

УДК 615(479)

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ МИКРОВОДОРОСЛИ «ЖИВАЯ ХЛОРЕЛЛА», «ЖИВЫХ НЕПАТОГЕННЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ» И ФИТОПРОДУКТОВ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КАВКАЗА¹Туманова А.Л., ²Агрба В.З.¹*Сочинский институт (филиал) РУДН (Российский университет дружбы народов), Сочи, e-mail: tymanova@mail.ru;*²*ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», Сочи, e-mail: agrba_vz@mail.ru*

Исследования по изучению комплексного использования композиций биологически активных добавок (БАД) на основе производных микроводоросли «Живая хлорелла» и её культуральной среды с непатогенными штаммами «Живых пробиотиков» (лиофилизата пробиотического *Enterococcus faecium* L-3) показали перспективные результаты для повышения функционального состояния, работоспособности, а также восстановления спортсменов. Разработаны предельно допустимые концентрации и дозировки для экспериментального исследования БАД на основе производных микроводоросли «Живая хлорелла» и непатогенных штаммов «Живых пробиотиков», в соответствии с этапами спортивных и профессиональных нагрузок. Полученные результаты важны для решения вопросов расширения методов и источников получения лекарственного растительного сырья, повышения стабильности получаемых субстанций БАД и импортозамещения. Следует также отметить особую актуальность данной разработки в связи с прогрессивно растущей в последнее время лекарственной непереносимостью. Проведенный анализ предварительных исследований показал, что складываются реальные возможности потенцирования высокого оздоровительного эффекта при совмещении концентрата композиций БАД на основе производных микроводоросли «Живая хлорелла» с непатогенными штаммами «Живых пробиотиков». Очевидна возможность потенцирования их эффективности путём совмещения с БАВ и фитоконпозициями, задавая акценты в соответствии с необходимой соматической направленностью.

Ключевые слова: комплексное применение БАД, фитосинергетический эффект, оздоровление спортсменов, БАД для профилактики соматических расстройств

PRE-CLINICAL STUDIES OF THE DRUG ON THE BASIS OF MICROWAVE DERIVATIVES «CHLORELLA», «NONPATHOGENIC PROBIOTIC PRODUCTS» AND PHYTOPRODUCTS OF THE BLACK SEA COAST OF THE CAUCASUS¹Tumanova A.L., ²Agrba V.Z.¹*Sochi Institute (branch) Peoples' Friendship University of Russia, Sochi, e-mail: tymanova@mail.ru;*²*Research Institute of Medical Primatology, Sochi, e-mail: agrba_vz@mail.ru*

Studies on the study of the complex use of compositions of biologically active additives based on microalgae derivatives of *Chlorella vulgaris* and its culture medium with non-pathogenic probiotic strains *Enterococcus faecium* L-3. These studies have shown promising results for improving the functional state, performance, and recovery of athletes. maximum permissible concentrations and dosages for experimental research, in accordance with the stages of sports and professional loads. The obtained results are important for solving the problems of expanding the methods and sources of medicinal plant raw materials, increasing the stability of the obtained dietary supplements and import substitution. It should also be noted the particular relevance of this development of communication with the progressively increasing drug intolerance recently. The carried out analysis of preliminary studies has shown that there are real possibilities of potentiating a high health effect when combining the concentrate of nutraceuticals based on the microalga derivatives «Chlorella» with nonpathogenic strains of «probiotics». The possibility of potentiating their effectiveness by combining them with BAS and phytocompositions is obvious, setting the emphasis in accordance with the necessary somatic orientation.

Keywords: complex application of dietary supplements, phytosynergic effect, health improvement of athletes, biologically active additives for the prevention of somatic disorders

Спортивная медицина подтверждает необходимость применения и расширения диапазона БАД в практике коррекции, профилактики и лечения спортсменов высших достижений. Поиск и разработка новых соматически направленных БАД и их фитоконпозиционных сочетаний, обеспечивающих фитосинергетический эффект, – актуальны и имеют далеко идущую перспективу [1]. Сохраняется и неуклонно растет интерес

к использованию биологически активных добавок, в том числе растительного происхождения для профилактики соматических расстройств, сохранения физической работоспособности и неспецифических адаптационных реакций организма человека. Это связано в первую очередь с поиском альтернативных синтетическим фармацевтическим средствам с относительно малой токсичностью, высокой эффективностью

применения. Перспективным в этом отношении представляется изучение растительных таксонов. Актуальными к разработке являются фитопродукты, ареалом распространения которых является Черноморское побережье Кавказа. К тому же набирают большую популярность методы естественного лечения, относящиеся к эндогенной терапии, и достижение эффективности в результате воздействия природных лечебных факторов и, по мнению современных специалистов, в различных сферах медицины, осуществляется менее специфичным путем через активацию адаптационных резервов организма [2].

В этом ключе особую актуальность приобретают исследования микроводорослей, как ценного источника БАВ природного происхождения. Несмотря на то, что в исследованиях выполненных в 1970–1990-х гг. в направлении пополнения запасов пищевого белка за счёт микроводорослей ожидания не оправдались, в ходе дальнейших фундаментальных и прикладных исследований было установлено, что всё же многие их разновидности могут синтезировать и накапливать широкий спектр уникальных БАВ, обладающих выраженным положительным действием на организм человека и животных в коммерчески значимых количествах [3].

Уже доказана регулируемая условиями внешней среды высокая пластичность метаболизма микроводорослей, что, в свою очередь, означает возможность управления биосинтезом ценных в биотехнологическом отношении соединений. С этих позиций микроводоросли продолжают быть объектом интенсивных исследований во многих странах мира и рассматриваются уже не как объект запасного питания в случае всемирного голода, а как ценнейший возобновляемый сырьевой ресурс для производства БАВ (каротиноидов, витаминов, полиненасыщенных жирных кислот, фикобилипротеинов, полиглюканов, антибиотиков, цитостатиков и др.). [4].

Микроводоросли представляют высокий сырьевой потенциал для фармацевтической и пищевой промышленности. Основа, обеспечивающая многофункциональный комплекс механизмов адаптации этих видов к резким и летальным для многих многоклеточных организмов изменениям условий внешней среды – чрезвычайно сложный метаболизм одноклеточных фототрофов, что и способствует повсеместному расселению микроводорослей в биосфере.

Перспективные в коммерческих целях БАВ из микроводорослей в большинстве являются вторичными метаболитами и ак-

кумулируются в клетках (или экскретируются за их пределы) даже при неблагоприятных условиях внешней среды для их роста и чаще всего при дефиците элементов питания.

Некоторые виды *Chlorophyceae* и *Euglenophyceae*, даже при лимите азота и фосфора способны накапливать например, каротиноиды (β -каротин, астаксантин, кантаксантин, зеаксантин, лютеин), *Dinoflagellata*, *Bacillariophyceae*, *Rodophyceae* и *Prymnesiophyceae* – полиненасыщенные жирные кислоты (γ -линоленовую, арахидоновую, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую), *Cyanobacteria* и *Dinoflagellata* – вещества, обладающие антибактериальными, антивирусными, фунгицидными, антипротозойными и противоопухолевыми свойствами (короткоцепочечные жирные кислоты, гликолипиды, сульфоллипиды, акриловую кислоту, фенолы и их бромпроизводные, терпеноиды, N-гликозиды, акролилхолины, β -дикетоны, алкалоиды) в промышленно значимых количествах.

Вышесказанное объясняет нацеленность прежде всего, на изучение БАВ и поиск для разработки новых фитопрепаратов получаемых из микроводорослей и растительных объектов, направленных на адаптационную активность, применения в качестве иммуномодуляторов, тонизирующих, омолаживающих и общеукрепляющих средств. Перечень востребованности такого рода лекарственных субстанций также постоянно растёт и расширяется.

Наиболее перспективная в комплексно направленном решении композиция биологически активных веществ, способная отвечать всем требованиям для спортсменов, регулируемая дозировкой в соответствии с этапами учебно-педагогического контроля: производные биологически активной добавки на основе микроводоросли «Живая хлорелла» и её культуральной среды, фитопродукт Черноморского побережья Кавказа (сухой экстракт иглицы понтийской) и лиофилизат пробиотического непатогенного штамма *Enterococcus faecium* L-3. Обоснованием данного выбора составляющих компонентов стали собственные исследования, малоизученность проблемы, а также приоритеты в перспективе таких разработок в соответствии с данными мировой литературы [5].

Анализ предварительно проведенных собственных исследований и полученных результатов дают основания предполагать, что в России может быть впервые создана наиболее перспективная в комплексно направленном решении композиция биологи-

чески активных веществ, которая позволяет сохранять высокую жизнестойкость и физиологическую активность живых клеток микроводоросли хлореллы штамма *Chlorella vulgaris* и экзометаболических, выделяемых ею в культуральную среду, усиленная эффективностью усвоения и сохраняющая высокую жизнестойкость и физиологическую активность живых полезных бактерий, что позволит обеспечить высокий фитосинергетический эффект даже при малых дозах и увеличить длительность срока годности продукта – до полугода без замораживания и консервантов.

Цель исследования: изучение физиологических норм органа зрения у различных видов приматов и вариантов их изменений при испытании препаратов на воздействие и токсичность.

Материалы и методы исследования

В эксперименте участвовали 11 приматов (вид – павианы гамадрилы), мужского пола. Этапы проведения эксперимента – общий осмотр, первичный забор общих и биохимических анализов крови и исследования органа зрения, которые включали в себя: внешний осмотр век, симметричность глазных щелей, состояние конъюнктивы век и глазного яблока, сохранность роговичных рефлексов, величины зрачка и его реакции на свет, измерение внутриглазного давления, биомикроскопию передней камеры, хрусталика, осмотр глазного дна – офтальмоскопию, с фоторегистрацией.

Параметры крови исследованы стандартными методами при помощи автоматического гематологического анализатора AcT 5 diff SP фирмы Beckman-Coulter, США и включали в себя: общий анализ крови на абсолютное содержание эритроцитов (RBC), концентрацию гемоглобина в цельной крови (Hgb), гематокрит (Hct), эритроцитарные индексы (средний объем эритроцита – MCV, среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците – MCH, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитарной массе – MCHC), а также абсолютное содержание тромбоцитов (Plt), лейкоцитов (WBC) и показатели лейкограммы (лейкоцитарной формулы). Рутинно по методу Панченкова определялась скорость оседания эритроцитов (СОЭ).

Результаты исследования и их обсуждение

Первичные гематологические показатели от 26.07.2017 и 7.07.2017 показали полную адаптацию к установленным гематологическим нормам павианов после перемещения к пребыванию в специализированном помещении для проведения эксперимента. Обращали на себя внимание некоторые биохимические показатели крови, например очень низкий уровень щелочной фосфатазы у приматов за номерами 42350, 42932, 41824. Следует отметить, что у двух из этих приматов были выявлены патологические изменения при последующем

офтальмологическом исследовании и эти изменения были учтены в последующих трактовках гематологической динамики [6]. В ходе первичного офтальмологического исследования 19 июля 2017 г., у двух павианов были выявлены отклонения в виде патологических изменений:

1. № 42932 осложнённые помутнения хрусталика, больше выраженные в правом глазу – осложнённая катаракта обоих глаз и изменения в виде очаговых депигментаций разного размера на коже

2. № 41874 изменения сосудов сетчатки в виде расширения вен и сужения артериол, выявленные при офтальмоскопии. Полученные в ходе доклинических исследований на приматах результаты показали ряд ключевых наблюдений:

Для № 42932 отличия средних показателей после эксперимента от средних показателей контрольной группы статистически значимы по уровню щелочной фосфатазы (выше среднего для контрольной группы на 200%) и содержанию альбуминов в крови (ниже на 18%). Однако вновь обращает на себя внимание, что уровень щелочной фосфатазы резко снижен (до 90,22) ещё в первый день гематологического контроля 27.06 и резко повышается по окончании адаптационного периода (до 1530,0). В ходе эксперимента также наблюдаются изменения уровня щелочной фосфатазы 6.09, показатель растёт до значения 4205,0 а к 18.10. после усиления концентрации экспериментального раствора снижается до варианта нормы (до 1287 Е/л.). Этот примат № 42932 находился под наблюдением с выявленной патологией, витилиго депигментированная форма и осложнённая катаракта обоих глаз. Аналогичная картина складывается у павиана № 41824, который также находился под наблюдением с изменениями сосудов глазного дна – расширенные вены с замедленным кровотоком, неравномерного калибра, суженные артериолы с выпрямленными концами. Первый гематологический контроль также показал резко сниженный показатель щелочной фосфатазы (до 89,0) с повышением (до 1415,0) по окончании адаптационного периода 7.07.17, с некоторым понижением в ходе эксперимента (до 1255,0) и последующим снижением 18.10. (до 660,2) после увеличения концентрации экспериментального раствора.

Описывают разные причины повышения данного показателя у человека – гепатиты любого происхождения при циррозе, миеломной болезни, болезни Педжета (патологический рост костей с изменением их структуры), метастазах, затрагивающих костную ткань, остеосаркомах, инфекцион-

ных мононуклеозах с нарушением работы печени, остеомалациях, переломах, рахитах и др. Отмечены скачки в показателях уровня щелочной фосфатазы в связи с язвенным колитом и перфорацией кишечника, с инфарктом миокарда, с гормональными заболеваниями, характеризующееся вымыванием кальция из костей (гиперпаратиреозом). Также описываются состояния, влияющие на колебания показателей щелочной фосфатазы, не связанные с болезнями – подростковый возраст, здоровые женщины до 20 лет, беременность и здоровые мужчины до 30 лет, приём гормональных препаратов с целью контрацепции, антибиотиков и других лекарственных средств. Поэтому необходимо проводить дополнительные исследования и изучать полученные результаты в комплексе, чтобы утверждать о наличии того или иного патологического процесса [7]. Пониженный показатель данного фермента в крови также может служить признаками ряда заболеваний, не менее опасных, чем и при повышении уровня фосфатазы. Для того, чтобы разобраться с повышением или понижением уровня щелочной фосфатазы в крови, необходимо проведение дополнительных исследований. Также наблюдались колебания показателей уровня АсАТ соответственно от 38,87 до 28,49 в адаптационный период, и от 44,18 до 33,07 в ходе эксперимента, где показатель сначала повышался, а после увеличения концентрации экспериментального раствора значительно снижался. Причины повышения и понижения уровня АСТ почти те же, что и при АЛТ, только если при АЛТ на первый план ставится состояние печени, то в случае с АсАТ – сердце и мышцы. В нашем случае изменения показателей щелочной фосфатазы в сочетании с изменениями АЛАТ подтверждают выявленные изменения органа зрения, а синхронное улучшение этих показателей после увеличения концентрации экспериментальных растворов (18.10.) и динамика улучшения офтальмологического статуса последующих осмотров (18.10 и 15.11) свидетельствует об отсутствии факторов токсичности применённых в эксперименте композиций растворов даже при увеличении предельных дозировок.

Методика исследований токсичности воспроизводилась принудительным введением в возрастающей концентрации и увеличении разовой и суточной дозы приёма с равным интервалом, в соответствии с Методическими указаниями по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных бо-

лезней животных. В нашем эксперименте все 11 павианов гамадрилов живы, активны и показывают в основном положительную динамику гематологических показателей. Обращает внимание на себя и тот факт, что приматы в группах, 3, 4, 5, принимавшие соответственно растворы № 3, № 4, № 5 (табл. 17 см.) – показали улучшение гематологических показателей в динамике прямо пропорционально увеличению концентраций растворов даже при превышении максимальных суточных дозировок. Отмечалось видимое улучшение кожных проявлений в динамике наблюдения за приматом № 42932 с депигментированной формой витилиго, употреблявшего раствор № 5. Также обращает на себя внимание, что приматы 4 и 5 группы, получавшие совмещённый приём экспериментальных растворов с глазными каплями (раствор № 6 и № 7), находящиеся под наблюдением с выявленными патологиями катаракта, витилиго, расширение вен глазного дна, показали явное улучшение и по гематологическим, и по офтальмологическим показателям и подтверждают эффективность разработанной рецептуры и глазных форм: отфильтрованного отстоя Концентрата живой хлореллы (КЖХ) 40 мл + сухой экстракт иглицы 5 мг + 10 мл воды и отфильтрованного отстоя Концентрата живой хлореллы (КЖХ) 50 мл + тауфон 4% глазные капли 4%, 5 мл (авторская разработка проф., д.м.н. А.Л. Тумановой). В ходе экспериментального закапывания раствора в конъюнктивальную полость (длительность 3 мес.), признаков раздражения, воспаления, разного рода отделяемого не наблюдалось ни у одного примата.

Выводы

Таким образом, в соответствии с проведенными доклиническими исследованиями при расчете предельных суточных дозировок были взяты за основу дозировки тех групп животных которые показали положительную динамику в доклинических исследованиях и позволяют рекомендовать следующий расчет суточных дозировок концентрата «Живая хлорелла» для спортсменов (гуща хлореллы 35,0 мл + 40 мг лиофилизат *Enterococcus faecium* L-3 (авторская разработка проф., д.м.н. А.Л. Тумановой) для дальнейших клинко-экспериментальных исследований. Комплексное использование рецептур на основе микродоросли «Живая хлорелла» и её культуральной среды, фитопродукта Черноморского побережья Кавказа и лиофилизата пробиотического *Enterococcus faecium* L-3 представляется нам также весьма перспективным.

Проведенный анализ предварительных исследований показал, что складываются реальные возможности потенцирования высокого оздоровительного эффекта при совмещении концентрата композиций БАД на основе производных микроводоросли «Живая хлорелла» с непатогенными штаммами «Живых пробиотиков» и очевидную возможность потенцирования их эффективности путём совмещения с БАВ и фитокомпозициями, задавая акценты в соответствии с необходимой соматической направленностью. Важность полученных результатов определяется в расширении методов и источников не только повышения стабильности получаемых субстанций БАД, но и источников получения лекарственного растительного сырья для импортозамещения. Следует также отметить особую актуальность данной разработки в связи с прогрессивно растущей в последнее время лекарственной непереносимостью [8].

На основании анализа проведенных исследований и полученных результатов можно утверждать, что в России впервые создан продукт на основе производных БАД микроводоросли «Живая хлорелла», концентрата культуральной среды хлореллы, фитопродукта Черноморского побережья Кавказа и лиофилизата пробиотического непатогенного штамма *Enterococcus faecium* L-3. Разработанный БАД может составлять основу рациона для оздоровления населения и спортсменов, регулируемый только дозировкой и фитопродуктом соматической направленности в соответствии с этапами индивидуального эндоэкологического контроля и обеспечивать компенсацию последствий стресса, депрессий, улучшение памяти, стабилизацию иммунитета, нормализацию обмена веществ и баланса массы

тела, восполнение недостатков белка и аминокислот, витаминов, макро-, микроэлементов, в том числе и за счёт улучшения усвоения питательных веществ из продуктов питания. Он обладает широким спектром совместимости с другими препаратами, что представляется важным для совмещённого приёма при обнаружении соматических патологий.

Список литературы

1. Лин А.А., Соколов Б.И., Орлов А.С. Фармацевтический рынок: сегмент биологически активных добавок // Экономика и управление в сфере услуг. 2014. С. 297–302.
2. Кемертелидзе Э.П., Музашвили Т.С., Бенидзе М.М., Царук А.В., Хушбакова З.А., Сыров В.Н. Химический состав и фармакологическая эффективность листьев *Ruscus Colchicus* P.F. Yeo // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Т. 46. № 6. С. 45–48.
3. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н., Терентьева Н.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // Морской экологический журнал. 2008. Т. VIII. № 2. С. 5–23.
4. Лукьянов В.А., Стифеев А.И., Горбунова С.Ю. Научно обоснованное культивирование микроводорослей // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 9. С. 55–57.
5. Туманова А.Л. Экспериментальные исследования по изучению влияния пищевой суспензии микроводоросли *Chorella vulgaris* на организм человека // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2011. № 9. С. 85–88.
6. Каралоглы Д.Д., Игнатова И.Е., Гварамия И.А., Деменкова Н.П., Афанасьев Н.А., Агрба В.З. Картина крови и интерфероновый статус у обезьян, инфицированных латентными вирусами приматов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 149. № 6. С. 693–694.
7. Ройтман А.П., Мамедов И.С., Референтные интервалы активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови человека. Лабораторная диагностика гипофосфатазии. Клинические рекомендации. М., 2015. С. 16 [Электронный ресурс]. URL: www.fedlab.ru/klinicheskie-rekomendatsii-po-izmereniyu-shchelochnoy-fosfatazy-i-lab-diag-gipofosfatazii_flm.pdf (дата обращения: 11.06.2018).
8. Туманова А.Л. Применение пищевого концентрата «Живая хлорелла»: методические рекомендации. М., 2016. 32 с.