:16, происходит задержка начального и интенсивного роста МБТ на 7 и 6 дней соответственно, со скудным ростом до 20 КОЕ. Следовательно, препарат «Ягель-М» в разведении 1:16 оказывает выраженное бактериостатическое действие на МБТ.

Таблица 21. Антибактериальное действие препарата «Ягель-М, на клинический штамм МБТ чувствительный к ПТПП

Серийные разведения препарата «Ягель-М»	Клинический штамм M. tuberculosis №691 чувствительный к ПТПП		
	Начальный рост МБТ (в днях)	Интенсивный рост МБТ (в днях)	Массивность роста МБТ (в колонеобразующих единицах)
1:1	Нет роста	—	—
1:2	Нет роста	—	—
1:4	Нет роста	—	—
1:8	17	21	Рост до 10 колоний
1:16	10	14	Рост до 100 колоний
1:32	10	14	Рост до 100 колоний
1:64	6	12	Сплошной рост колоний по всей среде
1:128	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:256	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
1:512	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде
Контроль	4	8	Сплошной рост колоний по всей среде

Таблица 22. Антибактериальное действие препарата ЯГЕЛЬ-М, на клинический штамм МБТ с множественной лекарственной устойчивостью к ПТПП

Серийные разведения препарата «Ягель-М»	Клинический штамм МБТ №742 устойчивый к ПТПП (стрептомицину в концентрации 25 мкг/мл, изониазиду в концентрации 1 мкг/мл, рифампицину 80 мкг/мл)		
	Начальный рост МБТ (в днях)	Интенсивный рост МБТ (в днях)	Массивность роста МБТ (в колонеобразующих единицах )
1:1	Нет роста	—	—
1:2	Нет роста	—	—
1:4	Нет роста	—	—
1:8	Нет роста	—	—
1:16	13	17	Рост до 20 колоний
1:32	10	17	Рост до 100 колоний
1:64	10	14	Рост более 100 колоний
1:128	8	13	Сплошной рост колоний по всей среде
1:256	8	13	Сплошной рост колоний по всей среде
1:512	8	13	Сплошной рост колоний по всей среде
Контроль	6	10	Сплошной рост колоний по всей среде

Определение специфической активности экстрактов на течение экспериментального туберкулеза проводили на 18 беспородных белых мышах массой 13÷16г, полученных из вивария Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории. Мышей заражали введением под кожу спины взвеси (0,1мг бактериальной массы в 0,5 мл физиологического раствора) трехнедельной культуры клинического штамма МБТ №238 с множественной лекарственной устойчивостью. Изучаемые экстракты вводили мышам внутрь со дня их заражения.

Все экспериментальные животные были разделены на следующие группы по 6 особей в каждой группе: 1-ая группа – зараженные животные (контроль заражения), не получающие

лечение; 2-ая группа – зараженные животные, получающие КЭ в разведении 1:8; 3-я группа – зараженные животные, получающие препарат «Ягель-М» в разведении 1:8. Продолжительность эксперимента составляла 2,5 месяца, выживших к этому сроку животных умерщвляли. Основными показателями резистентности животного к туберкулезу являются срок выживаемости после инфицирования и общее состояние животных.

Летальность мышей 1-ой группы (контроль заражения), не получавших лечение, составила за период эксперимента 100%. Гибель мышей наблюдалась в сроки от 20 до 73 дней, при этом средняя продолжительность жизни составила 39 дней, что говорит о высокой вирулентности использованной культуры МБТ. Общая потеря массы тела в этой группе составила 32%.

У мышей 2-ой группы летальность за период эксперимента составила 50% при средней продолжительности жизни 51,5 дня. Общая потеря массы тела в этой группе составила 8%.

**У мышей 3-ей группы, получавших препарат «Ягель-М», летальность составила за период эксперимента 0%. Общая масса тела животных в этой группе возросла на 2,5 г (на 16÷19%).**

Таким образом, продемонстрирована очень высокая эффективность препарата «Ягель-М» в отношении условно-патогенных и патогенных бактериальных штаммов, включая *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, гемолитическую *E.coli*, *Salmonella enteridis* и др., причем даже их лекарственно устойчивых форм, а также в отношении штаммов микобактерий чувствительных и устойчивых к противотуберкулезным препаратам. Установлена также высокая антимикобактериальная активность препарата «Ягель-М» при использовании в лечении экспериментального туберкулеза *in vivo*, выразившаяся в резком снижении тяжести течения инфекции у мышей зараженных МБТ.

Развитие технологии механохимической активации биосырья (**безэкстрактивной**) позволило существенно усовершенствовать биотехнологию препарата антибактериального действия и в 5-10 раз повысить его активность даже при уменьшении дозы активного вещества.

Использование механохимических технологий в производстве антибиотического препарата из слоевищ лишайников позволяет проводить образование  $\beta$ -олигосахаридов («активного наполнителя», за счёт расщепления части  $\beta$ -гликозидных связей в лишайниковых  $\beta$ -полисахаридах) и одновременное образование комплекса между «активным наполнителем» и фармаконом (лишайниковыми кислотами (в т.ч. усниновой), содержащимися в слоевищах лишайников либо известным фармпрепаратом антибактериального действия) **без участия растворителей и в одну технологическую стадию из сухого сырья**, что повышает биодоступность фармакона и антибиотическую активность получаемого биопрепарата в 5-10 раз. Это выгодно отличает технологичность предлагаемого подхода и свойства полученных биок комплексов от аналогов, произведенных с использованием классических технологий.

Способ является экологическим чистым, так как в нём нет ни экстракционных, ни гидролизных стадий обработки биосырья, процесс проходит без участия растворителей в одну технологическую стадию, что обеспечивает сокращение ресурсо- и энергоёмкости техно-

логического процесса. Антибактериальное действие полученного антибактериального биопрепарата «ЯГЕЛЬ» характеризуется в 5-10 раз повышенной активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов по сравнению с антибиотическими препаратами, получаемыми стандартными способами, без механоактивации [Аньшакова, Кершенгольц, 2011а, 2012б; Аньшакова, 2013]. Минимальная ингибирующая концентрация препарата «ЯГЕЛЬ» в два раза меньше чем у 40% спиртового экстракта ягеля механоактивированного («Ягель-М»), взятого за контроль.

Образующиеся при механохимической активации лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды в комплексе с природными веществами антибактериального действия - с лишайниковыми кислотами, либо с активными веществами известных фармпрепаратов антибиотического действия - проявляют себя как синергетная компонента. Такие слабые межмолекулярные взаимодействия приводят к образованию комплекса бифильного характера, создавая тем самым оптимальные условия для диффузионного процесса, повышая в 5-10 раз биодоступность фармакона, что и способствует увеличению его биоактивности.

Сущность механохимического твердофазного процесса состоит в том, что ударно-истирающее воздействие с добавкой твердофазного реагента  $\text{NaHCO}_3$  0,5% по массе сопровождается, наряду с разрушением клеточных стенок, изменением химического состава компонентов растительного сырья и переходом их в биодоступную форму в результате разрыва ряда химических связей (даже таких прочных как  $\beta$ -гликозидных) и протеканием механохимических, твердофазных реакций перехода фенольных групп лишайниковых кислот в фенолятные, с последующим их синергетным межмолекулярным взаимодействием.

Антибактериальные свойства препарата «ЯГЕЛЬ» определяли *in vitro* на культурах десяти бактериальных штаммов условно-патогенных и патогенных микроорганизмов по стандартным и модифицированным методикам по стандартам мутности культур на 5 и 10 единиц, по сравнению с порошком слоевищ лишайников грубого помола без механохимической обработки (контроль): *Staphylococcus aureus* – 6538-р; *Enterobacter cloacae*; *Pseudomonas aeruginosa* – 33105; *Klebsiella pneumoniae*; *Salmonella enteritidis*; гемолитическая *E.coli*; *E.coli* M-17; лактозо-негативная *E.coli*; *Escherichia coli* –H-257; *Proteus vulgaris*;

Использовались стандартные питательные среды: среда Эндо, молочно-желточно солевой агар, среда Плоскирева, мясо-пептонный агар (МПА), которые были приготовлены по стандартной прописи [МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили в соответствии с методическими указаниями, утвержденными главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004 [Методические рекомендации, 2004], с добавлением в питательную среду контрольного и исследуемого образца количеством 5,0 мг/мл. Газонным методом был произведен посев культур микроорганизмов и после культивации в термостате при 37,0°C оценивалась интенсивность их роста. Результаты оценки приведены в табл. 23.

Анализ результатов, приведенных в табл.23, показывает, что механоактивация слоевищ лишайников приводит к повышению антибактериальной активности препарата «Ягель» в 5-10 раз, по сравнению с грубоизмельченными слоевищами, в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. По-видимому, это связано с тем, что при механохими-

ческой активации происходит частичное разрушение трехмерной матрицы лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов, приводящее как к образованию лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов, так и к высвобождению ранее иммобилизованных в ней лишайниковых кислот. Затем происходит образование супрамолекулярного комплекса между «активным носителем (лишайниковыми  $\beta$ -олигосахаридами) и «фармаконом» (лишайниковыми кислотами антибактериального действия), что в 5-10 раз увеличивает их усвояемость и, соответственно, биологическую активность.

Таблица 23. Антибактериальное действие препарата ЯГЕЛЬ и контроля на культуры условно-патогенных и патогенных бактериальных штаммов

Название видов бактериальных штаммов	Контроль	Антибактериальное действие препарата ЯГЕЛЬ
<i>Staphylococcus aureus</i> – 6538-p	+) )	++++
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – 33105	+	++++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	++++
<i>Salmonella enteritidis</i>	+	++++
Гемолитическая <i>E.coli</i>	+	++++
<i>E.coli</i> M-17	++	++++
Лактозо-негативная <i>E.coli</i>	++	++++
<i>Escherichia coli</i> –H-257	+	+++
<i>Proteus vulgaris</i>	++++	++++

Примечания: \*) +слабый лизис; ++частичное лизирование; +++почти полный лизис; ++++ полный лизис.

Сделанное выше предположение о влиянии образования супрамолекулярных комплексов лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов с «фармаконом» на биоактивность последнего было проверено в эксперименте с введением в механохимическую активацию, наряду с слоевищами лишайников известного антибактериального фармпрепарата - цефазолина в массовом соотношении лишайник:фармакон 100:1 [Аньшакова, 2012]. В качестве контроля исследовали антибактериальную активность смеси слоевищ лишайника с цефазолином в таких же массовых отношениях 100:1, но без механохимической активации, полученного грубым помолотом на бытовой мельнице. Определение активности антибактериального действия испытуемого комплексного препарата и грубоизмельченной смеси (контроль) проводили методом серийных разведений на плотных питательных средах. В качестве питательной среды применяли

традиционные питательные агаровые среды для выращивания *E.colli*. Эффективность антибактериального действия препаратов определяли сроками появления лизиса клеток бактериальной культуры. Сравнения исследуемых образцов проводили из расчета на концентрацию цефазолина.

При действии комплексного препарата на штамм *E.colli* M17 отмечалось умеренное бактериостатическое действие в области концентраций цефазолина 0,25; 0,5 и 1,0 мкг/мл и бактерицидное действие с концентрацией цефазолина свыше 2,0 мкг/мл (табл. 24).

Таблица. 24. Антибактериальное действие механоактивированного комплексного препарата «ЯГЕЛЬ» с цефазолином на штамм *E.colli* M17

№	Концентрация цефазолина мкг/мл	Антибактериальное действие		*
		Комплексный препарат	Контроль	
1	0,25	++ *)	-	
2	0,5	++	-	
3	1,0	++	+	
4	2,0	+++	+	
5	4,0	++++	++	
6	контроль	-	-	

+ - слабый лизис; ++ - частичное лизирование; +++ - почти полный лизис;  
++++ - полный лизис; - полное отсутствие лизиса

Цефазолин в составе контрольного препарата не проявлял бактерицидного и бактериостатического действия в области указанных концентраций. Цефазолин же в концентрации свыше 2,0 мкг/мл, прошедший совместную механоактивацию с ягелем, оказывает выраженное бактериостатическое действие на штамм *E.colli*, в отличие от цефазолина, входящего в состав композита ягеля грубоизмельченного без механоактивации.

Таким образом, созданные механохимические биоконплексы сохраняют свою специфическую биоактивность при существенно меньшей дозе активно действующей субстанции. Следовательно, они менее токсичны, что позволяет при снижении дозы антибиотика почти в 10 раз увеличить антибактериальный эффект, снизив тем самым вероятность и скорость формирования устойчивости патогенных (условно-патогенных бактериальных штаммов к соответствующим антибактериальным препаратам).

В следующем эксперименте была изучена сравнительная антибактериальная активность твердофазного препарата «ЯГЕЛЬ» и 40% водно-спиртового экстракта «ЯГЕЛЬ-М» *in vitro*, в отношении штамма *Staphylococcus aureus* – 6538-р посредством определения их минимальной ингибирующей концентрации (МИК; табл. 25).

Таблица 25. Зависимость интенсивности роста культуры *St. aureus* от концентрации препаратов

№ п/п	Концентрация препарата (мг/мл)	Интенсивности роста культуры	
		ЯГЕЛЬ-М	Ягель антибактериальный
1	15,00	—	—
2	12,50	—	—

3	10,00	—	—
4	7,50	—	—
5	5,00	—	—
6	2,50	+	—
7	1,25	+++	+
8	0,63	++++	++
9	0,32	++++	++++
10	Контроль 1 (МЖСА + 1 мл – 96% этанола)	++++	++++
11	Контроль 2 (МЖСА без добавок)	++++	++++

Примечание. (–) – отсутствие колоний культуры *St. Aureus*, (+)...(+++++) – наличие колоний культуры *St. Aureus* в количестве от 25 до 100 и более колоний на чашку.

Для определения МИК использовались стандартные методики [МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания] определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, а именно, метод приготовления серийных разведений антибактериального препарата в агаре. Твердофазный препарат ЯГЕЛЬ при внесении его в питательную среду использовали в виде взвеси в 96% спирте для равномерного распределения. Результаты учитывали визуально, путем подсчета выросших колоний на чашке. Полученные данные интерпретировали следующим образом: отсутствие роста микроба (–) указывает на его чувствительность к препарату. При росте тест-культуры в количестве от 0 до 25 колоний результат оценивали как 1+, от 25 до 50 колоний – как 2+, от 50 до 100 – как 3+. В случае образования на чашке 100 и более колоний микроорганизм считали резистентным (4+).

Затем через 2 суток культивации в термостате при 37,0°C оценивалась интенсивность роста в зависимости от содержания препарата. Результаты оценки приведены в табл. 15. Результаты учитывали визуально, путем подсчета выросших колоний на чашке. Полученные данные интерпретировали следующим образом: отсутствие роста микроба (–) указывает на его чувствительность к препарату. При росте тест-культуры в количестве от 0 до 25 колоний результат оценивали как 1+, от 25 до 50 колоний - как 2+, от 50 до 100 – как 3+. В случае образования на чашке 100 и более колоний микроорганизм считали резистентным (4+). Данные приведенные в табл. 25 достоверно свидетельствуют о том, что минимальная ингибирующая концентрация препарата «ЯГЕЛЬ» в отношении чистой культуры штамма *St. aureus* составила 2,5 mg/ml, а экстракта «ЯГЕЛЬ-М» - 5,0 мг/мл. Отсутствие достоверных различий между образцами обозначенными как «Контроль 1» и «Контроль 2» свидетельствует о неспособности полученных концентраций этилового спирта повлиять на интенсивность роста вышеуказанного штамма микроорганизмов на питательной среде «МЖСА» при стандартных условиях культивирования.

Таким образом, применение механохимической технологии при обработке лишайникового сырья позволяет получить нанодисперсный порошок ягеля, обладающий уникальным синергетным сочетанием свойств его составляющих. Лишайники после механохимической активации отличаются, во-первых, большим содержанием слизиобразующих веществ и β-олигосахаридов, обладающих способностью к детоксикации внутренних сред организма и высокими адсорбционными свойствами в качестве матрицы-носителя. Во-вторых, являются источником, деиммобилизованных при частичном разрушении трехмерной матрицы лишай-

никовых  $\beta$ -полисахаридов, ФАВ (комплекс лишайниковых кислот), обладающих уникальными антибактериальными свойствами. В-третьих, образование наноразмерных супрамолекулярных комплексов  $\beta$ -олигосахаридов с лишайниковыми кислотами (фармаконом) резко повышает их биодоступность и биоактивность. Созданные таким путем механохимические биоконплексы сохраняют свою специфическую биоактивность при существенно меньшей дозе активно действующей субстанции. Следовательно, они менее токсичны, что позволяет при снижении дозы антибактериального фармакона почти в 10 раз увеличить антибактериальный эффект. Причем, поскольку этот препарат включает много фракций веществ антибактериального действия, каждая из которых содержится в малой концентрации («допороговой», выше которой формируется «реакция привыкания микроорганизмов» к данной структуре антибиотика), то на такой **комплексный** антибактериальный биопрепарат реакция «реакция привыкания микроорганизмов» **не развивается!**

#### **4.5. Адаптогенная и актопротекторная активность ягелевых биопрепаратов, в том числе в спортивной медицине**

По утверждению специалистов в области валеологии, адаптологии, санологии [Агаджанян и др., 2006; Телль, 2001; Баевский, 2008; Брехман, 1990; Казначеев и др., 1999; Казначеев 2011; Петрова и др., 1996, 1999, 2000, 2003 и многие другие], большинство людей планеты в настоящее время находятся в «третьем состоянии», известном еще со времен Галена: состояние на рубеже нормы и патологии, когда объективных проявлений нездоровья (болезни) нет, но любая форма деятельности, в том числе обычная, повседневная, протекает на фоне напряжения адаптационных механизмов. На Севере это называется «синдром полярного напряжения» [Казначеев, 2011]. В профилактической медицине и геронтологии – «синдром хронической усталости» [Мороз, Подколзин 1999]. При этом на выполнение работы человек затрачивает неизмеримо больше сил и энергии, а работает далеко не с полной отдачей, ощущая себя не вполне здоровым, «не в форме». Из-за многочисленности людей, находящихся в таком состоянии, а также из-за того, что само по себе неприятное, неопределенное самочувствие, как правило, длится годами, иногда – даже десятилетиями, поиски средств и способов повышения функциональных резервов организма лежат в русле приоритетных задач современных медико-биологических наук.

Несмотря на значительные достижения в области создания синтетических лекарственных препаратов нового поколения в последнее десятилетие отмечается все более возрастающий интерес к средствам растительного происхождения. Актуальны вопросы создания биопрепаратов на основе, как индивидуального лекарственного растительного сырья, например, родиолы розовой, так и его сборов. Многокомпонентные сборы достаточно широко используются в традиционной медицине, что объясняется наличием широкого спектра фармакологического действия, мягко и гармонично воздействующего на все системы организма при минимальном количестве побочных эффектов в условиях длительного применения.

Необходимо отметить, что ответственным и действующим началами у растений из семейства родиолы являются флавоноиды и гликозиды [Саратиков, 1974; Трощенко, Кути-



кова, 1967]. Большинство адаптогенов являются суммарными вытяжками из сырья. Отдельно взятые компоненты широкого применения в медицинской практике не найдены. Как правило, действие смеси веществ оказывается эффективнее индивидуальных соединений [Брехман, 1978; Гриневич и др., 1977]. Многокомпонентность адаптогенов определяет комплексность их действия, а также обеспечивает не только активацию ключевых звеньев адаптации, но и снижение отрицательных последствий такой активации. Огромное количество исследований убедительно демонстрирует, что большинство адаптогенов, обладая широким спектром действия, способны при этом дифференцировано оптимизировать отдельные звенья адаптивных реакций.

Кроме высокой биологической активности препараты, относимые к группе адаптогенов, должны соответствовать следующим требованиям [Гаркави и др., 1998]:

- 1) действие их должно быть неспецифично и универсально, т.е. под их влиянием должна повышаться устойчивость (хотя бы качественно) к действию основных природных и техногенных экстремальных факторов;

- 2) положительный эффект при их действии должен осуществляться не за счет стимуляции каких либо процессов, а за счет оптимизации функций и лимитирования регулирующих систем, экономизации обменных процессов, защиты тканевых структур от истощения;

- 3) оптимум действия должен проявляться при смещении гомеостаза и быть минимальным при комфортных условиях;

- 4) повторные введения должны приводить к формированию структурного следа адаптации.

При этом нормализующее действие адаптогенов должно проявляться независимо от направленности предшествующих патологических изменений и адаптогены должны обладать устойчивым эффектом в широком диапазоне доз. Однако малые дозы адаптогенов вызывают общее расслабление, некоторую заторможенность, снижение общей возбудимости. Высокие дозы, напротив, могут вызвать перевозбуждение, появление раздражительности, бессонницы, чрезмерной агрессивности, интоксикацию. И только оптимальные дозы способны оказывать умеренный стимулирующий эффект, создают ощущение бодрости, прилива энергии.

Перечисленным требованиям из известных адаптогенов в наибольшей степени отвечают препараты, получаемые на основе женьшеня, элеутерококка, заманихи, лимонника, аралии, левзеи, родиолы розовой, пантов оленя, в том числе северного [Кершенгольц и др., 1992, 1997, 2007]. Из перечисленных растительных источников к настоящему времени создано огромное количество официальных и неофициальных адаптогенных препаратов, которые предлагаются в виде настоек, экстрактов, всевозможных мазей, таблеток.

Недостатками рассмотренных примеров является тот факт, что они являются напитками или настойками и содержат значительные количества растворов сахара или спирта, используемых при производстве, что обуславливает высокую калорийность продуктов, нежелательные эффекты в виде повышенной раздражительности, раздражения слизистой оболочки желудка. Прием таких препаратов противопоказан спортсменам, беременным и кормящим женщинам, людям пожилого возраста и детям, а также страдающим повышенной нервной возбудимостью, бессонницей, нарушением сердечно-сосудистой системы, гипертонией.

При промышленном производстве суммарных фитопрепаратов эффективность извлечения комплекса действующих веществ в ряде случаев достигает лишь 40–50% из-за недостаточности истощения сырья по всем группам действующих веществ. Данный факт свидетельствует о необходимости использования технологических приемов, повышающих биодоступность ФАВ из индивидуального растительного сырья.

Немаловажным недостатком известных фитопрепаратов адаптогенного и биостимуляторного действия является отсутствие эффекта детоксикации внутренних сред организма, в том числе мышечных тканей, от «токсичных усталости», в первую очередь от молочной кислоты, накапливающейся в организме при больших физических нагрузках.

Представляется важным изучение возможных путей создания современных фитопрепаратов с использованием механохимических биотехнологий, базирующихся на синергетном сочетании составляющих в биоконплексе за счет комплексообразования, также и детоксикационной функции активного наполнителя.

Использование лишайникового «активного наполнителя» в качестве активной субстанции для изготовления твердых форм биопрепаратов позволит расширить ассортимент комплексных фитопрепаратов пролонгированного и контролируемого действия, обеспечивающие высокую степень биологической доступности ФАВ лекарственных растений, которые можно использовать для лечения, профилактики многих заболеваний, повышения адаптогенной активности, физической выносливости (Анышакова, 2013).

Для проверки выше сформулированной рабочей гипотезы в виварном эксперименте (белые мыши линии CD-1) была исследована физиологическая активность механохимического композита, состоящего из «активного наполнителя» - лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов и фармакона – стандартного препарата «витаминно-микроэлементного комплекса» (ВМЭК) в соотношении 20:1. В качестве ВМЭК был использован стандартный препарат «Олиговит», содержащий 5000 МЕ ацетата ретинола (витамин А), 500 МЕ, холекальциферола (витамин D3), 12,5 мг ацетата токоферола (витамин Е), 100 мг аскорбиновой кислоты (витамин С), 5 мг, тиамин хлорида (витамин В<sub>1</sub>), 5 мг рибофлавина (витамин В<sub>2</sub>), 10 мг пантотената кальция, 2,5 мг гидрохлорида пиридоксина (витамин В<sub>6</sub>), 2,5 мкг цианокобаламина (витамин В<sub>12</sub>), 50 мг, никотинамида, 200 мг кальция (в виде кальция фосфата вторичного), 10 мг железа II (в виде FeSO<sub>4</sub>), 2,5 мг калия (в виде K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 500 мкг фтора (в виде NaF), 3 мг магния (в виде MgO), 500 мкг меди (в виде CuSO<sub>4</sub>), 500 мкг марганца (в виде MnSO<sub>4</sub>), 750 мкг цинка (в виде ZnSO<sub>4</sub>), 50 мкг кобальта (в виде CoSO<sub>4</sub>), 100 мкг молибдена (в виде Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>). Контрольный образец был получен в виде грубоизмельченной смеси слоевищ лишайника с ВМЭК «Олиговит» на бытовой мельнице до размера частиц 1-3 мм. Комплексный и контрольный биопрепараты вводили в корм животным в одинаковой дозе. Эксперимент длился 45 суток.

Было установлено, что исследуемые препараты в обеих группах, во-первых, не способствуют проявлению клинических признаков и не вызывают смертность животных. Во-вторых, они не обладают анаболическими свойствами, т.е. не способствуют наращиванию мышечной массы.

Результаты эксперимента показали повышение резистентности - характеристик, связанных с выносливостью, двигательной и исследовательской активностью животного организма («сила хвата»; «время плавания» в сек; «двигательная активность» в см. пройденного расстояния; «исследовательская активность», количество стоек животных) к действию физических нагрузок и экстремальных факторов различной природы в 1,5-2,7 раза по сравнению с контролем (рис. 32), по-видимому, за счет большей биодоступности ВМЭК и детоксикационной функции «активного наполнителя» (содержание лактата в мышцах при одной и той же нагрузке снизилось в 1,3 раза).

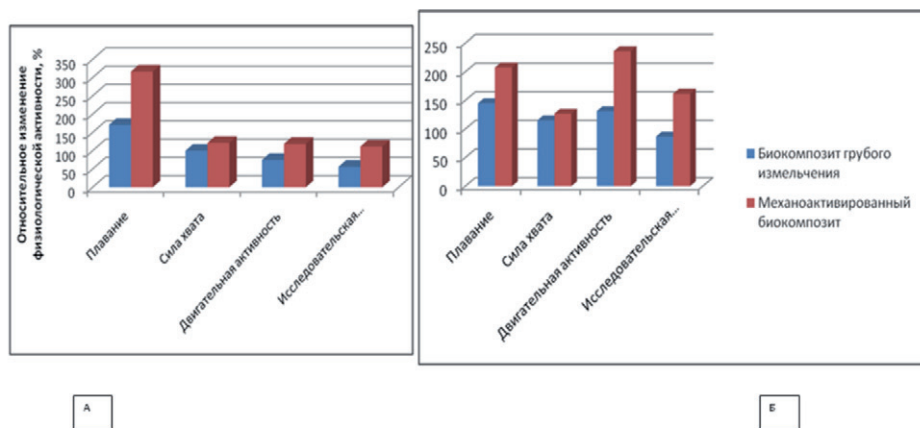


Рис. 32. Физиологическая активность организма: А – на 30-й, Б – на 45-й день приема композита ягель/ВМЭК

Наиболее ярко эффективность приема исследуемых биокomплексов демонстрирует тест, связанный с таким физическим качеством, как общая выносливость – тест «Плавание». Созданные механохимические композиты могут быть использованы в качестве лечебно-профилактического средства для повышения физической активности, выносливости, ускорения восстановления после физической нагрузки спортсменов и работоспособности людей, ведущих активный образ жизни, проживающих в экологически неблагоприятных регионах [Анышакова, Кершенгольц, 2013а].

Аналогичные по характеру эффекты, но ещё более выраженные в количественном отношении, были получены при совместной механоактивации слоевищ лишайников с корневищами родиолы розовой в соотношении 10:1 [Анышакова, Кершенгольц, 2013б; Анышакова, 2012а, 2013; Анышакова и др., 2015] (табл. 26).

Эффективность созданного адаптогенного биокomплекса также изучалась *in vivo* на белых лабораторных мышах линии CD-1. Контроль 1 – животные, содержащиеся на стандартной диете. Контроль 2 – корневища родиолы розовой (*Rhodiola rosea*, сем. *Crassulaceae*) измельченные на бытовой мельнице до размера частиц 1–3 мм. Контроль 3 – смесь корневищ родиолы розовой со слоевищами лишайников рода *Cladonia* в массовом соотношении 1:10 из сухого сырья, измельченная на бытовой мельнице до размера 1–3 мм. Эксперимент проводил-

ся в течение 45 суток. Результаты свидетельствуют о том, что фитопрепараты не вызывают смертность животных и проявления клинических признаков. За время эксперимента увеличение массы тела было отмечено во всех 4-х группах животных, что объясняется продолжающимся их ростом и развитием. Включение в рацион дополнительно фитопрепаратов выраженных изменений в динамике массы тела животных не вызывало. Анализ изменений параметра «сила мышечного хвата» не выявил достоверных изменений.

Таблица 26.  
Физиологическая активность животных на 30-й и 45-й день введения биоконплекса  
ягель/родиола розовая (в каждой группе n=15)

День	Контроль 1	Контроль 2 (родиола розовая)	Контроль 3 (смесь родиолы и слое- вищ лишайников 1/10 грубо измельченная)	Смесь родиолы и слое- вищ лишайников 1/10 механоактивированная
Абсолютные значения времени плавания животных (сек)				
0	96,2±5,6	59,7±5,1	100,3±7,1	106,5±6,5
30	96,3±16,4	107,8±11,3	206,0±14,8	329,4±21,9
45	75,0±6,9	86,7±11,5	231,4±22,1	449,4±17,2
Абсолютные значения двигательной активности животных (см)				
0	655,7±75,7	650,0±113,5	711,5±108,9	673,7±71,5
30	762,0±111,7	867,8±50,1	805,4±63,8	794,2±85,7
45	544,7±31,2	557,5±66,2	763,0±122,2	1891,8±61,8
Абсолютные значения исследовательской активности (количество стоек) животных				
0	24,5±2,1	17,3±2,5	24,8±1,2	26,8±3,5
30	25,5±2,8	21,7±3,8	23,6±2,7	28,8±1,5
45	18,7±1,3	12,5±3,0	22,2±3,5	36,2±3,2
Содержание лактата в крови животных (моль/л)				
0	10,8± 0,6	10,8± 0,6	10,8± 0,6	10,8± 0,6
30	11,2 ± 0,4	11,5 ± 1,0	9,8 ± 0,5	8,1 ± 0,4
45	11,2 ± 0,4	11,5 ± 1,0	9,8 ± 0,5	8,1 ± 0,4

В тесте «Плавание» для оценки работоспособности и выносливости использовали плавательный тест «Отчаяния» по Porsolt и «Вынужденное плавание» с нагрузкой. При этом фиксировали время от начала эксперимента до предельного истощения (табл. 26). Анализ результатов по этому тесту выявил достоверное увеличение времени плавания в 3 и 4 раза на 30-е и 45-е сутки соответственно в группе, получавшей механоактивированный биоконплекс ягель:родиола (МАБКЯ-Р) относительно остальных исследуемых групп. Это свидетельствует об адаптогенных пролонгированных во времени свойствах биоконплекса в условиях повышенных физических нагрузок. В контрольных группах №№ 1 и 2 к 45 суткам эксперимента наблюдалось снижение данного показателя, что, вероятно, связано с истощением ресурсов организма.

Наблюдения в рамках теста «AutoTrack» были разделены на две группы: «Двигательная активность» – пройденное расстояние, и «Исследовательская активность» – количество стоек (табл. 26). Физическая работоспособность в тесте «Двигательная активность» опреде-

являлась путем выполнения предельной нагрузки («бег до отказа»), показателем которой являлась неспособность животного продолжать бег против движущейся ленты, несмотря на электростимуляцию. Вся совокупность «AutoTrack» тестов характеризует целостное поведение, оценивающее действие на ЦНС. Анализ результатов показал, что на 45 день тестирования в группе, получавших «МАБКЯ-Р», обнаружено достоверное увеличение двигательной активности в 2,5-3,5 раз относительно соответствующих контрольных групп.

Важным показателем в исследовательской активности (эмоционально-стрессорная переносимость) является параметр «количество стоек» в тесте «AutoTrack», который характеризует изменения эмоционально-стрессорного состояния экспериментального объекта. Увеличение параметра указывает на большую социальную заинтересованность объекта, адаптивность к окружающим объектам, увеличение поисковой активности. Снижение показателя – противоположный результат, скованность, низкая адаптация к условиям окружающей среды. Эти данные согласуются с классическими представлениями, о том, что поисковая активность способствует успешному выходу из стрессовой ситуации. Из данных, приведенных в табл. 26 видно, что в контрольной группе № 1 наблюдается тенденция к уменьшению количества стоек на 45-й день исследования. В группе животных, принимавших чистый препарат «родиола розовая» (контроль №2) произошло увеличение данного показателя к 30-му дню исследования с последующим их снижением к 45-му дню, что объясняется повышением адаптивного потенциала на короткий срок с последующим истощением ресурсов организма. В группе «контроль №3» достоверных изменений данного показателя не отмечено, т.е. не наблюдалось истощения ресурсов организма. В экспериментальной группе животных, получавших «МАБКЯ-Р» обнаружено достоверное увеличение исследовательской активности к 45-му дню эксперимента в 1,6-2,9 раза относительно остальных исследуемых групп.

Созданный таким путём биокомплекс «МАБКЯ-Р» имеет существенно меньшую терапевтическую дозу активно действующей субстанции, следовательно, менее токсичен, что позволяет при снижении дозы лекарственного растения в 10 раз четырехкратно увеличить адаптогенный эффект.

По-видимому, механизмов такого эффективного биологического действия комплексов, полученных механоактивацией «активного наполнителя» (лишайниковых  $\beta$ -олиго-сахаридов) с «фармаконом» (ВМЭК, ФАВ из родиолы розовой, в том числе салидрозид) может быть несколько.

Во-первых, лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, связывая тот или иной фармакон, транспортируя его в кровь и далее через клеточные мембраны, обеспечивают его более высокую усвояемость и, как следствие, биоактивность.

Во-вторых, обладая высокой сорбционной активностью по отношению не только к экзо-, но и к эндотоксинам (например, к молочной кислоте), они снижают уровень их накопления на 25% в мышечных клетках, что также способствует повышению адаптивного потенциала и выносливости организма (табл. 26).

Полученные результаты позволили создать комплексный биопрепарат «Кладород» представляющий собой механоактивированный комплекс «родиола розовая/ягель» в соотношении от 1:5 до 1:10. По контракту № 2776-10/16 от 27.10.2014 года между Северо–

Восточным Федеральным университетом и «Федеральным научным центром физической культуры и спорта» (ФГБУ ФНЦ ВНИИФК) проведена его антидопинговая экспертиза.

После этого исследовалась эффективности его актопротекторного и адаптогенного действия по отношению к спортсменам пяти скоростно-силовым и сложно-координационных видов спорта: бокс, бои без правил, борьба вольного стиля, а также массовые виды спорта - ушу и цигун [Наумова и др., 2015, 2015а, 2015б, 2015в, 2015г, 2015д, 2016, 2016а; Anshakova et.al., 2015; Naumova, 2015].

1. Исследованы изменения морфологических и биохимических показателей спортсменов сборных команд России по единоборствам (боксеры и бойцы без правил;  $n=30$ ) до и после приема биопрепарата «Кладород», с учетом вида спорта и этапа подготовки. Спортивная квалификация – от мастера спорта до мастера спорта международного класса. Средний возраст -  $28 \pm 4$  года, стаж занятий спортом  $11 \pm 5$  лет. Спортсмены опытной и контрольной групп находились в одинаковых условиях (питание, медицинский контроль, условия проживания и тренировочного процесса). Спортсмены экспериментальной группы в течение 28 дней получали биопрепарат «Кладород» по одной капсуле внутрь между приемами пищи. Спортсмены контрольной группы в те же сроки по аналогичной схеме получали плацебо (порошок Ринген-Локка) в капсулах. Все назначения и медицинский контроль в период проведения эксперимента проводились врачом команды.

Изучение влияния БАД «Кладород» на динамику лабильных компонентов состава тела высококвалифицированных спортсменов - единоборцев в течение 4-х недель на этапе специальной подготовки к старту показало, что курсовой прием данного комплексного биопрепарата не сопровождается достоверным увеличением массы тела испытуемых экспериментальной группы. При этом показатели массы жира достоверно снизились, показатели мышечной массы увеличились в абсолютных и относительных показателях (табл. 27). В отличие от экспериментальной группы, в контрольной группе (прием плацебо) мышечная масса имела выраженную тенденцию к сокращению ( $p > 0,05$ ), тогда как масса жира достоверно возрастала по относительному показателю.

На фоне курсового применения указанного БАД зарегистрировано достоверное увеличение всех тестируемых показателей уровня скоростно-силовой подготовленности испытуемых по сравнению с исходными величинами. Наибольший прирост отмечен в жиме штанги лежа (+8,2%; в контроле – 2,4%) и броске ядра вперед двумя руками (+7,3%; в контроле – 1,9%; табл.28).

Таблица 27. Морфологические показатели состава тела испытуемых опытной (БАД Кладород) и контрольной (плацебо) групп, ( $n=30$ )

ПОКАЗАТЕЛИ	ДО ПРИЕМА БАД Кладород		ПОСЛЕ ПРИЕМА БАД Кладород	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Масса тела, кг *	$75,8 \pm 0,9$	$76,2 \pm 1,0$	$75,0 \pm 0,9$	$75,8 \pm 1,0$
Мышечная масса, кг	$39,2 \pm 0,8$	$40,3 \pm 0,9$	$41,6 \pm 0,8^*$	$39,5 \pm 0,9$
%	$51,7 \pm 1,0$	$52,9 \pm 1,2$	$55,5 \pm 1,1^*$	$52,1 \pm 1,2$
Масса жира, кг*	$9,2 \pm 0,2$	$9,3 \pm 0,2$	$8,5 \pm 0,2^*$	$9,8 \pm 0,2^*$
%	$12,1 \pm 0,3$	$12,2 \pm 0,3$	$11,3 \pm 0,3^*$	$12,9 \pm 0,3^*$

\*Статистически достоверные различия по сравнению с исходными значениями ( $p > 0,05$ )

Таблица 28. Динамика скоростно – силовых показателей единоборцев опытной группы на этапе специальной подготовки, М±m (n=30)

Показатель	До начала		После окончания	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Бег на 30 м с ходу, сек	3,84±0,05	3,89±0,04	3,90±0,02	3,87±0,06
Прыжок с места, м	2,59±0,16	2,64±0,24	2,75±0,20*	2,68±0,08
Бросок ядра вперед снизу двумя руками, м	16,10±0,32	16,05±0,18	17,27± 0,24*	16,36±0,20
Жим штанги лежа, кг	85,5±1,5	82,5±2,5	92,5±4,5*	84,5±2,5

\*Статистически достоверные различия по сравнению с исходными значениями ( $p>0,05$ )

Таким образом, обнаруженная стабилизация мышечной массы спортсменов опытной группы получила подтверждение в положительной динамике их скоростно-силовых показателей после курсового приема БАД «Кладород».

С этой же группой спортсменов (единоборцы: бокс и бои без правил) было изучено влияние приема биопрепарата «Кладород» на динамику адаптивного потенциала организма к повышенным нагрузкам, который оценивали по: интегральному гормональному показателю – (соотношение уровней тестостерона и кортизола в периферической крови; Т/К; табл. 29); уровню мочевины (мм; рис. 33) и активности трансаминаз крови: аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), мм/мин (рис. 34).

Таблица 29.

Динамика уровней тестостерона и кортизола в крови спортсменов (бокс и бои без правил) на этапе специальной подготовки (Сборные России; этап непосредственной подготовки к старту), М±m. Опытная группа – получали «Кладород», контроль – плацебо.

Показатель	До начала приема биопрепарата «Кладород»		После окончания приема биопрепарата «Кладород»	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Тестостерон общий, нМ	28,9±3,7	25,2±5,2	35,8±4,0*	16,3±2,1*
Кортизол, нМ	141±16,2	137±17,4	179±11,0*	281 ±10,8*
Коэффициент адаптации Т/К	0,21±0,04	0,18±0,04	0,20±0,06	0,11±0,01*

\*Статистически достоверные различия по сравнению с исходными значениями  $p>0,05$ )

Результаты, приведенные в табл. 29 свидетельствуют о том, что в результате курсового применения БАД Кладород в течение четырехнедельного мезоцикла этапа специальной подготовки единоборцев не произошло достоверного снижения интегрального показателя Т/К. В контрольной же группе зафиксировано устойчивое снижение аналогичного показателя с 0,18 до 0,11.

Аналогичная закономерность обнаружена и в отношении динамики уровня мочевины крови спортсменов экспериментальной группы (рис. 33).

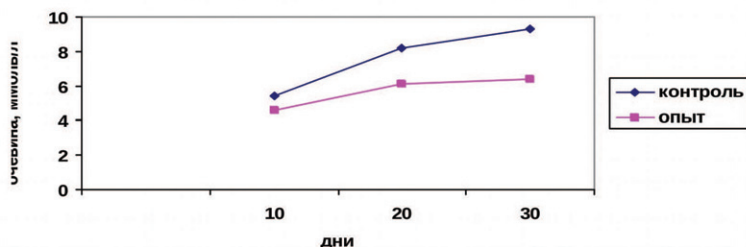
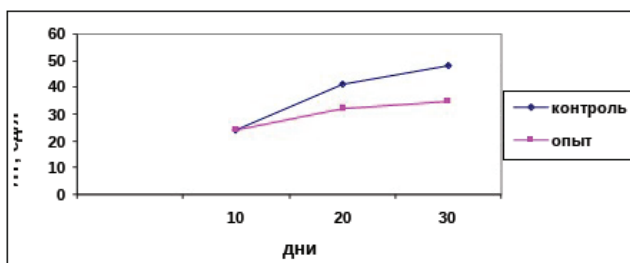


Рис. 33. Динамика уровня мочевины крови спортсменов - единоборцев опытной (БАД Кладород) и контрольной (плацебо) групп на этапе специальной подготовки - непосредственной подготовки к старту

А именно, у борцов, принимающих биопрепарат «Кладород», уровень мочевины крови не повысился в пределах достоверности ( $p > 0,05$ ). В то время как у борцов контрольной группы при такой же мышечной нагрузке он значительно вырос. Это указывает на то, что активные вещества БАД «Кладород», во-первых, обеспечивают процессы гликолитического фосфорилирования, энергетику мышечной деятельности в сберегающем для белков режиме. Во-вторых, они, участвуя в процессах детоксикации, обеспечивают более полный вывод эндотоксиканта (мочевины) из организма.

Анализ показателей активности трансаминаз АЛТ и АСТ у спортсменов - единоборцев опытной и контрольной групп показал следующее. Оба показателя росли во время этапа специальной подготовки в обеих группах. Вместе с тем их рост в контрольных группах достоверно опережал повышение их значений в экспериментальных группах. В результате, к концу этапа непосредственной подготовки к старту значения активности АЛТ и АСТ в опытной группе достигли верхнего значения норма, а в контрольной группе существенно превысили верхний предел клиничко-биохимической нормы, особенно по активности АСТ (рис. 34). Последнее указывает, во-первых, на бо'льшую адаптированность к повышенным физическим нагрузкам метаболических процессов в печени, чем в сердечной мышце. Во-вторых, на то, что курсовой прием БАД «Кладород» увеличивает адаптивный потенциал при повышенных физических нагрузках процессов, протекающих в печени, по-видимому, за счет своей детоксикационной активности.

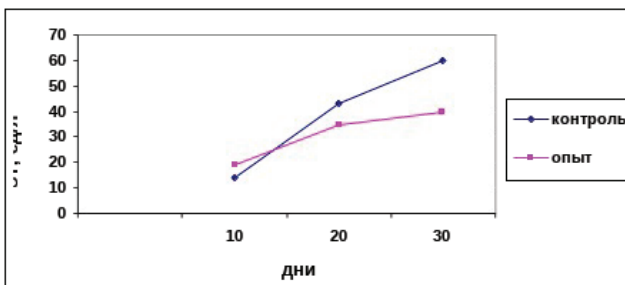


I – АЛТ

Норма:  
для мужчин –  
до 45 Ед/л;

для женщин –  
до 34 Ед/л





## II – АСТ

Норма:  
для мужчин –  
до 41 Ед/л;

для женщин –  
до 31 Ед/л

Рис. 34. Динамика уровня АЛТ (I) и АСТ (II) спортсменов – единоборцев опытной и контрольной групп на этапе специальной подготовки

Таким образом, в этом эксперименте продемонстрирована эффективность БАД «Кладород» в отношении профилактики цитолитических процессов в клетках печени и сердечной мышцы в течение этапа специальной подготовки спортсменов-единоборцев.

Учитывая отсутствие допинговой активности, установленное в рамках вне соревновательного тестирования на допинг-испытателях, получавших БАД «Кладород», а также то, что сравнительный анализ состава биопрепарат «Кладород» со списком компонентов запрещенных ВАДА, не выявил содержания в нем допинговых компонентов. БАД «Кладород» может быть рекомендован в качестве эффективного средства адаптации организма высококвалифицированных спортсменов к интенсивным нагрузкам..

На тех же основаниях и по аналогичным показаниям «Кладород» может применяться при занятиях массовыми формами физической культуры без каких-либо ограничений по критерию антидопингового контроля

2. Далее было исследовано влияние биопрепарата «Кладород» на психофизиологическое состояние организма высококвалифицированных спортсменов - борцов вольного стиля, в зависимости от исходного уровня адаптации к физическим нагрузкам. В исследовании приняли участие члены молодежной и взрослой сборных команд Республики Саха (Якутия). Исследование проводили в период первых летних сборов – с 14 по 29 июля, на спортивной базе ГБУ РС(Я) «Школа Высшего Спортивного Мастерства» «Манньяттах» в Мегино–Кангаласском улусе. Все респонденты, принимавшие участие в эксперименте, прошли углубленный медицинский осмотр и были признаны практически здоровыми. В исследовании участвовало 65 спортсменов в возрасте от 17 до 25 лет (средний возраст  $21 \pm 4,0$  года), одной спортивной квалификации – кандидаты и мастера спорта. Контрольные измерения проводились 2 раза: в начале сборов (14 июля) и в конце (29 июля). Предварительно были подобраны оптимальные дозы биопрепарата и соотношение «родиола розовая/ягель» равное 1:10 или 1:5 в БАД «Кладород», в зависимости от исходных индивидуальных психофизиологических характеристик.

Перед курсовым приемом БАД «Кладород», с помощью прибора «Омега-С», провели диагностику степени физической подготовки спортсменов (борцов вольного стиля) и по результатам показателя «уровень адаптации к физическим нагрузкам» (%) разделили спортсменов на три группы:

I группа (n=15) – спортсмены с низким уровнем исходной физической подготовки (от 14 до 35%). Принимали биопрепарат по 2-3 капсулы в день с массовым соотношением родио-ла розовая/ягель в комплексе 1:5 (табл.30);

II группа (n=22) – спортсмены со средним уровнем исходной физической подготовки (от 36 до 64%). Принимали биопрепарат по 4 капсулы в день с массовым соотношением родиола розовая/ягель в комплексе 1:10 (табл. 30)

III группа (n=28) – спортсмены с высоким уровнем исходной физической подготовки (от 64 до 100%). 14 человек из них принимали биопрепарат по 2-3 капсулы в день с массовым соотношением родиолы розовой в комплексе 1:10. Так как в III-ей группе спортсмены находились на пике своих физических возможностей, то стояла задача удержать их на этом уровне. Поэтому 14 человек из этой группы вместо БАД «Кладород» принимали плацебо – глюконат кальция (табл. 31).

Тестирование, психофизиологического состояния спортсменов, наряду с анкетированием, проводили на приборе «Омега-С» по следующим показателям (в % от максимума): «Адаптация к физическим нагрузкам», «Тренированность», «Энергообеспечение», «Психозэмоциональное состояние», «Спортивная форма». Результаты приведена в табл. 30 и 31.

Таблица 30. Изменение функциональных показателей спортсменов с низким и средним уровнем физической подготовки до и после приема биопрепарата «Кладород», %

Показатели	I группа		II группа	
	до	после	до	после
Адаптация к физическим нагрузкам	22,1±5,3	46,9±6,1	56,9±2,3	62,3±3,3
Тренированность	13,8±7,2	59,0±4,3	50,2±5,3	71,9±4,5
Энергообеспечение	27,3±6,9	43,9±2,9	51,9±4,7	57,6±6,7
Психозэмоциональное состояние	23,8±4,5	47,6±3,4	54,8±3,2	66,1±7,3
Спортивная форма	19,8±3,5	47,6±2,3	55,8±5,3	60,1±5,3

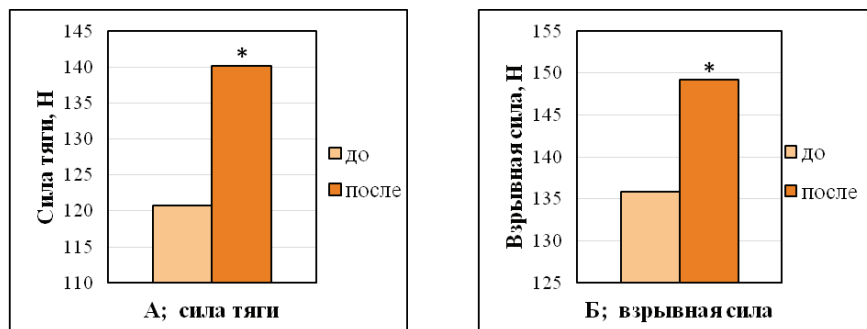
Таблица 31. Изменение функциональных показателей спортсменов с высоким уровнем физической подготовки до и после приема биопрепарата «Кладород», %

Показатели	III группа (высокий уровень)			
	экспериментальная		контрольная	
	до	после	до	после
Адаптация к физическим нагрузкам	79,8±4,2	67,3±2,8	80,1±2,5	54,0±2,8
Тренированность	90,6±8,7	80,2±3,2	87,3±3,6	60,6±3,9
Энергообеспечение	72,5±9,2	60,9±4,1	76,3±1,9	51,9±4,1
Психозэмоциональное состояние	73,5±4,7	64,6±2,2	72,1±8,3	65,4±5,7
Спортивная форма	73,5±5,3	72,6±5,2	75,4±4,6	52,3±3,7

Результаты, приведенные в табл. 30 и 31, указывают на высокую эффективность биопрепарата «Кладород» в отношении не только формирования адаптивного потенциала спортсменов-борцов, энергообеспечения функционирования организма при большой физической нагрузке, психозэмоционального состояния (в итоге - степени тренированности и спортивной формы; сравнение показателей I и II групп в табл. 30), но и в отношении сохранения этих высоких показателей на фоне огромных физических и психозэмоциональных нагруз-

зок тренировочного и соревновательного циклов (сравнение показателей экспериментальной и контрольной III-их групп в табл. 31).

Параллельно с оценкой психофизиологического состояния спортсменов на приборе «Омега-С» провели комплексное измерение силовых качеств спортсменов I-й группы с помощью станового динамометра (сила тяги, взрывная сила). В этом эксперименте участвуют практически все основные мышцы тела. Сила тяги после приема биопрепарата увеличилась на 19,4 Ньютона (на 16%; рис. 35А), а взрывная сила - на 13,3 Ньютона (на 9,8%; рис. 35Б).



\*Статистически достоверное изменение ( $p < 0,05$ )

Рис. 35. Измерение на динамометре силы тяги (А) и взрывной силы (Б) в экспериментальной I группе, ньютон

Влияние биопрепарата «Кладород» на уровень тренированности организма спортсменов, помимо прибора «Омега-С», исследовали по тесту Руфье. Тест представляет собой нагрузочный комплекс, предназначенный для оценки работоспособности сердца при физической нагрузке. Результаты представлены в табл. 32. Они также указывают на высокую эффективность курсового приема БАД «Кладород» в повышении тренированности организма спортсменов, а также позволяют подобрать индивидуальные схемы приема и дозировки биопрепарата «Кладород».

Таблица 32.

Оценка функционального состояния по тесту Руфье, условные единицы

Параметры	до приема биопрепарата «Кладород»	после приема биопрепарата «Кладород»
Уровень функционирования	0,7 (удовлетворительно)	1,0 (отличное состояние)
Функциональная нагрузка	5,3 (хорошо)	3,0 (хорошо переносит физические нагрузки)
Функциональный резерв	12,1 (удовлетворительно)	34,6 (отличное функциональное состояние организма)

3. Было исследовано влияние БАД «Кладород» на адаптивный потенциал, физическую работоспособность и спортивный результат спортсменов, занимающихся массовыми видами спорта - ушу и цигун. В исследовании приняли участие спортсмены центра изучения ушу и цигун «Небесная река» РС (Я) разной спортивной квалификации,  $n=30$ , возраст спортсменов от 17 до 68 лет (средний возраст -  $43 \pm 20$  лет), время проведения – летний период с 11 по 25

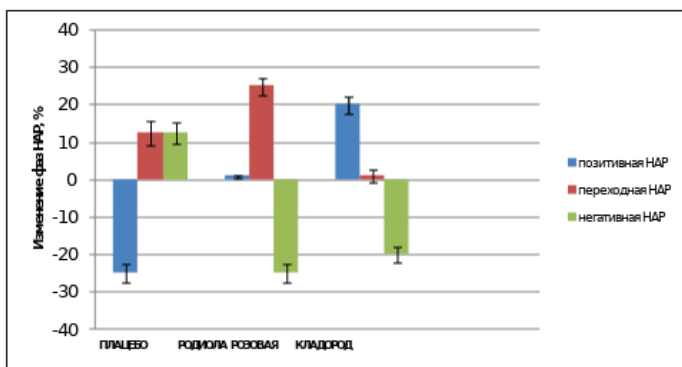
июня. Все респонденты, принимавшие участие в эксперименте, прошли углубленный медицинский осмотр и были признаны практически здоровыми. Контрольные измерения и забор крови для определения лейкоцитарной формулы были проведены два раза: в начале (11 июня) и в конце эксперимента (25 июня).

Спортсменов разделили на три группы. Участники I-й экспериментальной группы (n=10) принимали БАД «Кладород» с массовым соотношением родиолы розовой (0,045 г/капсула) и лишайника (0,450 г/капсула) в комплексе 1:10, по 4 капсулы в день, за 20-30 минут до приема пищи (утром – 2 капсулы и днем – 2 капсулы). Участники II-й экспериментальной группы (n=10) принимали препарат, содержащий только механоактивированные корневища родиолы розовой (0,180 г/капсула), по 1 капсуле в день, утром за 20-30 минут до приема пищи. В III-ей контрольной группе (n=10) принимали плацебо (глюконат кальция) по 1 капсуле в день, утром за 20-30 минут до приема пищи.

Адаптивный потенциал организма оценивали по фазе неспецифической адаптивной реакции (НАР) организма, которую определяли по лейкоцитарной формуле крови [Гаркави и др., 1998]. Выделяли группу «позитивных» НАР («устойчивая активация» и «устойчивая тренировка»), при формировании которых активности катаболических и анаболических реакций в организме сбалансированы на высоком или среднем уровне интенсивности, соответственно; группу «негативных» НАР («стресс» и «переактивация»), при которых активность катаболических реакций резко превалирует над активностью анаболических. А также группу переходных НАР «неустойчивая активация» и «неустойчивая тренировка».

По окончании эксперимента в I-й группе доля спортсменов, организм которых находился в позитивных НАР, увеличилась на 20%, в переходных НАР - осталась неизменной, в негативных НАР - уменьшилась на 20% (рис. 36).

Рис. 36.  
чаемость  
специфиче-  
адаптивных  
Во II-  
доля



Встрече-  
фаз не-  
ских  
реакций  
й группе

спортсменов, организмы которых находились в позитивных НАР, осталась неизменной, в переходных НАР - увеличилась на 25%, в негативных НАР - уменьшилась на 25%. В III-й группе доля спортсменов, организмы которых находились в позитивных НАР, уменьшилась на 25%, в переходных НАР - увеличилась на 12,5%, в негативных НАР - увеличилась на 12,5% (рис. 36).

Организмы спортсменов, находящихся в переходных фазах НАР, наиболее подвержены метаморфозам в зависимости от ряда факторов. Поэтому именно для спортсменов этой

группы проводили контроль психофизиологического состояния с помощью прибора «Омега-С». В табл. 33 приведены результаты обследования, показывающие относительное изменение физического и психофизиологического состояния (%) до и после эксперимента. Расчёты проводили по формуле  $\omega (\%) = R_1/R_2 \times 100\%$ , где  $\omega$  – показатель состояния спортсменов,  $R_1$  – результат измерения после приема биопрепарата,  $R_2$  – результат измерения до приема биопрепарата.

Таблица 33. Средние показатели физического состояния спортсменов, занимающихся ушу и цигун (результат измерения после эксперимента / результат до эксперимента, %)

Показатели	I группа (Кладород, родиола/ягель = 1:10), n=10	II группа (механоактивир. родиола), n=10	III группа (плацебо), n=10
Адаптация к физическим нагрузкам	477±60,3	95±30,5	119±18,7
Тренированность	279±45	142±12,7	89±11,6
Энергообеспечение	340±34,4	126±16	93±21,4
Психоэмоциональное состояние	509±36	110±23,1	84±14,6
Спортивная форма	310±19,8	134±17,5	93±9,7

Исследованные показатели повышаются в I-ой группе (принимали БАД «Кладород» в сравнении с III-ей группой (плацебо) в 3,6 – 6 раз; по сравнению со II-ой группой (принимали биопрепарат механоактивированных корневищ родиолы розовой) – в 2-5 раз.

Результаты, приведенные в табл. 33 свидетельствуют о том, что именно образование механоактивированного комплекса между лишайниковыми  $\beta$ -олигосахаридами и биоактивными веществами родиолы розовой приводит к выраженному адаптогенному и актопротекторному эффекту.

Начато использование данных биопрепаратов в системе МЧС в целях повышения адаптивного потенциала, актопротекторной активности и детоксикации организма спасателей, работающих в экстремальных условиях.

#### **4.6. Перспективы использования ягелевых биопрепаратов в онкологии (детоксикация при лучевой и/или химиотерапии; модификация гликокаликса клеточных мембран)**

Широко известны способы постоперационного лечения онкологических больных с помощью методов направленной деструкции (цитоллиза, некроза) клеток злокачественных опухолей ионизирующим излучением большой мощности (радиотерапия в диапазоне длин волн рентгеновского или гамма-излучения; источники гамма-квантов – радий, кобальт или цезий) [Ярмоненко, Вайнсон, 2004] или фармацевтических препаратов цитостатического действия для ингибирования бесконтрольного, неограниченного деления быстро делящихся клеток – одно из основных свойств клеток злокачественных опухолей [Чу, Де Вита-младший, 2008; Сидоренко и др., 2009].

Целью *лучевой терапии* является уничтожение клеток, из которых состоит патологический очаг - опухоль. Первичная причина «гибели» клеток при лучевой терапии - нарушения ДНК, приводящие в дальнейшем к распаду клеток (некрозу). Нарушения ДНК – след-

ствия, во-первых, непосредственного разрушения молекулярных связей из-за ионизации атомов ДНК. Во-вторых, процессов опосредованных через образование [перекиси водорода](#) и [свободных радикалов](#) при радиоллизе внутриклеточной и межклеточной воды, которые далее взаимодействуют с ДНК. Причем, чем активнее клетка делится, тем более диспергирован геном [Алексеев, 1994; Кершенгольц, 2002] и тем более сильное повреждающее воздействие оказывает на неё [радиация](#). [Раковые](#) клетки являются активно делящимися и быстро растущими. В норме, схожую по интенсивности реакцию на ионизирующее облучение дают клетки [костного мозга](#), других кроветворных органов и иммунокомпетентных систем. Соответственно, если раковые клетки более активны, чем окружающие ткани, то повреждающее действие излучения причинит им бо́льший вред. Это обуславливает эффективность лучевой терапии при одинаковом облучении опухолевых клеток и больших объёмов здоровой ткани, например, при профилактическом облучении региональных [лимфоузлов](#). Современные медицинские установки для лучевой терапии позволяют существенно увеличить терапевтическое отношение за счёт «фокусирования» ионизирующего излучения на патологическом очаге и соответствующего «щажения» здоровых тканей. Вместе с тем, в результате облучения страдает не только сама опухоль, но и окружающие ткани. Сама же опухоль под действием ионизирующего излучения гибнет, продукты распада попадают в кровь, вызывая выраженные интоксикационные осложнения.

*Химиотерапия* в онкологии – медикаментозное лечение злокачественных опухолей, направленное на уничтожение или замедление роста раковых клеток с помощью препаратов - цитостатиков. Лечение рака химиотерапией происходит систематически по определенной схеме, которая подбирается индивидуально. Схемы химиотерапии опухолей состоят из нескольких курсов приема определенных комбинаций препаратов с паузами между приемами, для восстановления поврежденных тканей организма. В большинстве случаев химиопрепараты повреждают опухолевую клетку также за счет нарушения синтеза или функционирования ДНК. Механизмы повреждения различны: встраивание в ДНК, разрывы связей в ДНК и т.п. За счет таких повреждений ДНК опухолевая клетка теряет способность к делению и метаболизму. Это приводит к гибели её и всего клеточного клона. Необходимость проведения химиотерапии циклами обусловлена тем, что все клетки, в том числе и опухолевые, имеют определенный цикл жизни. В основной фазе они не делятся и выполняют свои функции, затем переходят в фазу деления, во время которой происходит удвоение генетического материала. Именно в этой фазе опухолевые клетки наиболее чувствительны к воздействию химиопрепаратов. Не все клетки делятся одновременно. Какая-то их часть находится в «спячке», выходя из которой они становятся наиболее чувствительными к химиопрепаратам. Таким образом, давая опухоли паузу, ждут, пока неактивные клетки не начнут делиться.

В зависимости от локализации и вида опухоли химиотерапия назначается по разным схемам и имеет свои особенности.

В современной онкологии химиотерапия - основной медикаментозный метод лечения рака. С помощью лучевой терапии или хирургического вмешательства невозможно уничтожить все раковые клетки в организме, поэтому остро стоит вопрос рецидивов метастаз и новых очагов («вторичный рак»). Химиотерапия позволяет «добраться» до отдаленных ча-

стей внутренних органов и систем и уничтожить или затормозить быстрое деление раковых клеток. Препараты вводят в кровяное русло, и они циркулируют по всему организму. В этом состоит главное преимущество химиотерапии в онкологии перед другими методами лечения рака. Некоторые типы рака излечимы посредством только химиотерапии. Однако для большинства видов рака это пока невозможно, и медикаментозное лечение в таких случаях проводят в целях контроля развития заболевания и его сдерживания, а также для облегчения симптомов.

Основная причина того, что с помощью химиотерапевтических методов нельзя излечивать большинство видов рака, заключается в том, что либо раковые клетки приобретают устойчивость к препаратам, либо они обладают частичной или полной устойчивостью к ним с самого начала. Например, если при каком-либо раке 99% клеток чувствительны к лекарствам, химиотерапия позволит устранить 99% поражения, но не окажет никакого влияния на оставшийся 1% клеток, которые продолжают активно делиться, давая начало новому клону злокачественных клеток. *Устойчивость к лечебным препаратам и неполное разрушение раковых клеток являются важнейшими препятствиями к повышению эффективности лечения химиотерапевтическими методами.* Чем крупнее опухоль, тем больше вероятность ее устойчивости к препаратам. Поэтому если первичная опухоль удалена хирургически и существует опасность, что небольшое количество раковых клеток уже распространилось на другие части организма (метастазы), то во избежание рецидива, когда лечение будет проводить уже труднее, сразу после операции приступают к химиотерапии в целях уничтожения всех оставшихся раковых клеток. Такой подход и есть суть адьювантной химиотерапии.

Таким образом, химиотерапия позволяет: (1) уменьшить размер опухоли до операции или облучения (неoadьювантная химиотерапия); (2) уничтожить раковые клетки, которые могут остаться после операции или облучения (адьювантная химиотерапия); (3) повысить эффективность лучевой и биотерапии, уничтожить клетки рецидивирующего рака или метастаз. Чаще всего химиотерапию комбинируют с хирургическим лечением, лучевой терапией или биотерапией. Ежегодно до 0,5 млн. пациентов в России проходят курс химиотерапевтического лечения и, несмотря на тяжесть и опасность, многим больным оно продлевает жизнь и даже помогает полностью справиться с опухолью.

Основным недостатком химиотерапии является одновременное воздействие цитостатиков (ядов, токсинов) на здоровые клетки крови и тканей, что приводит к необходимости длительного реабилитационного периода. Опухолевые клетки не чужеродны для организма больного человека, они возникают при трансформации нормальных клеток его органов и тканей постоянно. Поэтому очень сложно создать цитостатическое средство, которое повреждало бы клетки опухоли, но не вредило бы здоровым клеткам организма, так как раковые клетки отличаются от нормальных не столь значительно. (Основное отличие раковых клеток от здоровых – это то, что они делятся гораздо быстрее обычных, поскольку у них нарушен нормальный контроль клеточного деления, что, собственно, и делает их злокачественными. Они утратили механизмы, контролирующие их рост, репродукцию, межклеточную адгезию, тканеспецифичность, приобрели относительную автономность, в том числе, от регуляторного действия эндокринной и иммунной систем). Но в остальном большинство биохимических

процессов (кроме аэробных биоэнергетических процессов), происходящих в клетках обоих типов, сходны.

Большая часть противоопухолевых лекарственных средств, также как и лучевая терапия, повреждают клетку именно в момент деления. Соответственно, чем чаще клетка делится, тем большее воздействие оказывает лекарство. Но проблема в том, что среди нормальных клеток организма многие также ведут довольно «активный образ жизни» и делятся очень часто. К ним относятся клетки костного мозга, кожи и волосяных луковиц, желудочно-кишечного тракта, иммунокомпетентных систем. Поэтому к частым осложнениям противоопухолевой химиотерапии относятся: нарушения кроветворения (анемия, снижение уровня гемоглобина), выраженная лимфопения, общее ухудшение самочувствия, физическая слабость, усталость, головокружение, язвочки и воспаление десен, боли в животе, выпадение волос, тошнота, рвота, понос и т.д., в целом, **сильнейшая интоксикация образующимися эндотоксинами и продуктами превращения цитостатиков**.

У каждого пациента свой ответ на химиотерапию и интенсивность тех или иных побочных эффектов. Большинство негативных эффектов химиотерапии проходят после ее завершения, но иногда это занимает большой период времени. Множественные курсы химиотерапии приводят к серьезным повреждениям внутренних органов, некоторые имеют долгосрочные побочные эффекты. Чтобы свести их к минимуму создают лекарственные средства более направленного действия, отличающие раковую клетку по специальным структурам на ее поверхности или ингибирующие ферменты, присущие только раковым клеткам. Однако они эффективны для лечения лишь отдельных видов опухолей.

Известны и другие, инновационные методы лечения рака. Например:

[Ингибиторы ангиогенеза](#) - препараты для блокирования развития сосудов опухоли.

[Биотерапия рака](#) - новые методы биологической терапии рака, на сегодня этот метод применяется в комплексе с другими стандартными методами, отличается особой эффективностью в лечении редких видов рака, резистентным к химио- и лучевой терапии.

[Трансплантации костного мозга](#) и стволовых клеток периферической крови - зачастую единственный метод в эффективном излечении [рака крови](#).

[Генетика рака](#) - экспериментальные методы таргетинговой терапии рака, пока не используется вне рамок клинических испытаний.

[Целевая терапия рака](#) - медикаментозная терапия, направленная исключительно на определенный белок опухоли, применяется в лечении рака молочной железы и некоторых других типов.

[Гипертермия](#) в лечении рака - относительно новая методика, основанная на очень высокой чувствительности клеток опухоли к повышению температуры, в отличие от здоровых клеток. Применяется в качестве альтернативной терапии рака под контролем прошедших данную специализацию врачей-онкологов [Литвинов и др., 2004]. Такой её вид, как "[горячая химия](#)" уже применяется при множественных метастазах брюшной полости.

[Лазеры в лечении рака](#) - энергия света высокой интенсивности вместе со специальными красителями уничтожает раковые клетки, так называемая фототерапия. Применяется при меланоме.



*Фотодинамическая терапия рака* - применяется в основном, для опухолей слизистой и кожи. Эффективна в своей точности - практически не поражает здоровые ткани.

*Криохирургия* - криоабляция опухолей - применяется при раке простаты, печени, поджелудочной железы и других опухолях мягких тканей [Ханевич, Манихас, 2011].

*Иммунотерапия злокачественных опухолей* – применяется при лечении злокачественных опухолей головного мозга, меланомах кожи, распространенного рака почки и др.

Вместе с тем, следует подчеркнуть, что цель большинства из них, кроме методов иммунотерапии злокачественных опухолей и, частично, криовоздействий на организм - разрушение (цитоллиз) перерожденных клеток, а не перестройка собственных систем организма, которые призваны в постоянном режиме мониторировать состояние всех клеточных структур; на самых ранних этапах злокачественного перерождения выявлять такие даже одиночные клетки и подвергать их избирательному элиминированию, включая апоптоз, в первую очередь, благодаря активности иммунной системы. И в этом отношении **все основные методы, применяемые в онкологии не являются патогенетическими.**

Для разработки **патогенетического** метода лечения и профилактики онкопатологии необходимо рассмотреть ключевые молекулярно-клеточные стадии канцерогенеза.

Анализ литературы, посвященной изучению молекулярно-клеточных механизмов канцерогенеза, позволяет предположить, что все процессы известные и описанные в рамках канцерогенеза (*утрата контроля клеточного деления, метастазирование, переключение аэробного типа энергообеспечения метаболизма на анаэробный (бескислородный) гликолиз, формирование «бессмертия» онкоклеток, утрата клеточной специфичности, иммуносупрессия, ингибирование апоптоза и систем репарации ДНК и др.*) укладываются в модель возвращения отдельно взятой перерождающейся клетки на раннеэмбриональную стадию развития (онтогенеза) во взрослом организме. А взаимоотношения её с организмом – в модель близкую к взаимоотношениям в системе «организм матери – эмбрион (плод)», т.е. соответствуют охранительно-питающей стратегии со стороны организма по отношению к этой клетке, в первую очередь, со стороны иммунной системы. То есть, иммунная система в организме онкологического больного не элиминирует раковую клетку, а наоборот охраняет её [Бережная, 2005; Гольдберг, 2000; Гранов, Молчанов, 2008; Закеева и др., 2007; Родионов и др., 2007]. В этом отношении процесс злокачественного перерождения можно представить как процесс десинхронизации во времени между стадией онтогенеза всего взрослого (детского, пожилого) организма и раннеэмбриональной стадией онтогенеза клеток опухоли.

Среди многих свойств злокачественно перерожденной клетки наиболее точно её характеризует свойство **автономности**. Сущность злокачественной клетки лучше всего передана определением Francis Peyton Rous: «Злокачественная клетка, переходя от одной стадии к другой, все более изменяется, теряет свойства органа, от которого происходит, и все меньше подчиняется контролю регулирующих и координирующих механизмов в организме. В конце концов, это приводит к потере клеткой своего происхождения; она только питается за счет организма, метастазирует и за счет инвазивного роста разрушает различные ткани и органы, опустошая организм» [Роудс, 1959].

С общебиологической точки зрения свойство злокачественного роста не являются уникальными исключительно для опухолей. *Например, скорость размножения опухолевых клеток не превышает скорости размножения зародышевых клеток в норме.* Непрерывность роста также неспецифична для опухолей. Известны нормальные ткани, например эпидермис, которые растут всю жизнь. Избыточный объем роста опухолей - количественное, а не качественное отличие. Он превышает лишь норму организма, установленную регуляторными системами. Чрезмерный рост - наиболее типичное свойство злокачественного роста.

Организм в определенном смысле относится к злокачественной опухоли как хозяин к паразиту: он обеспечивает его кровеносными сосудами, т.е. питанием, и стромой, на которой опухоль может расти. С этой точки зрения раковую клетку можно сравнить с одноклеточным организмом (по аналогии с бактериями), который руководствуется собственными законами и не признает потребностей хозяина, что, в конце концов, приводит к смерти организма-хозяина, влекущей за собой и гибель злокачественной клетки. Но есть одно очень важное отличие раковой клетки от одноклеточного паразита (например, патогенной бактериальной клетки). Если в борьбе с бактериальной клеткой организм включает иммунологические механизмы, призванные обнаружить, идентифицировать как чужеродную клетку (по наличию на внешней стороне мембраны, в гликокаликсовом слое чужеродных тканеспецифичных антигенов) и разрушить клетку-паразит, то ***в случае раковой клетки иммунная система «слепнет», не может её обнаружить и, соответственно элиминировать.***

Многие авторы связывают развитие рака с дегенерацией иммунитета, допускающей неограниченную пролиферацию опухолевых клеток. Растущее злокачественное новообразование и иммунная система находятся в сложных многоуровневых перекрестных взаимоотношениях, изучение которых открывает новые возможности для иммунотерапии опухолей. Однако ее эффективность находится в прямой зависимости от сохранности (*точнее, стратегии функционирования*) реактивности иммунной системы организма [De Souza, Bonorino, 2012]. Рост злокачественной опухоли сопровождается продукцией веществ, способных снижать или полностью блокировать противоопухолевый иммунный ответ. *Клетки опухоли при этом перестают распознаваться иммунными клетками и опухоль становится биологически более агрессивной* [Whiteside, 2006]. В настоящее время известно, что один из ключевых механизмов иммуносупрессии при канцерогенезе опосредован через стимуляцию опухолью дендритных клеток и клеток-регуляторов (T-reg cells), которые способны оказывать как местное, так и системное угнетение иммунного ответа [Clarke S.L. et. al., 2006]. Другим важным условием формирования иммунной реакции организма на рост опухоли является направленность иммунного ответа. Известно, что в зависимости от преобладания в зоне иммунной реакции Т-хелперов 1 или 2 типа опухоль либо распознается и уничтожается иммунными клетками, либо *ускользает от иммунного надзора* [Барышников, 2003]. Среди возможных механизмов иммуносупрессивного влияния опухоли на тимус также различают недостаточное поступление в железу костномозговых предшественников, нарушение дифференцировки тимоцитов и усиление апоптоза, а также повышенную миграцию клеток на периферию [Киселева, 2004].

Возникает вопрос, почему раковая клетка становится «невидимой» для иммунной системы? Ответ на него может быть получен из сравнения клеточно-молекулярных особенностей строения и метаболизма эмбриональных и раковых клеток, по сути фетальных генов и онкогенов (табл. 34).

Таблица 34.

Сравнение клеточно-молекулярных особенностей строения и метаболизма эмбриональных и раковых клеток

№	При эмбриогенезе	При канцерогенезе
1	Фетальные гены дерепрессированы - активны	Дерепрессия фетальных генов на более поздних стадиях онтогенеза, которые и являются <b>онкогенами</b>
1а	А) Синтез белков, характерных для эмбриональной стадии развития клетки, в том числе гликозилгидролазы Б) Активация факторов роста эпителия –стимулирование клеточного деления	
1б	Гены, кодирующие гликозилтрансферазы частично репрессированы. Гены, кодирующие гликозилгидролазы (входят в состав раннефетальных генов) дерепрессированы, для того чтобы не формировался контроль клеточного деления и происходил бы процесс быстрого клеточного деления для наработки биомассы	Гены, кодирующие гликозилтрансферазы репрессированы. Гены, кодирующие гликозилгидролазы дерепрессируются
2	Олигосахаридные компоненты гликокаликса неразвиты. (Они развиваются на более поздних стадиях эмбриогенеза, формируя тканеспецифические антигены, рецепторные комплексы, транспортные каналы и другие мембранные функциональные комплексы) Такие клетки более устойчивы к неблагоприятным факторам среды.	Олигосахаридные компоненты гликокаликса гидролизуются за счет превышения активности гликозилгидролаз над активностью гликозилтрансферазами неразвиты. Такие клетки более устойчивы к неблагоприятным факторам среды
3	Внешний гормональный контроль не мешает развитию и аутоспециализации таких клеток	Гидролиз олигосахаридных компонент гликокаликса приводит к утрате таких мембранных структур, как тканеспецифические антигены, рецепторные комплексы, транспортные каналы, другие мембранные функциональные комплексы, которые определяют все основные функции мембран. Соответственно, утрачиваются следующие функции: - межклеточная адгезия (приводит к метастазированию, т.к. одним из механизмов формирования клона из отдельных клеток является взаимодействие их гликокаликсовых структур); - контроль клеточного деления клеток (т.к. огра-

		<p>ничение клеточного деления, при прочих необходимых условиях, определяется межклеточным взаимодействием олигосахаридных компонент гликокаликса).</p> <p>И формируются такие свойства, как:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- автономность от организменных систем регуляции (т.к. разрушаются, в том числе, гормоно-рецепторные комплексы);</li> <li>- «невидимость» для иммунной системы (т.к. разрушаются тканеспецифичные антигены)</li> </ul>
<b>В результате</b>		
1	Повышенные скорости клеточного деления для наработки биомассы эмбриона (плода)	Повышенные скорости клеточного деления, в результате утраты ингибирующего контроля клеточного деления
2	Снижение степени межклеточной адгезии в целях повышения скоростей репликации	Снижение степени межклеточной адгезии - метастазирование
3	Значительный вклад в биоэнергетические процессы анаэробного гликолиза, т.к. эмбриональные клетки по определению испытывают дефицит кислорода, в том числе из-за незрелости механизмов транспортировки O <sub>2</sub> через клеточные мембраны (недосформированы гликокаликсовые комплексы на уровне незрелости олигосахаридных составляющих)	Значительный вклад в биоэнергетические процессы анаэробных процессов, т.к. митохондрии «засыпают», по-видимому из-за дефицита O <sub>2</sub> в клетках
4	Ослабление иммунологического контроля для предотвращения атаки иммунной системы матери по отношению к эмбриону (плоду)	Ослабление иммунологического контроля как способ «маскировки» клеток опухоли
5	Сдерживание внешнего по отношению к эмбриону (плоду) гормонального контроля над процессами клеточной дифференциации	Утрата гормонального контроля над клеточной дифференциацией, утрата клетками специфичности и приобретение «бессмертия»

В отношении онкопатогенеза известно, что:

1) Опухолевая трансформация – это результат дезорганизации генетического материала, приводящей к расстройству механизмов контроля, особенно контроля клеточного деления, межклеточной адгезии, формирования специфичности клетки (в том числе, тканеспецифичных антигенов) в результате спонтанных (не репарированных) мутаций мутагенами физической, химической или вирусной природы). В конечном итоге это приводит не только к инициации метастазирования в результате резкого снижения межклеточной адгезии, но и не менее важно, к утрате клеткой своей иммуноспецифичности (иммунная система перестает сканировать такие клетки и идентифицировать их как «свои», либо как «чужие»), к автономии клетки и т.д.

2) В этом процессе существенное значение принадлежит генетическим свойствам организма хозяина (при вирусном онкогенезе – генетическим свойствам вируса).

3) На развитие опухолевого процесса влияют разнообразные факторы внешней среды (климат, температура; вирус герпеса при болезни Lucke при  $t < 11,5^{\circ}\text{C}$  размножается в актив-

ной форме, а при  $t > 11,5^{\circ}\text{C}$  в латентном состоянии встраивается в геном, вызывая опухолевой рост).

4) В процессе канцерогенеза большое значение имеет общая иммунологическая сопротивляемость организма. При иммунодепрессиях частота появления опухолей повышается.

Эти особенности перерожденной клетки формируются, в первую очередь, за счет депрессии фетальных (функционирующих на ранних, эмбриональных стадиях развития организма) генов. Но ведь при эмбриогенезе, для исключения иммунологического конфликта между иммунной системой матери и клетками эмбриона, который на 50% несет чужеродную генетическую информацию, происходят аналогичные процессы, ключевым звеном которых является деструкция олигосахаридных компонентов гликокалекса клеточных мембран (табл. 34).

То есть, сравнительный анализ, приведенный в табл. 34, показывает, что онкогены – это, по сути, и есть фетальные гены, кодирующие белки, необходимые на эмбриональной стадии онтогенеза. Именно их депрессия на более поздних стадиях онтогенеза приводит к опухолевой трансформации и как результат – к временной дезорганизации функционирования генома. Как следствие – к расстройству механизмов контроля клеточного деления, межклеточной адгезии, эндокринной регуляции, клеточной специализации, мониторинга «чужеродности» со стороны иммунной системы. В итоге, к автономизации клетки в самом широком смысле этого термина.

Иными словами, одной из основных, ключевых стадий канцерогенеза, лежащей в основе всех процессов указанных выше, является **гидролиз (разрушение) олигосахаридных компонентов гликокалекса клеточных мембран**, т.к. они являются основными составляющими всех функциональных мембранных комплексов (тканеспецифичных антигенов, транспортных каналов, рецепторных комплексов и т.д.) и определяют, в конечном итоге, адгезивную способность клеток и контроль клеточного деления при взаимодействии гликокалековых олигосахаридов клеток между собой (табл. 34; рис. 37).

Следует подчеркнуть, что **именно этот механизм лежит в основе утраты иммунологического контроля над онкоклетками!** (Этот вывод подтверждается тем, что, как хорошо известно, при иммунодепрессиях любой этиологии, частота появления злокачественных опухолей резко повышается).

В связи с вышеизложенным, можно ещё раз констатировать, что те современные методы лечения в онкологии (оперативное изъятие онкоклеток (клонов) из организма, либо «убийство» этих быстро делящихся клеток химио- или/и радиотерапией), которые не сопровождаются изменением стратегии функционирования иммунной системы организма с «охранительной» на «идентифицирующую онкоклетки как чужеродные и их элиминирование» являются **непатогенетическими**, т.к. направлены только на удаление или на внешнее инициирование гибели этих быстро делящихся клеток (вместе с ними гибнут и другие быстро делящиеся клетки: кроветворные, лимфоидные и др.). При этом не снимается собственно **«готовность организма к злокачественному перерождению»**, прежде всего – способность иммунной системы «видеть», спонтанно возникающие с высокой частотой в любом здоровом

организме одиночные раковые клетки, идентифицировать их как чужеродные и поэтому элиминировать. Т.е. оставшиеся после операции (химиотерапии, лучевой терапии) онкоклетки всё равно остаются невидимыми для иммунной системы. Не представляется возможным при использовании таких подходов, без перестройки охранительной стратегии иммунной системы, проводить и профилактику первичной и вторичной онкопатологии, как купирование готовности организма к «охране» спонтанно возникающих онкоклеток.

Патогенетическое лечение должно преследовать цель формирования такой стратегии и такого уровня активности защитных систем организма, прежде всего иммунной, которые были бы адекватны уровню неспецифического и специфического адаптивного потенциала конкретного организма в конкретном физиологическом состоянии.

*Онкоклетки надо вновь сделать «видимыми» для всех регуляторных систем организма, в первую очередь для иммунной системы, причем не просто «видимыми», но идентифицирующимися как «чужие». Т.е., патогенетичным является возвращение иммунной системе способность «видеть» такие клетки и воспринимать их как «чужеродные» в процессе постоянного мониторинга всех клеток организма.*

*Соответственно, патогенетический подход должен заключаться в восстановлении «видимости» этих клеток для иммунной системы, т.е. в восстановлении олигосахаридов гликокаликса клеточных мембран, причем в виде измененных тканеспецифичных антигенов.*

Механизм первого позитивного влияния биопрепаратов, содержащих в качестве активного вещества лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды будет заключаться в том, что они, связывая эндотоксины, образующиеся в организме онкобольного при лучевой либо химиотерапии, будут способствовать повышению его качества жизни в процессе лечения.

Механизм второго эффекта использования ягелевых биопрепаратов в онкологии, по-видимому, может заключаться в том, что лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, встраиваясь в структуру гликокаликса клеточных мембран онкоклеток любых типов именно в те места, в которых до злокачественного перерождения находились «нативные» олигосахариды в виде гликопротеидов или гликолипидов, восстанавливают структуру гликокаликса клеточных мембран онкоклеток, гидролизованную при злокачественном перерождении в том числе антигенных комплексов (рис. 37). Это подтверждено в прямом эксперименте методом «Мультипараметрического поверхностно-плазменного резонанса» («Multi-Parametric Surface Plasmon Resonance»).

Это делает онкоклетки любых типов «видимыми» для иммунной системы. Но, так как субструктура лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов отличается от структуры «нативных» олигосахаридов, входящих в гликокаликсовый слой мембран специфичных клеток до их злокачественного перерождения, то образующиеся с помощью лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов тканеспецифичные антигены, воспринимаются иммунной системой как «чужеродные» (рис. 37). Иммунная система с помощью Т-хелперных и Т-киллерных иммунокомпетентных клеток начинает их разрушать, инициируется процесс «саморассасывания» злокачественных опухолей, независимо от их природы, места локализации и того, является ли опухоль основной или метастазом. Процесс протекает по типу «аутоиммунной реакции».

Таким образом, лечение онкопатологии становится «провокационным», направленным на нарушение охранительно-питающей «гармонии» в системе «онкоклетка-иммунная система организма», направленным на, своего рода, «выкидыш» клона онкоклеток, по сути инициирующим процесс саморассасывания опухолевых клеток за счет, во-первых, восстановления способности иммунной системы «видеть» онкоклетки. Во-вторых, идентифицировать их как «чужеродные». Способ позволяет восстанавливать способность иммунокомпетентных систем обнаруживать даже единичные перерожденные клетки, идентифицировать их как чужеродные и элиминировать.

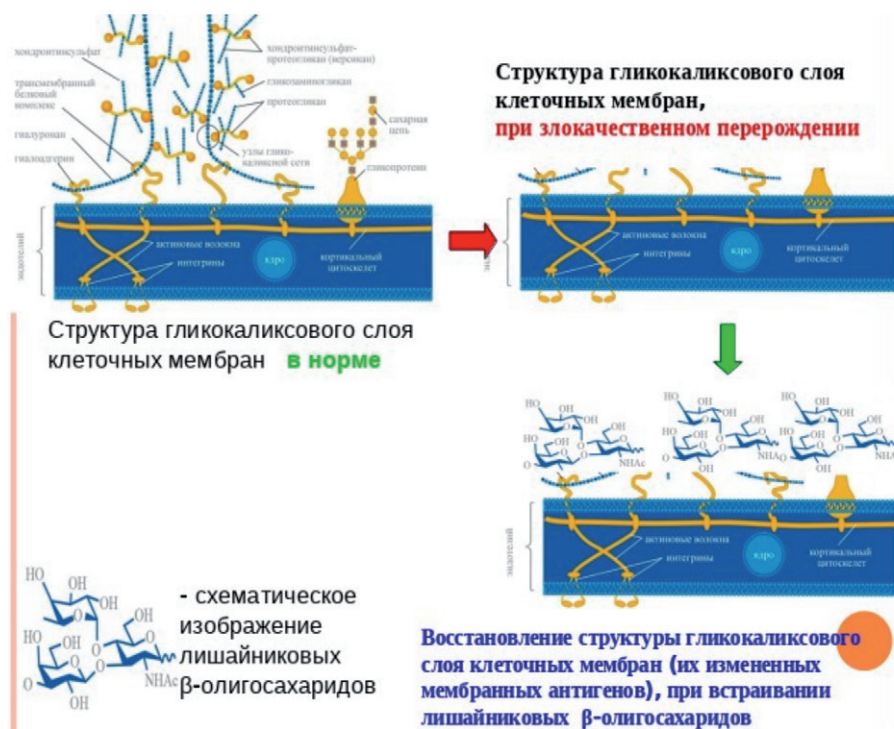


Рис. 37. Схематическое изображение трансформации гликокаликса клеточных мембран при канцерогенезе и при патогенетическом лечении (профилактике) онкопатологии препаратами, содержащими β-олигосахариды близкие (но не идентичные) по структуре β-олигосахаридам гликокаликса клеточных мембран, например, лишайниковые.

Технически, данный способ повышения эффективности патогенетического лечения онкопатологии достигается тем, что вместе с проводимой цитостатической /лучевой химио- или радиотерапией онкобольному назначается в течение 3-4 месяцев, по 3-6 капсул в день биопрепарат, активным веществом которого являются лишайниковые β-олигосахариды, например, «Ягель-Детокс» или «Ягель».

По-видимому, этот же механизм лежит в основе профилактики вторичной (не исключено, и первичной) онкопатологии, благодаря тому, что наличие в крови легко всасывающих-



сы во все внутренние среды организма лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов обеспечивает целенаправленную модификацию гликокаликсового слоя мембран даже тех единичных клеток, которые в результате спонтанных превращений или действия канцерогенов любой природы (физических, химических, психологических стресс-факторов) вступают в процесс канцерогенеза на самых ранних его стадиях.

Так как, лишайники – это симбиоз грибов и водорослей, уместно [будет упомянуть о работах израильского ученого S.Wasser \[2002\] и его китайских последователей, в которых отмечается, что](#) «... в отличие от химиотерапии и лучевой терапии, препараты из грибов не отравляют организм человека: они активируют клетки «естественных киллеров» – лейкоциты группы лимфоцитов – и стимулируют иммунную систему на борьбу с раком». В борьбе с раком могут помочь отдельные виды грибов – полосатые бокальчики. Авторы пришли к выводу, что активные вещества, содержащиеся в грибах «бокальчики полосатые» (*Cyathus striatus*), могут быть полезны при борьбе с одним из самых опасных видов рака – раком поджелудочной железы... Ещё в 2003 г. доктор S.Wasser с коллегами обнаружили в грибе «лин-чжи» элементы, подавляющие активность белка NF-KappaB, ответственного за воспаления, аутоиммунные заболевания, а также развитие некоторых видов рака. Ученые предложили использовать эти вещества при лечении рака груди и простаты». Было показано, что в грибах есть полисахариды - Бета-Дельта-Глюканы, или просто бета-глюканы. Они есть у некоторых лекарственных противоопухолевых грибов. Поэтому этот противоопухолевый механизм у них общий. А именно, Бета-глюканы грибов «будят» противоопухолевый иммунитет, «рас-талкивают его и отправляют на битву с раковой опухолью», активируя три типа клеток противоопухолевой защиты – макрофаги, цитотоксический Т-лимфоциты (ЦТЛ) и натуральные Т-киллерные клетки. Как правило, у онкобольных этих клеток может быть даже в избытке, но они не активны, можно сказать – выключены. Считается, что это связано с защитой опухоли – она выделяет вещества, выключающие эти клетки. Итак, бета-глюканы включают противоопухолевый механизм, активируют макрофаги, ЦТЛ и Т-киллерные клетки и те начинают свою основную работу – уничтожение раковых клеток.

Было показано, что если обычная химиотерапия в среднем эффективна на 40%, то добавление экстрактов грибов увеличивает эффект до 82-95%, формируя следующие эффекты:

1. Останавливается опухолевой рост, активируются иммунные противоопухолевые механизмы организма даже при угнетённом иммунитете и на относительно поздних стадиях канцерогенеза.
2. Блокируется рост кровеносной системы опухоли,
3. Восстанавливается механизм клеточной гибели (апоптоза) раковых клеток,
4. Грибы обладают очищающим действием на ткани организма, выводя недоокисленные продукты - «шлаками». Смягчаются мучительные симптомы отравления при проведении химиотерапии. Быстрее восстанавливается повреждённая печень, слизистая оболочка кишечника, снижается уровень анемии, повышается уровень лейкоцитов и тромбоцитов;
5. Грибы усиливают противоопухолевое действие химиотерапии, и опухолевых клеток гибнет намного больше - до 30%, чем химиотерапия без грибов.



6. При лучевой терапии приём грибов до или во время облучения приводит к более эффективному воздействию на опухоль, так как основа действия облучения заключается в том, что раковая клетка более чувствительна к радиации, чем здоровая, но всего  $\approx$  в 2 раза, а бета-глюканы грибов увеличивают эту разницу до 4 раз. Поэтому раковых клеток гибнет больше, а здоровая ткань не так поражается лучевой болезнью.

7. Лечение при всей своей эффективности безопасно, так как грибы не содержат ядов, токсинов, психотропных, галлюциногенных веществ, а большинство из них – съедобно. Кроме того, грибы могут повышать болевой порог;

Следует также отметить, что грибы – единственные препараты из всей огромной китайской народной медицины, которые были введены в группу противоопухолевых лекарств за последнее время.

*Не правда ли, очень похоже на описанный выше механизм действия лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов?*

Проведена первая серия клинических испытаний (12 пациентов с локализацией первичной опухоли в поджелудочной железе, костных тканях, мозге, печени, желудке и кишечнике), результаты которой подтверждают эффективность способа в инициации процесса саморассасывания злокачественных опухолей, особенно соматических клеток. Начата вторая серия клинических испытаний – пациенты с различными локализациями первичных опухолей, включая челюстно-лицевую сферу, прямую кишку и др. Получен ряд клинических подтверждений патогенетического лечебного действия биопрепаратов, содержащих лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды, в лечении онкологических больных. Например, иницируются процессы саморассасывания неоперабельных опухолей поджелудочной железы, метастаз в костной ткани и т.д.

## **5. Использование ягельных биопрепаратов в пищевой промышленности**

Одной из главных задач биотехнологии является поиск и изучение новых сырьевых источников, способствующих повышению качества и функциональных свойств продуктов питания, в том числе хлеба и хлебобулочных изделий, включая сроки хранения без черствления и плеснения. На сегодняшний день ассортимент хлебобулочных изделий в России не в полной мере соответствует рекомендациям специалистов по здоровому питанию. Поэтому одним из путей решения этой проблемы может быть использование натуральных растительных компонентов, способствующих повышению потребительских свойств и обогащению биологически активными компонентами хлебных изделий, повышению степени их усвояемости, а также совершенствованию биотехнологических процессов производства.

Наряду с широко применяемыми и известными в хлебопечении добавками, высокие потенциальные возможности имеет так называемое «нетрадиционное» растительное сырье, к которому можно отнести некоторые виды лишайников. Среди лишайников, используемых в пищу, наиболее известна *Cetraria islandica* – исландский мох [Arnason, 1981; Иванова, 2005].

*C. islandica* в силу своего уникального биохимического состава и высоких лечебных свойств широко используется в эмпирической медицине в виде настоев и отваров. Ее биохимический состав и свойства могут существенно отличаться в зависимости от местообитания

и условий произрастания. Ресурсная характеристика и особенности состава лишайников рода *Cetraria* и других родов, произрастающих в регионах РФ, в научной литературе ограничены, а сведений об их применении в биотехнологии хлебопечения явно недостаточно [Горшкова, 1997; Оводов, 1997; Сафонова, 1999; Вершинина, Кравченко, 2006, 2007, 2009; Иванова и др., 2008; Кравченко, 2009, 2009а, 2010]. В этой связи изучение сырьевых ресурсов и особенностей биохимического состава лишайников, включая рода *Cladonia*, с целью получения новых научных сведений и возможностей применения в хлебопечении является актуальным.

Ранее были получены результаты, свидетельствующие о том, что (1) лишайниковые β-олигосахариды, образующиеся, например, при механохимической активации лишайниковых β-полисахаридов способствуют повышению биоусвояемости биоактивных компонентов, содержащихся в продуктах питания, включая микроэлементно-витаминные комплексы, и (2) содержащиеся в слоевищах лишайников в «иммобилизованном» виде и деиммобилизующиеся при механоактивации лишайниковые кислоты обладают антибактериальными свойствами. Это позволяет предположить, что добавление в муку при хлебопечении механоактивированные слоевища лишайников будут способствовать улучшению питательных свойств хлебобулочных изделий, повышению сроков их хранения без плеснения и черствления. Согласно системе «Кодекс олимпентикус», ягель можно отнести Е-200-Е-182 – консерванты [Поздняковский, 1996]. Изделия с ягелем увеличивают длительность хранения, не оказывая какого-либо отрицательного влияния на органолептические свойства теста.

В связи с вышеизложенным разработан способ повышения качества и сохранения свежести хлебобулочных изделий путем добавления в их состав порошка механоактивированных слоевищ лишайников рода *Cladonia* [Аньшакова и др., 2012б]. Результатом является обогащение продуктов питания эссенциальными микроэлементами, физиологически активными веществами, повышение степени их усвояемости и увеличение сроков хранения в 2-5 раз (табл. 35). Исследования показали, что интервал оптимальных концентраций пищевой добавки из механохимически активированных слоевищ лишайников для обогащения муки составляет 0,2-0,5%, что в 5-6 раз меньше, чем концентрация слоевищ лишайников грубого помола.

Увеличение дозировки пищевой добавки в булках и в хлебе приводит к снижению органолептических и физико-химических показателей изделий, проявлению специфического вкуса, увеличению кислотности и снижению пористости.

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что внесение в качестве пищевой добавки механохимически активированные слоевища лишайников в указанных концентрациях в изделия из пшеничной и смешанной муки приводит к увеличению сырой клейковины, при этом одновременно улучшаются упругие свойства клейковины. Расплаываемость шарика с добавкой снижается, что свидетельствует об увеличении силы муки. Укрепление клейковины, вероятно, объясняется влиянием составных компонентов лишайников (органические кислоты, олиго- и полисахариды) на клейковинные белки и возможное взаимодействие между ними, т.к. резко возрастает биодоступность ФАВ. Хлебобулочные изделия приобретают улучшенные потребительские свойства, значительно увеличивается срок хранения (табл. 35), технология выпечки при этом не изменяется.

Механохимическая активация сухих слоевищ лишайников позволяет значительно снизить дозировку ягелевого сырья как пищевой добавки в хлебобулочные изделия с 1-3% до 0,2-0,5%, при этом пищевая ценность, качество хлебобулочных изделий значительно возрастают. Таким образом, кроме того, что появляется возможность выпускать продукты с повышенным сроком годности, решается также задача выпуска продуктов питания оздоровительной (экозащитной) направленности. Эти продукты полезны при проведении медико-профилактических и реабилитационных мероприятий, в спортивной медицине, для работников вредных производств, жителей территорий с высокой степенью промышленной и транспортной загазованности.

Таблица 35. Показатели качества пшеничного хлеба, обогащенного ягелем

Показатель качества	Контрольный образец	1-3% слоевищ лишайников грубоизмельченных	0,2% механоактивированных слоевищ лишайников	0,5%ягеля механоактивированных слоевищ лишайников
Поверхность	Гладкая, без крупных трещин и подрывов	Гладкая, без крупных трещин и подрывов	Гладкая, без крупных трещин и подрывов	Слегка шероховатая, без крупных трещин и подрывов
Цвет	Светло-желтый	Светло-желтый	Светло-желтый	Светло-коричневый
Состояние мякиша	Пропеченный, не влажный на ощупь, эластичный без комочков, пустот и уплотнений	Слегка влажный на ощупь, без комочков, средняя эластичность	Пропеченный, не влажный на ощупь, эластичный без комочков, пустот и уплотнений	Пропеченный, не влажный на ощупь, эластичный без комочков, пустот и уплотнений
Вкус	Свойственный данному виду изделия, без постороннего привкуса	Свойственный данному виду изделия, со своеобразным привкусом	Свойственный данному виду изделия, без постороннего привкуса	Свойственный данному виду изделия, с едва заметным привкусом
Запах	Свойственный данному виду изделия, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделия, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделия, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделия, без постороннего запаха
Влажность мякиша, %	43	47	46	48
Кислотность, град	2,9	3,1	2,9	3,1
Пористость, %	73,0	72,0	74,0	70,0
Содержание сырой клейковины, %	27	29	30	32
Расплываемость шарика, мм	27,4	26	24,5	25,3
Срок хранения, сут.	3	4	5	6

Благодаря деиммобилизации при механоактивации лишайниковых кислот антибактериального действия, разработан также способ увеличения сроков хранения соков, жидких мо-

лочных продуктов и других жидких пищевых продуктов [Кершенгольц и др., 2011а; Анышакова и др., 2011б].

Один из важнейших факторов, определяющих здоровье населения - правильное питание, обеспечивающее нормальный рост и развитие человека, способствующее профилактике заболеваний, продлению жизни, повышению работоспособности и создающее условия для адекватной адаптации людей к изменениям окружающей среды (химическим, физическим, психологическим). Особенностью современного этапа развития пищевой промышленности является разработка качественно новых функциональных продуктов питания, способствующих сохранению и улучшению здоровья за счет регулирующего и нормализующего воздействия на организм человека с учетом его физиологического состояния и возраста.

Повышение качества и сохранности жидких пищевых продуктов достигается путем добавления в их состав порошка механохимически активированных слоевищ лишайников рода *Cladonia* – пищевая добавка.

Известно, что основная причина скисания пищевых продуктов – свободнорадикальное и перекисное окисление за счёт активных форм кислорода, выделяющихся при жизнедеятельности микроорганизмов, приводящее, в том числе, к образованию высоких концентраций органических кислот – закислению пищевого продукта. С целью предотвращения скисания, например, при изготовлении соков, как фруктовых, так и овощных в них разрешено добавлять пищевую поваренную соль, уксус, сахара, специи или другие вещества, способствующие не только сохранности, но и улучшению их вкусовых и органолептических показателей.

Действие ягелевых биопрепаратов, на примере механохимически активированных слоевищ лишайников (пищевой добавки), в качестве биоконсерванта жидкой пищевой продукции, препятствующего жизнедеятельности микроорганизмов и закислению продукции - доказано в экспериментах с четырьмя видами соков прямого отжима и с цельным молоком (табл. 36).

Таблица 36. Действие ягелевой пищевой добавки на закисляемость соков и молока при хранении их при комнатной температуре в течение 7-10 дней для соков и 3-5 дней - для молока

рН	Концентрация пищевой добавки					
	0 мг/л	1 мг/л	5 мг/л	25 мг/л	50 мг/л	100 мг/л
Сок яблочный прямого отжима						
рН <sub>исх</sub>	3,74	3,74	3,74	3,74	3,74	3,74
рН <sub>конечн</sub>	3,36	3,49	3,56	3,56	3,80	3,73
Сок черничный прямого отжима						
рН <sub>исх</sub>	2,79	-	-	-	2,79	2,79
рН <sub>конечн</sub>	2,61	-	-	-	2,84	2,85
Сок клюквенный прямого отжима						
рН <sub>исх</sub>	2,50	-	-	-	2,50	2,50
рН <sub>конечн</sub>	2,44	-	-	-	2,52	2,50
Сок брусничный прямого отжима						
рН <sub>исх</sub>	2,78	-	-	-	2,78	2,78
рН <sub>конечн</sub>	2,68	-	-	-	2,78	2,76
Молоко						

pH <sub>исх</sub>	6,57	-	-	-	6,58	6,58
pH <sub>конечи</sub>	5,81	-	-	-	6,52	6,51

Исследовали влияние введения антимикробной добавки в жидкие пищевые продукты в концентрациях 1÷100 мг/л на их закисляемость в процессе хранения, стандартным методом измерения pH (ГОСТ 26188). Показано полное отсутствие закисления (снижения pH) соков прямого отжима и молока при концентрации пищевой добавки свыше 50 мг/л при хранении соков при комнатной температуре в течение 7-8 дней, а молока в течение 3-5 дней. В контроле кислотность исследуемых продуктов питания (в результате образования органических кислот – продуктов окисления и брожения) за тот же период хранения повысилась в 1,5÷2,5 раза. Эффект достигнут благодаря тому, что физиологически активные вещества, входящие в состав биопрепарата, способны проявлять мягкий эффект антибактериальной, антиплесневой, противогрибковой защиты и предотвращать реакции свободнорадикального и перекисного окисления.

Таким образом, экологически чистый и безотходный способ обработки сухих слоевищ лишайников – механохимическая активация, позволяет получать низкодозовую (50-100 мг/л) природную (экологически чистую) пищевую добавку в жидкие пищевые продукты, повышая при этом пищевую ценность, качество продуктов питания и сроки их хранения.

Перспективной является также разработка «питьевая вода с добавкой БАД «Ягель» (жидкофазный), обладающая детоксикационным действием в отношении широкого спектра экзо- и эндотоксинов [Кершенгольц и др., 2016a].

## Заключение

В монографии проанализированы материалы по биохимическому составу лишайников и показано, что в неизменном виде они не представляют большого интереса для биотехнологического передела, так как содержащиеся в них биоактивных веществ, включая лишайниковые кислоты, находятся в иммобилизованном виде в ячейках очень прочных β-полисахаридов и обладают очень низкой биоусвояемостью, за исключением особого отдела желудка северных оленей – рубца. Вместе с тем, при биотехнологическом переделе с использованием современных физико-химических процессов, приводящих к разрыву значительной части β-гликозидных связей (обработка слоевищ лишайников диоксидом углерода в состоянии сверхкритического флюида; механохимическая активация), кроме того, что происходит деиммобилизация биоактивных веществ, содержащихся в слоевищах (прежде всего лишайниковых кислот антибактериального действия, удастся получить ценнейший продукт – лишайниковые β-олигосахариды. Последние, не гидролизуясь далее в желудочно-кишечном тракте, в крови и легко проникая, в силу свои малых размеров и бифильности, через клеточно-мембранные комплексы, сочетают свойства:

- активных переносчиков через кишечную стенку, клеточно-мембранные комплексы различного рода фармаконов (микроэлементы, витамины, лишайниковые кислоты, биоактивные вещества антибактериального, иммуномодуляторного, актопротекторного, адаптогенного и др. действия), способствуя тем самым повышению их биоусвояемости в несколько раз;

- во внутренних средах организма, связывая различного рода экзо- и эндотоксины, выводят их из организма, осуществляя детоксикацию внутренних его сред: крови, лимфы, межклеточных жидкостей;

- являясь относительными аналогами олигосахаридных комплексов гликокаликса клеточных мембран, способны восстанавливать его структуру, например  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, приблизительно в 1,8 раза повышается уровень секреции инсулина. Анализ ряда механизмов онкопатогенеза позволяет предположить, что лишайниковые  $\beta$ -олигосахариды могут, восстанавливая олигосахаридную структуру тканеспецифичных антигенов, деградирующих на поверхности мембран онкоклеток и делая их «обнаруживаемыми» для иммунокомпетентных комплексов, инициировать процессы саморассасывания клеток основных злокачественных опухолей и метастаз.

Деиммобилизация лишайниковых кислот антибактериального действия в результате биотехнологического передела приводит к тому, что биопрепараты лишайниковой линейки обладают высокой антибактериальной активностью даже по отношению к лекарственно устойчивым формам, например микобактерий туберкулеза. Причем на сами эти природные антибактериальные комплексы, в силу особенностей их изоструктурного состава, не развивается реакция устойчивости штаммов бактериальных клеток;

В силу выше отмеченного весьма перспективным является продолжение биотехнологических работ с лишайниками, особенно северными, направленными на создание на основе лишайниковых  $\beta$ -олигосахаридов комплексных биопрепаратов, в которых фармаконами выступали бы также природные биоактивные вещества (из северных лекарственных и пищевых растений и животных тканей) самого разнообразного спектра действия. Причем такое комплексообразование привело бы к резкому повышению уровня биоусвояемости и, биоактивности последних, при снижении в несколько раз вводимой дозы. Это является важным во многих отраслях профилактической, спортивной и лечебной медицины, включая эндокринологию, онкологию, наркологию, гематологию, геронтологию и многие другие, а также в целом ряде отраслей ветеринарии и пищевой промышленности.

## Литература

1. Агаджанян Н.А., Баевский Р.М., Берсенева А.П. Проблемы адаптации и учение о здоровье // учеб. пособие. - Москва, 2006. 284 с.
2. Алексеев В.Г. Устойчивость растений в условиях Севера: эколого- биохимические аспекты. Новосибирск: ВО Наука, 1994. – С. 152.
3. Алтунина Л.К., Ломовский О.И., Тихонова Л.Д., Ярмухаметова Е.Г. Изучение влияния активации на растворимость целлюлозосодержащих образцов. Периодический сборник научных трудов "Обработка дисперсных материалов и сред" Вотум, Одесса, 1999, в.9, стр.156-157.
4. Аметов А.С. Современные методы терапии сахарного диабета 2-го типа // Регулярные выпуски «РМЖ». - №4. – 2008. – С.170-177.
5. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Влияние механоактивации биоконплексов на основе слоевищ лишайников на экстрагируемость эссенциальных микроэлементов в модельных средах // Химия в интересах устойчивого развития. – 2011. – № 4. – С. 433–436.
6. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Интенсификация процессов получения природных веществ антибиотического действия из лишайникового сырья с использованием механохимической технологии // Химия растительного сырья. – 2011а. – №2. – С. 132–136.
7. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Жуков М.А. Способ увеличения сроков хранения соков, цельного молока, жидких молочных и других пищевых продуктов с помощью механохимического биопрепарата НАНОЯГЕЛЬ-М // Патент РФ №2437582, приоритет от 16.04.2010. Зарегистрировано в госреестре изобретений РФ 27.12.2011
8. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. "Свидетельство о государственной регистрации в странах ЕВРАЗЭС БАД к пище "ЯГЕЛЬ ДЕТОКС" (порошок) № RU.77.99.11.003. E.014127.09.12 от 27.09.2012
9. Аньшакова В.В., Шарина А.С., Каратаева Е.В., Кершенгольц Б.М. Способ получения сорбционного материала из слоевищ лишайников // Патент РФ № 2464997 о 27.10.2012а (приоритет от 20.07.2011).
10. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Способ получения высокоактивного твердофазного биопрепарата антибиотического действия ЯГЕЛЬ из слоевищ лишайников // Патент RU № 2467063 C1 от 20.11.20126 (приоритет 05.05.2011)
11. Аньшакова В.В. Повышение активности действующего вещества лишайниковыми β- олигосахаридами // Биофармацевтический журнал. – 2012. – Т. 4. № 4. – С. 42–46.
12. Аньшакова, В.В. Оценка адаптогенной эффективности механохимического биоконплекса на основе растительных субстанций // Нанотехнологии и охрана здоровья. – 2012а. - № 1 (Т.4). – С.16-22.
13. Аньшакова В.В., Каратаева Е.В., Кершенгольц Б.М. Способ повышения качества хлебобулочных изделий и сохранения их свежести с помощью твердофазной пищевой добавки «ЯГЕЛЬ-Т» // Патент RU № 2466542 C1 от 20.11.20126 (приоритет от 15.04.2011)
14. Аньшакова В.В. Биотехнологическая механохимическая переработка лишайников рода *Cladonia* // Рос. акад. естествознания. - Москва: Издательский дом Академии естествознания, 2013. - 115 с.
15. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Биологически активная добавка актопротекторного, адаптогенного действия из растительного сырья и способ ее получения // Патент РФ №2477143 от 10.03.2013а (приоритет от 26.10.2011).
16. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Адаптогенный механохимический биоконплекс на основе растительного сырья // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013б. - № 10. - С. 29-33.

17. Аньшакова В.В., Степанова А.В., Смагулова А.Ш. Химический анализ лишайника как потенциального биосырья // Современные проблемы науки и образования. – 2014. - №6. - С.1356.
18. Аньшакова В.В., Смагулова А.Ш. Биологическая безопасность лишайников, используемых в качестве сырья для биотехнологического передела // Биозащита и биобезопасность. - №4. – 2014. - С. 10-14.
19. Аньшакова В.В., Сыдыкова Л.А., Степанова А.В., Смагулова А.Ш., Васильев П.П., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В.БАД «Ягель-Детокс» в комплексной терапии сахарного диабета 2-го типа // В сборнике: Биотехнология. Взгляд в будущее Материалы III Международной научной Интернет-конференции: в 2 томах. Составитель Д.Н. Синяев. 2014а. С. 7-8.
20. Аньшакова В.В., Степанова А.В., Васильев П.П. и др. Актопротекторная активность комплексного биопрепарата на основе таллома лишайников и родиолы розовой // Экология человека. – 2015. - № 5. - С. 46-51.
21. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Теоретические основы донозологической диагностики // Донозоология. 2008. № 2. С. 2-15
22. Барышников Ю.А. Взаимодействие опухоли и иммунной системы // Практическая онкология. – 2003. – Т.4, № 3. – С. 127–130
23. Бережная, Н. М. Иммунология злокачественного роста / Н. М. Бережная, В. Ф. Чехун. Киев: Наукова думка, 2005. - 791 с.
24. Болдырев В.В. Использование механохимии в создании «сухих» технологических процессов // Соровский образовательный журнал. – 1997 - №12. – С.48-52
25. Брехман И.И., Гриневич М.А. Биологические ресурсы восточной и юго-восточной Азии и их использование.- Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1978. – 143 С.
26. Брехман И.И., Нестеренко И.Ф. Природные комплексы биологически активных веществ: сахар и здоровье человека. – Л., Наука. – 1988. – С. 93.
27. Брехман И. И. Валеология — наука о здоровье. —2-е изд., доп., перераб. — М.: Физкультура и спорт, 1990. — 186 с.
28. Бязров Л.Г. Фитомасса эпифитных лишайников в некоторых типах лесных биогеоценозов подзоны широколиственно-еловых лесов // Растительные ресурсы. – 1969. – Т.5, вып.2. – С.276-279
29. Бязров Л.Г., Медведев Л.Н., Чернова Н.М. Роль эпифитных лишайников в лесных биогеоценозах // Биогеоценологические исследования в широколиственно-еловых лесах. М., 1971. С.252-270
30. Бязров Л.Г. Беспозвоночные животные в эпифитных лишайниках разных жизненных форм в лесах Подмосковья // Биология почв Северной Европы. М., 1988. С.149-154
31. Варфоломеева Н.А., Бушкова Э.А., Сыдыкова Л.А., Кузьмина А.А., Малогулова И.Ш., Абрамова Я.И. Приверженность фармакотерапии при сахарном диабете второго типа в РС (Я) // [Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова](#). 2013. Т. 10. № 3. С. 122-126.
32. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. О применении сырья из лишайников в пищевом производстве (на примере Цетрарии исландской). II Пищевые технологии, качество и безопасность продуктов питания: Мат-лы докладов регион, науч.-практ. конф. - Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2006. - С. 71-75.
33. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. Применение добавки из *Cetraria islandica* и *Cladonia* в хлебопечении // Пищевые технологии, качество и безопасность продуктов питания: мат-лы докладов Всерос. молодежной науч.-практ. конф. -Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2007. - С. 83-85.
34. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. Влияние нетрадиционного растительного сырья на качество хлеба // Хлебопродукты. - 2009. - № 8. - С. 44-45.
35. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. Способ производства хлеба профилактической направленности, композиция для производства хлеба профилактической направленности из пшеничной муки и композиция для производства хлеба профилактической



- направленности из смеси ржаной и пшеничной муки // Патент РФ № 2362304 А2102/36, А21D8/02 приоритетом от 26.12.07 г; Бюл. № 21. Оpubл. 27.07.09а г.
36. Гантимур Д., Сырчина А.И., Семенов А.А. Производные Келлактона из *Phlojodicarpus Sibiricus* // Химический состав лекарственных растений Сибири. Тез.докл. ВсеросС. конференции. Новосибирск. – 1986. С. 108–109.
  37. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. – М.: «ИМЕДИС», 1998. – 656 с.
  38. Говоров П.М., Торговкина Е.Е. Сезонная динамика содержания аскорбиновой кислоты в кормовых растениях Субарктики // Физиолого-биохимические исследования растений Якутии. – Якутск: ЯФ СО АН СССР, 1974. – С. 106–113.
  39. Голдовский А.М. Закон множественности представителей отдельных групп веществ в растительном организме // Успехи современной биологии. – 1941. – Т. 14, вып.1. – С. 140–146.
  40. Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований // Томск: Издательство Томского университета, 2000. 130 с.
  41. Гольдерева А.С., Кривошапкина З.Н., Миронова Г.Е., Яковлева А.И., Олесова Л.Д., Кершенгольц Б.М. Влияние БАД «Ягель» на биохимические показатели крови // Якутский медицинский журнал. – 2010. – № 4. С. 73–76.
  42. Горшкова, Р. П., Назаренко Е.Л., Зубков В.А., Степаненко Л.С., Исаков В.В. Структурное исследование полисахаридов лишайников *Cetraria cuculata* и *C. islandica* // Биоорганическая химия. 1997. - Т23. №2.-С. 134-138.
  43. Гранов, А. М., Молчанов О.Е. Канцерогенез и иммунобиология опухоли. Фундаментальные и клинические аспекты // Вопросы онкологии. 2008. - Т. 54, № 4. - С. 401-409.
  44. Гриневич М.А., Брехман И.И., Ким Бен Кю Исследование сложных рецептов восточной медицины и их компонентов с помощью ЭВМ. Сообщ. 5: Наиболее часто используемые лекарственные растения традиционной медицины Японии и Кореи // Растительные ресурсы. – Т.13, вып.2. – 1977. – С. 261–267.
  45. Демидова И.Ю., Глинкина И.В., Перфилова А.Н. Сахарный диабет типа 2 (патогенез и лечение). // Consilium Medicum.-2000.- Т.2, № 5. С.25-32.
  46. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Толстиков Г.А., Поляков Н.Э., Медведева Е.Н., Неверова Н.А., Бабкин В.А. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ // Известия РАН, сер. Химическая, 2008, № 6 – С. 1274– 1282.
  47. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Долгих М.П., Толстиков Г.А. Комплексообразование фармаконов с глицирризиновой кислотой – путь создания лекарственных препаратов повышенной эффективности // Химия в интересах устойчивого развития. 2010. – Т. 18, № 4 – С. 517–525.
  48. Егоров А.Д. Витамин С и каротин в растительности Якутии. – М.: Изд-во АН СССР, 1954. – С. 248.
  49. Егоров А.Д. Результаты биохимического и биогеохимического изучения растительного покрова Якутии // Основные итоги биохимических исследований в Якутской АССР. - Якутск, 1969. – С. 33–40.
  50. Закева И.Р., Бережной А.Е., Гнучев И.В. и др. Ингибиторные рецепторы лимфоцитов и их роль в противоопухолевом иммунитете // Вопросы онкологии. 2007. - Т. 53, № 2. - С. 140-149.
  51. Залепугин Д.Ю., Тилькунова Н.А., Чернышова И.В., Поляков В.С. Развитие технологий, основанных на использовании сверхкритических флюидов // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика”, том 1, No 1, 2006. С.27-51
  52. Зибзеев Е.Г., Самбыла Ч.Н. Ценолитическая характеристика и продуктивность наземной фитомассы тундровых сообществ хребта Академика Обручева // Растительные ресурсы, 2007. Вып 1. С. 18-29.

53. Иванов А.А., Юдина Н.В., Ломовский О.И. Влияние механо-химической активации на состав и свойства гуминовых кислот торфов // Известия Томского политехнического университета. – 2006. – Т. 309, № 5. – С. 73–77.
54. Иванова, Г. В. *Cetraria islandica* (L.) Ach. в производстве сладких блюд для диетического и лечебно-профилактического питания // Ботанические исследования в Сибири. Красноярск. - 2005. - вып. 13 - С. 72-77.
55. Иванова, Л. А., Войно Л.И., Иванова И.С. Пищевая биотехнология. 2. Переработка растительного сырья /под ред. И. М. Грачевой/. -М.: - 2008. -472 с.
56. Иващенко Г.Л., Базарнова Н.Г., Шахтштейн Т.П. и др. Исследование физико-химических свойств биополимеров: хитина и хитозана в условиях механохимической активации // Тезисы докладов Всероссийского семинара «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул, 2002. – С. 113.
57. Ихсанова М.А., Серых Е.А., Березовская Т.П. Кумарины *Artemisia Vulgaris* // Химический состав лекарственных растений Сибири. Тез. докл. Всерос. конференции. Новосибирск. – 1986. – С. 110.
58. Казначеев В.П., Склянова Н.А., Иванов В.В., Громова З.И. Фундаментальные основы здоровья // В сборнике: Педагогические и медицинские проблемы валеологии материалы Международной конференции. Редактор В. А. Самойлов. 1999. С.166-169.
59. Казначеев В.П. Адаптивные реакции в Заполярье – синдром полярного напряжения // В книге: Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов материалы 5-й Всероссийской научно-практической конференции. 2011. С. 82-83.
60. Карев Г. И., Кочевых В.П. О содержании аскорбиновой кислоты в кормовых лишайниках тундры // Ботанический журнал. – М.-Л.: Изд-во АН СССР. – 1962. – Т. 47, № 11. – С. 1686–1688.
61. Кершенгольц Б.М., Ахременко А.К., Рогожин В.В. Способ получения экстракта из пантов северного оленя // А.С. № 1822785 от 12.10.92 (Приоритет от 03.08.1990).
62. Кершенгольц Б.М., Журавская А.Н., Иванов Б.И. и др. Композиция ингредиентов для лекарственного средства // Патент РФ № 2112524 от 10.06.98 (приоритет от 06.03.96)
63. Кершенгольц Б.М. Структурное разнообразие биологически активных веществ – биохимическая основа толерантности организмов в стрессовых условиях среды // Терпимость: идеи и традиции: матер. Междунар. научной конф. – Якутск: Изд-во ЯНЦ СО РАН, 1995. – С. 179–184.
64. Кершенгольц Б.М. Неспецифические биохимические механизмы адаптации организмов к экстремальным условиям среды // Наука и образование. – 1996. – № 3. – С. 130–138.
65. Кершенгольц Б.М. Системы защиты клеточного генома, их роль в сохранении жизнедеятельности организма человека // Наука и техника в Якутии, 2002. №1. С.11-16
66. Кершенгольц Б.М., Петрова П.Г., Савинов Д.Д. и др. Экология и здоровье человека: физиологические и биохимические реакции организма на экотоксиканты и пути их оптимизации // Материалы X Российско-Японского международного медицинского симпозиума «Якутия-2003», Якутск, 22–25 авг. 2003. – Якутск: Сахаполиграфиздат, 2003. – С. 29–33.
67. Кершенгольц Б.М., Чернобровкина Т.В., Колосова О.Н., Кершенгольц Е.Б. Алкоголь, экология и здоровье человека: физиологические и биохимические реакции организма на экотоксиканты, пути их оптимизации // Наркология, №7, 2004. С.45-92.
68. Кершенгольц Б.М., Ремизайло П.А., Шеин А.А. и др. Природные биологически активные вещества из тканей растений и животных Якутии: особенности состава, новые технологии, достижения и перспективы использования в медицине // Дальневосточный медицинский журнал. – 2004а. – Приложение № 1. – С. 25–29.
69. Кершенгольц Б.М., Шеин А.А., Кершенгольц Е.Б. Комплекс биологически активных веществ, выделенных из лишайников методом CO<sub>2</sub> флюидной сверхкритической экстракции, оценка его влияния на состояние крыс при их алкоголизации // Наука и образование, №2, 2005, . С.74-80.

70. Кершенгольц Б.М., Жуков М.А. Западные сенсации и российские приоритеты // НЭП–XXI век. Наука. Экономика. Промышленность.– 2006.– № 2.– С.78–80
71. Кершенгольц Б.М., Ремизайло П.А. Способ изготовления экстракта для биологически активной добавки // Патент РФ №2310344 от 20.11.2007 (приоритет от 09.12.2005)
72. Кершенгольц Б.М., Журавская А.Н., Ремизайло П.А., Филиппова Г.В., Шеин А.А., Шашурин М.М., Кершенгольц Е.Б. // Патент РФ №2318407 от 10.03.2008 (приоритет от 10.01.2006)
73. Кершенгольц Б.М., Чернобровкина Т.В., Шеин А.А., Хлебный Е.С., Аньшакова В.В. Нелинейная динамика (синергетика) в химических, биологических и биотехнологических системах (издание второе, дополненное) // Учебн. пособие. – Изд-во ЯГУ, 2009 г., издание второе, 284 с. (17,8 п.л.)
74. Кершенгольц Б.М., Филиппова Г.В., Шашурин М.М., Журавская А.Н., Ломовский О.И., Павлов Н.Г. Шеин А.А. Способ получения препарата ЯГЕЛЬ-М, обладающего противотуберкулезным действием // Патент РФ на изобретение №2385159, зарегистрировано в госреестре изобретений 27 марта 2010 г. (приоритет от 05.09.2007).
75. Кершенгольц Б.М., Шашурин М.М., Хлебный Е.С., Шеин А.А., Журавская А.Н., Ломовский О.И., Жуков М.А. Способ получения дигидрокверцетина из отходов лесозаготовки и лесопереработки лиственницы // Патент РФ на изобретение №2386624, приоритет от 19.11.2007). Зарегистрировано в Госреестре 20.04.2010а
76. Кершенгольц Б.М., Журавская А.Н., Шашурин М.М., Хлебный Е.С., Шеин А.А., Филиппова Г.В. Свидетельство о государственной регистрации, санитарно-эпидемиологическое заключение и ТУ на БАД «Ягель» / Свидетельство ЕВРАЗЭС о гос. регистрации Роспотребнадзора РФ № RU.77.99.11.003.E.051236.11.11 от 17.11.2011.
77. Кершенгольц Б.М., Аньшакова В.В., Шеин А.А., Хлебный Е.С., Шашурин М.М., Жуков М.А. Способ увеличения сроков хранения соков // Патент РФ №2436419, приоритет от 18.07.2008. Зарегистрировано в госреестре изобретений РФ 20.12.2011а
78. Кершенгольц Б.М., Аньшакова В.В., Шеин А.А. Лишайниковые аминок-β-олигосахариды – структура, свойства, практическое применение, сравнение с хитозаном // Материалы 11-й Международной конференции «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» (РосХит-2012), Мурманск, 25-30.06.2012. – С.339-345.
79. Кершенгольц Б.М., Сыдыкова Л.А., Шаройко В.В. Лишайниковые β-олигосахариды в коррекции метаболических нарушений при сахарном диабете 2-го типа // Наука и образование. 2014. № 2 (74). С. 81-86.
80. Кершенгольц Б.М., Колосова О.Н. Старение – процесс уменьшения адаптивного потенциала организма как саморегулируемой системы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - №9 (часть 1). – 2016. – С.46-53.
81. Кершенгольц Б.М., Кунгурцев С.В., Шашурин М.М. Положительное решение от 03.08.2016а по заявке на патент № 2015121345 (приоритет от 05.06.2015) «Способ профилактики и купирования похмелья с помощью питьевой воды»
82. Киселева Е.П. Механизмы инволюции тимуса при опухолевом росте // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 124. – С. 589–601
83. Классификация и критерии диагностики внутренних болезней. Под ред. А.Д.Куимова, Новосибирск, 1995 - 107 - 114 с.
84. Ковалева Н.М., Иванова Г.А. Особенности распределения биомассы эпифитных лишайников на сосне обыкновенной (Нижнее Приангарье) // Сибирский экологический журнал. - №3. – 2012. – С.429-433
85. Коллагеновые болезни и ревматизм /Под ред. академика АМН СССР Е.М. Тареева. – Труды I МОЛГМИ им. И.М. Сеченова. – Том XIII. – М., 1962. – 289 с.
86. Королёв К.Г., Ломовский О.И., Рожанская О.А., Васильев В.Г. Механохимическое получение водорастворимых форм тритерпеновых кислот // Химия природных соединений. – № 4. – 2003. – С. 295–300.
87. Кравченко О.Ю. Влияние добавок лишайников *Cetraria islandica* и *C.laevigata* на реологические свойства теста // Перспективы развития технологии, экологии и автомати-

- зации химических и пищевых производств: мат-лы докладов науч.-практ. конф. - Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2009. - С. 115-116.
88. Кравченко О.Ю. Влияние лишайников *Cetraria islandica* и *C.laevigata* на силу муки // Пищевые продукты и здоровье человека: тезисы докладов II Всерос. конф. студентов и аспирантов 4.1. - Кемерово: Изд-во КемТИПП, 2009а. - С. 30-31.
  89. Кравченко О.Ю. Перспективы применения лишайников рода *Cetraria* в биотехнологии хлебобулочных изделий // Автореферат диссертации по теме "Перспективы применения лишайников рода *Cetraria* в биотехнологии хлебобулочных изделий". - Улан-Удэ – 2010. – 24 с.
  90. Кузьмина С.С. Биологически активные вещества-антиоксиданты растений Якутии: особенности накопления и влияние на стрессоустойчивость животных и человека // Автореф. на соискание уч.степени канд.биол.наук. М., 2002. – 27 с.
  91. Курсанов А.Л., Дьячков Н.Н. Углеводный состав лишайников Кольского полуострова в связи с вопросом получения глюкозы // Докл. АН СССР. – 1945. – Т. 62, № 2. – С. 401–403.
  92. Литвинов И.В., Иванов А.И., Плешаков В.П. Патент RU 2232581 «Способ оптимизации процедуры общей управляемой гипертермии с температурой разогрева 43-44°С путем изменения протокола химиотерапии», приоритет от 05.02.2002, опубликовано 20.07.2004
  93. Ломовский О.И. Химия в интересах устойчивого развития, 1994, Т.2, С. 473–485.
  94. Ломовский О.И., Мамылов С. Г., Солошенко В.А. Период.сборник научн.трудов «Вибротехнология-98», Одесса, Украина, 1998, Вып.8, ч.2. С. 6–8.
  95. Ломовский О.И. Химическая и химиофармацевтическая промышленность в современных условиях. Тезисы докладов, Новосибирск, 1999, С. 60–61.
  96. Ломовский О.И., Панкрушина Н.А., Солошенко В.А. Механохимические методы в переработке растительного сырья. Материалы Международной конференции "Александр Гумбольдт и российская география", 1999, 23-25 мая, Барнаул, стр. 154-159
  97. Ломовский О.И., Белых В.Д. Обработка дисперсных материалов и сред, Период.сборник научн.трудов, Вып.10, Одесса, Украина, 2000, С. 71–75.
  98. Ломовский О.И. Прикладная механохимия: фармацевтика и медицинская промышленность/ Межд. периодический сб. научн. трудов, Обработка дисперсных материалов и сред, Вып.11, Одесса, 2001, С. 81–100.
  99. Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. Биологическая активность усниновой кислоты и её производных. Часть1. Активность в отношении одноклеточных организмов // Биоорганическая химия. – 2016. – Т.42, №2. – С.129-149.
  100. Ляхов Н.З. Механохимический синтез органических соединений и композитов с их участием / Н.З. Ляхов, Т.Ф. Григорьева, А.П. Барина и др.// Успехи химии. – 2010. – № 3. – С. 218–233.
  101. Макаров А.А. Биологически активные вещества в растениях Якутии. Якутск: Якутский научный центр СО АН СССР, 1989. – С. 156.;
  102. Мартин Ю.Л. Лихениндикация состояния окружающей среды // Взаимодействие лесных экосистем и атмосферных загрязнителей. Таллинн, 1982. Ч.1. С.27-47
  103. Мельникова Т.И. Растительные олигосахариды – перспективный класс пребиотиков // Российские аптеки. – 2003. – № 5. <http://www.rosapteki.ru>.
  104. Методические рекомендации по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, утвержденные главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г.Онищенко 04.03.2004 // [http://www.antibiotic.ru/cmac/pdf/6\\_4\\_306.pdf](http://www.antibiotic.ru/cmac/pdf/6_4_306.pdf)
  105. Моисеева Е.Н. Биохимические свойства лишайников и их практическое значение // М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1961. – 68 с.
  106. Мороз И. Н., Подколзин А.А. Новое в диагностике и лечении синдрома хронической усталости // Профилактика старения. 1999. № 1. – С.45-52

107. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов: Пер. с чешск.-М.: Медицина, 1985.-430 с.
108. Наумова К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Самсонов В.М., Шаройко В.В. Влияние биокомплекса Кладород на адаптивный потенциал и физиологическое состояние организма спортсменов, занимающихся ушу и цигун // Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур. 2015. №3. С.47-55.
109. Наумова К.Н., Платонова Р.И., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Изменение физической работоспособности спортсменов под влиянием биокомплекса на основе растительного сырья «Кладород» // Теория и практика физической культуры. 2015а. №7. С.69-72.
110. Наумова К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Платонова Р.И., Халиев С.Д. Способ повышения общей физической работоспособности спортсменов скоростно-силовых видов спорта // Патент на изобретение № 2568836, приоритет от 24.07.2014, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской федерации 20.11.2015б, бюл. №32
111. Наумова, К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Самсонов В.М., Шаройко В.В. Влияние биокомплекса Кладород на адаптивный потенциал и физиологическое состояние организма спортсменов, занимающихся ушу и цигун //Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур. -2015в (3) С.47-55
112. Наумова, К.Н. Изменение физической работоспособности спортсменов под влиянием биологически активной добавки «Кладород» // Science Time. – 2015г. - №9(21). С.206-215.
113. Наумова К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., Влияние бикомплекса на основе растительного сырья «Кладород» на повышение общей физической работоспособности спортсменов (вольная борьба) // Спортивная медицина: наука и практика. – 2015д (3) С 58-64.
114. Наумова К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М., С.Н.Португалов, Р.И. Платонова Применение биопрепарата Кладород из северного растительного сырья спортсменами сборных команд России по единоборствам с учетом вида спорта и этапа подготовки // Биофармацевтический журнал. 2016. - Т.8, №2. - С.44–50.
115. Наумова К.Н., Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Положительное решение от 17.08.2016а по заявке на патент №2015122612 от 15.06.2015 «Способ повышения психофизиологического состояния организма спортсменов массовых видов спорта».
116. Нужный В.П., Тезиков Е.Б., Успенский А.Е. // Вопросы наркологии. – 1995. – №2. – С. 51-59
117. Оводов, Ю.С. Полисахариды грибов, мхов и лишайников, структура и физиологическая активность // Проблемы химии древесины и лесохимии. Труды Коми научного центра УрО Российской АН, 1997. № 156.-С. 21-30.
118. Огурцов П.П., Нужный В.П. Диагностика состояния хронической алкогольной интоксикации у больных соматического профиля (методические рекомендации). - М.: изд-во РУДН, 1999. – 24 с.
119. Огурцов П.П., Нужный В.П. Экспресс-диагностика (скрининг) хронической алкогольной интоксикации у больных соматического профиля. МР МЗ РФ № 99/174. – М., 2001. – 16 с
120. Панкрушина Н.А., Ломовский О.И. Механохимическая твердофазная экстракция - новая эффективная технология выделения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья. Материалы Международного семинара "Лесные биологически активные ресурсы", 19-21 сентября 2001, Хабаровск, с. 125-130.
121. Петрова П.Г., Воложин А.И. Экология человека в условиях Севера М.: – 1996. – 180 С.
122. Петрова П.Г., Кривошапкин В.Г., Саввинов Д.Д., Кершенгольц Б.М. Медико-экологические проблемы здоровья населения промышленного региона Республики Саха (Якутия) // Дальневосточный медицинский журнал. 1999. № 1. С. 8–16.

123. *Петрова П.Г., Кершенгольц Б.М.* Некоторые медико-экологические проблемы адаптации человека к изменениям условий среды и пути их решения // Наука и образование. 2000. №1. С. 62–63.
124. *Петрова П.Г., Захарова Ф.А.* Экология и здоровье человека на Севере // Известия Международной Академии наук высшей школы. – № 1. 2003. – С. 130–136.
125. *Подтероб А.Б.* Химический состав лишайников и их медицинское применение. Химико-фармацевтический журнал, том 42, №10, 2008, С.32–38.
126. *Подымов В.К.* Красная волчанка. Общая схема патогенеза и принципы патогенетической терапии. – Ереван: «Айастан», 1981. – 168 с.
127. *Позняковский В.М.* Гигиенические основы питания и экспертизы продовольственных товаров : Учеб. [для вузов по направлению "Технология продуктов питания", специальностям "Технология хлеба, кондитер. и макарон. изделий и пр. // Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1996. – 430 с.
128. *Пономарев В.Д.* Экстрагирование лекарственного сырья. М.: Медицина, 1976. – С. 204.
129. *Попова А.С.* Влияние экологических условий Центральной Якутии на отдельные ветви основного обмена организма растений, животных и человека. – Якутск: изд-во ЯНЦ СО РАН. – 2003. – 126 с.
130. *Ревич Б.А., Чащин В.П., Харьковская Т.Л. и др.* Влияние глобальных климатических изменений и здоровье населения Российской Арктики // Доклад международных экспертов в ООН, ПРООН, ВОЗ и ЮНЕСКО. – М.: Представительство ООН в РФ, 2008. – 28 с.
131. *Родионов С.Ю., Черешнев В.А., Орлова Е.Г. и др.* Содержание сывороточных цитокинов у онкологических больных при иммуно- и полихимиотерапии с применением альфа-фетопротейна человека // Цитокины и воспаление. 2007. - Т. 6, № 3. - С.36–39.
132. *Роудс, СР (1959).* "Цитирование и презентация медали Академии Ф. Peyton Rous". Бюллетень Нью-Йоркской академии медицины. 35 (4): 216–219.
133. *Рыкова Ю.В.* Распространение и запасы кустистых лишайников на Северо-Востоке Якутии // Растительность и почвы субарктической тундры. – Новосибирск: Наука, 1980. – С. 124–139.
134. *Самбыла Ч.Н.* Запасы надземной фитомассы лишайниковых сообществ Тывы и их рациональное использование // Сибирский экол. журн. 2007. № 2. – С.317–323
135. *Самбыла Ч.Н.* Лишайники и мхи в запасе надземной фитомассы тундровых сообществ высокогорий Тувы // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – Т.16, №5. – С.85–92
136. *Саратиков А. С.* Золотой корень (Родиола розовая). — 2-е изд., перераб. и доп. — Изд-во Томск. ун-та, 1974. — 158 с.
137. *Сафонова М. Ю., Саканян Е.И., Лесиовская Е.Е.* *Cetraria islandica (L) Ach.*: химический состав и перспективы применения в медицине // Растительные ресурсы. 1999. - Т. 35. - № 2. - С. 106–115.
138. *Сидоренко Ю.С., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Петров Д.С.* Способ лечения нерезектабельного рака желчных путей // Патент RU2377004, приоритет от 04.07.2008, опубликовано 27.12.2009
139. *Слепцова Л.В.* Обследование флоры Якутской АССР и некоторых районов Иркутской области на содержание сапонинов // Учен. зап. Якут. ун-та. – 1971. Вып. 18. – Сер. Биология. География. Химия. – С. 5–16.
140. *Смагулова А.Ш., Васильев П.П.* Экологические безотходные ресурсосберегающие биотехнологии переработки лишайников рода *Cladonia* в Якутии // Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов в г. Нерюнгри. 2012. - С. 95.



141. Смагулова А.Ш., Анышакова В.В. К вопросу об экологической чистоте образцов лишайников, используемых в качестве биоактивного сырья для биотехнологического передела // Наука и образование. - 2014. - №3. - С. 92-95.
142. Соловьева М.И., Кузьмина С.С. Динамика накопления некоторых биологически активных веществ в лишайниках в зависимости от сезона года // Вестник ЯГУ, 2008. – т. 5, № 4. – С. 141–143.
143. Соломонов Н.Г., Петрова П.Г., Кершенгольц Б.М. и др. Экология и здоровье человека на Севере // Вестник ЯГУ. – 2006. – Т. 2, № 1. – С. 98–106.
144. Сыдыкова Л.А., Данилова Г.И. Внедрение инновационных методов диагностики и лечения сахарного диабета в Республике Саха (Якутия) // В сборнике: [Экология и здоровье человека на Севере](#) Сборник научных трудов V Конгресса с международным участием. Под редакцией П.Г. Петровой, Н.В. Саввиной. 2014. С. 754-759.
145. Тель Л.З. Валеология: Учение о здоровье, болезни и выздоровлении. В 3-х томах. Тома 1-3. М. Астрель 2001г. 432с.+ 480с. +408с.
146. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири. Восточно – сибирское книжное изд-во. Иркутск. 1987. – С. 400.
147. Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А. На пути к низкодозовым лекарствам // Вестник РАН, 2007. – Т. 77, № 10. – С. 867–874.
148. Толстикова Т.Г., Брызгалов А.О., Сорокина И.В., Ратушняк А.С., Запара Т.А., Симонова О.Г., Толстиков Г.А. О природе эффекта гликозидного клатрирования фармаконов // ДАН, 2007а, Т.416, №1 С. 133-135.
149. Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Брызгалов А.О., Душкин А.В., Толстиков Г.А. Арабиногалактан – растительный полисахарид как новое средство для клатрирования фармаконов // ДАН, 2010, том 433, № 5. С. 713-714.
150. Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Брызгалов А.О., Душкин А.В., Метелева Е.С. Улучшение фармакологических свойств нифедипина путем механохимического комплексирования с глицирризиновой кислотой // Биомедицинская химия, 2010а, Т.56, вып.2 С. 187-194.
151. Троценко А. Г., Кутикова Г. А. Родиолозид *Rhodiola rosea* и *Rh. quadrifida* // Химия природных соединений : журнал. — 1967. — № 4. — С. 244—249.
152. Филиппова Г.В., Павлов Н.Г., Шашурин М.М., Кершенгольц Б.М. Влияние биологически активных веществ из слоевищ северных лишайников, экстрагированных различными методами, на биологические свойства микобактерий туберкулеза // Сибирский медицинский журнал. - №3. – 2008. С.99-103. Иркутск
153. Филиппова Г.В., Шашурин М.М., Журавская А.Н., Ломовский О.И., Павлов Н.Г., Шеин А.А. Способ получения препарата ЯГЕЛЬ-М, обладающего противотуберкулезным действием // Патент РФ на изобретение №2385159. (приоритет от 05.09.2007). Зарегистрировано в госреестре изобретений 27.03.2010
154. Хазанов В.А. Регуляторы энергетического обмена – новый класс препаратов // Материалы II Российского симпозиума «Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты» / под. ред. проф. В.А.Хазанова/. – Томск: Изд-во Томского университета, 2003. – С. 3–18.
155. Ханевич М.Д., Манихас Г.М. Крихирургия рака поджелудочной железы. //СПб. «Аграф+». 2011. 226 стр.
156. Чу Э. Де Вита-младший. Химиотерапия злокачественных новообразований. – М. Изд-во «Практика», серия «Зарубежные практические руководства по медицине». – 2008. – 448 с.

157. Чуркина Е.В., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В. Эффект препарата «Ягель» из слоевищ лишайника рода *Cladonia* на секрецию инсулина // Дальневосточный медицинский журнал. - №2. – 2011.- С.67-70.
158. Шаройко В.В., Чуркин В.А., Кершенгольц Б.М. Усиление гликолиза и подавление митохондриального метаболизма приводит к утрате глюкозостимулированной секреции инсулина в  $\beta$ -клетках // Сибирский медицинский журнал. - 2010. - №5. – С. 90-92.
159. Язудина Р. И., Куликов А. Ю., Аринина Е. Е. Фармакоэкономика сахарного диабета второго типа // М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011. — 352С
160. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. — М.: Высшая школа, 2004. — 549 с.
161. Ahren, B. (2005) Type 2 diabetes, insulin secretion and beta-cell mass. *Curr Mol Med*. 5, 275-286
162. Anshakova V.V., Sydykova L.A., Vasiljev P.P., Smagulova A.Sh., Stepanova A.V., Kershengolts B.M., Sharoyko V.V. SUPPLEMENTS BASED ON LICHEN IN THE COMPLEX THERAPY OF PATIENTS SUFFERING FROM TYPE 2 DIABETES MELLITUS // В сборнике: Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы. Материалы III Всероссийской научной Интернет-конференции с международным участием. Сервис виртуальных конференций Pax Grid; ИП Синяев Д. Н.. 2014. С. 271-272.
163. Anshakova V.V., Stepanova A.V., Uvarov D.M., Smagulova A.Sh., Naumova N.K., Vasiliev P.P. Adaptogenic activity of a complex biomedication based on a northern renewable raw material // *Wiadomosci Lekarskie*. – 2015. - №1. P. 55 – 60.
164. Arnason T., R. J. Hebda, T. Johns Use of plants for food and medicine by native peoples of eastern Canada / T. Arnason, // *Canadian Journal of Botany*. 1981.- Vol. 59. - № 11. - P. 2189 - 2325.
165. Clarke S.L., Betts, G.J. Plant A. CD4 + CD25 + FOXP3 + regulatory T cells suppress anti-tumor immune responses in patients with colorectal cancer // *PLoS One*. 2006 – Vol.1. – № 27. – P. 129
166. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities // *Diabetes*. 2005 Dec;54 Suppl 2:S97-107.
167. De Souza AP, Bonorino C. The immune system: endogenous anticancer mechanism // *Front Biosci*. – 2012 Jun. –Vol. 1. – № 4. – P. 2354–2364
168. Del Prato, S. and Marchetti, P. (2004) Beta- and alpha-cell dysfunction in type 2 diabetes. *Horm Metab Res*. 36, 775-781
169. Duarte M.I., Kovoov A. Sur l'action radiorestaunatrice d'un fraction extraite de-feuilles de taбac //C.r.Acad.sci.D. 1965. 261. P.4202–4205.
170. Groop, L. (2000) Genetics of the metabolic syndrome. *Br J Nutr*. 83 Suppl 1, S39-48
171. IDF diabetes atlas - 2015 Atlas
172. Isaac Burney Yeo. Food in health and disease. London. 1901. 592 p (P.425)
173. Kerchengolts B., Kolosova O., Krivogornicina E., et al. Ecological and biochemical characteristics of alcohol pathologies in the North and there influence upon the total sickness rate of the population // *International J. of Circumpolar Health*. – 2001. – Vol. 60, N 4. – P. 557–565.
174. Kershengolts B.M., Sydykova L.A., Sharoyko V.V., Anshakova V.V., Stepanova A.V., Varfolomeeva N.A. Lichens'  $\beta$ -oligosaccharides in the correction of metabolic-disorders in type 2 diabetes mellitus // *Wiadomosci Lekarskie*. - Tom LXVIII, 2015, Nr 4 Rozkаżożenia (1928). – P. 480-483.
175. LeRoith, D. (2002) Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med*. 113 Suppl 6A, 3S-11S
176. Muoio D.M., Newgard C.B. (2006) Obesity-related derangements in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem*. 75, 367-401



177. Naumova K.N., Anshakova V.V., Kershengolts B.M. Nonspecific adaptive reactions of athletes: evaluation and correction // Journal of Biopharmaceuticals. – 2015. - №4. P. 238-239.
178. S.Y.Hwang, D.J.Son, I.W.Kim et al. Korean red ginseng attenuates hypercholesterolemia-enhanced platelet aggregation through suppression of diacylglycerol liberation in high-cholesterol-diet-fed rabbits // Phytotherapy Research, V.22, n.6, pp.778–783, 2008.
179. Yibing Zhang, Jinli Shi, Yong Zhao, Haifeng Cui, Chunyu Cao, Sha Liu An investigation of the anti-diabetic effects of an extract from *Cladonia humilis* // Pak. J. Pharm. Sci., Vol.25, No.3, July 2012, pp.509-512
180. Reigi L. The radiation protective effect of sinapine distributed in cruciferous plants on germinating seeds of barley and wheat // Scientia Sinica (Series B). 1980. 29, № 7. P.723–732.
181. Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Appl Microbiol Biotechnol (2002) 60:258–274
182. Whiteside T.L. The role of immune cells in the tumor microenvironment // Cancer Treat Res. – 2006. – Vol. 130. – P. 103–124
183. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature 2001; 414: 782–787.





Люблю книги  
ljubljuknigi.ru



yes  
**I want more books!**

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн - в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов!  
Мы используем экологически безопасную технологию "Печать-на-Заказ".

Покупайте Ваши книги на  
**[www.ljubljuknigi.ru](http://www.ljubljuknigi.ru)**

Buy your books fast and straightforward online - at one of the world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at  
**[www.ljubljuknigi.ru](http://www.ljubljuknigi.ru)**

OmniScriptum Marketing DEU GmbH  
Bahnhofstr. 28  
D - 66111 Saarbrücken  
Telefax: +49 681 93 81 567-9

[info@omniscryptum.com](mailto:info@omniscryptum.com)  
[www.omniscryptum.com](http://www.omniscryptum.com)

OMNIScriptum



