

УДК 663.11 (571.56)

Возобновляемое биосырье Якутии: состав, свойства, биотехнологические аспекты применения (обзор). Часть 2. Разработки на основе лишайникового сырья (жидкофазные биопрепараты)

Н.Е. Шеина, А.А. Шейн, Г.В. Филиппова, М.М. Шашурин, Е.С. Хлебный,
А.Н. Журавская, Б.М. Кершенгольц, В.В. Шаройко

Проведен литературный обзор данных о биотехнологическом применении и экологической чистоте возобновляемого лишайникового сырья. На основе лишайникового сырья Якутии, содержащего комплекс физиологически активных веществ, с применением биотехнологий экстракции в среде сверхкритического CO_2 и механохимической активации разработаны препараты детоксикационного и антибиотического действия.

Ключевые слова: возобновляемое биологическое сырье, слоевища лишайников, сверхкритический CO_2 , механохимические биотехнологии, биопрепараты.

The review about biotechnological application and ecological cleanliness of renewable lichen raw materials is made. Preparations of detoxicative and antibiotic action are obtained on the basis of the lichen raw materials of Yakutia containing a complex of physiologically active substances with application such biotechnologies as supercritical CO_2 extraction and mechanochemical activation.

Key words: renewable raw materials, lichen tallus, supercritical CO_2 , mechanochemical biotechnologies, biopreparations.

Районы Крайнего Севера обладают огромными биоресурсами, используемыми в настоящее время лишь частично, при этом всё более активно развивается оленеводство и, как следствие, возрастает интерес к продукции из пантов северных оленей [1]. Кроме того, в последнее время представителей различных областей науки и производства в качестве объекта исследований привлекают не только сами северные олени, но и их кормовая база – олений мох, или ягель. Ягелем обычно называют три вида кустистых лишайников: кладонию альпийскую (*Cladonia alpestris*), кладонию лесную (*C. sylvatica*) и кладонию оленью (*C. rangiferina*). Однако олени охотно поедают и многие другие лишайники (другие виды *Cladonia*, *Cetraria islandica*, *C. cucullata*, *C. nivalis*, *Alectoria ochroleuca* и т. д.; рис. 1) [2].

ШЕИНА Наталья Евгеньевна – ст. преподаватель БГФ СВФУ, misnatasha@yandex.ru; ШЕЙН Алексей Анатольевич – к.б.н., н.с. ИБПК СО РАН, bg98saa@yandex.ru; ФИЛИППОВА Галина Валерьевна – к.б.н., с.н.с. ИБПК СО РАН, nureeva@yandex.ru; ШАШУРИН Михаил Михайлович – к.б.н., н.с. ИБПК СО РАН, inwertaza@mail.ru; ХЛЕБНЫЙ Ефим Сергеевич – к.б.н., н.с. ИБПК СО РАН, chicloon@gmail.ru; ЖУРАВСКАЯ Алла Николаевна – д.б.н., проф., в.н.с. ИБПК СО РАН, jan43@mail.ru; КЕРШЕНГОЛЬЦ Борис Моисеевич – д.б.н., акад. АН РС (Я), проф., зам. дир-ра по научной работе ИБПК СО РАН, kerschen@mail.ru; ШАРОЙКО Владимир Владимирович – д.б.н., н.с. Лундского университета (Швеция), sharoikovv@mail.ru.

Наиболее исследованными лишайниками являются представители рода *Cetraria Ach.* (сем. Parmeliaceae), широко распространенные на территории Северной Евразии: они произрастают в различных экотопах на севере Европейской России, в Сибири и на Дальнем Востоке [3]. Лишайники являются не только ценным кормовым сырьем [4], но также используются в фармацевтическом и пищевом производстве [5–7]. В народной медицине *Cetraria* используется в качестве лечебного средства при заболеваниях дыхательных путей, как противогрибковое средство, для лечения туберкулеза легких, сердечно-сосудистых заболеваний [8–10].

Слоевища цетрарии исландской содержат биологически активные вещества различных групп: углеводы (в виде лишайникового крахмала лихенина и изолихенина, сахаров), дубильные вещества, иридоиды, лишайниковые кислоты (цетраровая, протоцетраровая, усниновая и др.), микроэлементы (железо, медь, марганец, титан, никель, хром, бор, следы молибдена), витамины (А, В₁, В₂, В₁₂, аскорбиновая и фолиевая кислоты), а также белки, жиры, воска и пигменты [11–13].

В отношении экологической безопасности лишайникового сырья существуют довольно немногочисленные и разрозненные сведения о содержании различных химических элементов [14–16]. Лишайники обладают уникальной способностью извлекать из окружающей среды и накапливать в



Cladonia rangiferina – олений мох



Cladonia stellaris – кладония звездчатая



Cetraria islandica – исландский мох



Рис. 1. Некоторые представители лишайников рода *Cladonia* и *Cetraria*

своем слоевище различные химические элементы, что напрямую зависит от вида лишайника. Уменьшение или увеличение содержания металлов, в том числе тяжелых, в лишайниках определяется: а) динамикой содержания тяжелых металлов в атмосферной пыли, изменением геохимических условий, атмосферной миграцией и накоплением металлов; б) видовой принадлежностью лишайника; в) местом сбора пробы; г) временным интервалом между отборами проб [16–18].

В образцах лишайникового сырья, собранных в различных регионах РФ, обнаружено 60 элементов; из них 27 макро- и микроэлементов и 33 редко встречающихся элемента. Установлено, что Co, Ni, Mo, Au присутствуют в лишайниках в тех же концентрациях, что и в высших растениях, а содержание Zn, Cd, Sn, Pb намного выше [19]. Подмечено, что лишайники тундровой зоны способны аккумулировать большее количество минеральных веществ по сравнению с лишайниками редколесий [20]. Содержание в тканях лишайников родов *Cladonia* и *Cetraria* микроэлементов техногенного характера (Pb, Zn, Cu) повышено непосредственно возле источника и возвращается к фону

вому уровню на удалении 500–1500 м, не превышая предельно допустимых концентраций [17, 21–23].

Ввиду слабой антропогенной нагрузки на территории Якутии содержание токсических элементов (Pb, Hg и Cd) в тканях лишайников не превышает предельно допустимых концентраций, что может являться рекомендацией для заготовки лекарственного сырья [22].

Переработка природного сырья, в том числе лишайникового, с применением современных подходов позволяет получать составы и препараты, отличающиеся от аналогов не только разнообразием входящих в них компонентов, формирующих определенный ансамбль их структурного семейства, но и более широким спектром действия, обусловленным синергизмом веществ, входящих в эти ансамбли.

Во второй части обзора представлен сравнительный анализ препаратов (лекарственных средств и БАДов) различного фармакологического действия, в том числе биотехнологические разработки ИБПК СО РАН, на основе лишайникового сырья Якутии.

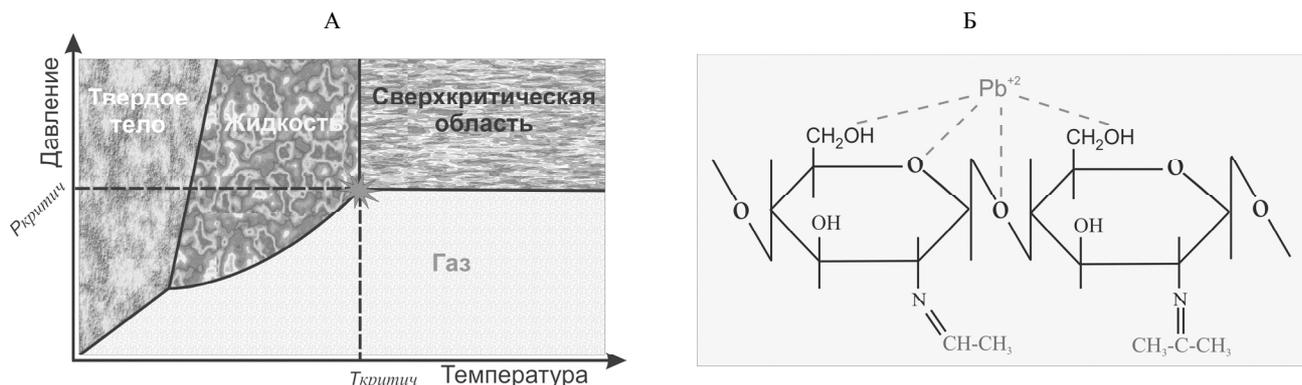


Рис. 2. Фазовая диаграмма диоксида углерода (А) и строение комплексов лишайниковых β-олигоаминосахаридов со связанными ими токсичными карбонильными соединениями и катионами тяжелых металлов (Б)

Интерес для решения задач сохранения здоровья населения в условиях неблагоприятной экологической обстановки могут представлять биопрепараты, обладающие детоксикационным действием. Широко применяемым в российской медицинской практике препаратом является «Энтеросгель», действующее вещество в котором метилкремниевая кислота в виде гидрогеля. Препарат относится к энтеросорбентам и оказывает детоксикационное действие в желудочно-кишечном тракте при приеме внутрь. При этом кремний-органическая матрица гидрогеля эффективно абсорбирует из крови (за счет действия через мембраны ворсинок клеток слизистой оболочки кишечника) и из кишечного содержимого продукты незавершенных метаболических реакций, среднемолекулярные токсические вещества (с молекулярной массой 70–1000) и инкорпорированные радионуклиды [24].

Наряду с применением в медицине синтетических препаратов необходимо искать принципиально новые нетрадиционные пути. Одним из них может быть использование в качестве биосырья слоевища лишайников рода *Cladonia* и *Cetraria*, на основе которых в ИБПК СО РАН разработана биоактивная детоксикационная добавка «Ягель». Препарат производится по технологии экстракции диоксидом углерода в сверхкритическом состоянии

($t=32^{\circ}\text{C}$, давление 75 атм.; рис. 2А). Детоксикационный эффект биодобавки достигается за счет содержания в ней amino-β-олигосахаридных комплексонов (рис. 2Б), а также антиоксидантных веществ и природных антибиотиков. По детоксикационному эффекту БАД «Ягель» не имеет аналогов, благодаря оригинальной технологии производства [25].

Действие биодобавки «Ягель» основано на способности лишайниковых amino-β-олигосахаридов прочно связывать экзогенные и эндогенные токсины во внутренних средах организма человека, в том числе эндотоксины малой и средней молекулярной массы, образующиеся при токсикозах беременности, воспалительных процессах любой этиологии, обострениях аллергических состояний и др., а также катионы тяжелых металлов, радионуклиды, токсические альдегиды и кетоны, канцерогены, шлаки, и выводить их из организма человека [26].

При приеме препарата «Ягель» больными сахарным диабетом II типа достоверно формируется антиоксидантный эффект, улучшается проницаемость клеточных мембран для глюкозы крови, благодаря этому снижается практически до нормы (на 40–80%) уровень глюкозы в крови (рис. 3) [27]. Кроме того, amino-β-олигосахариды

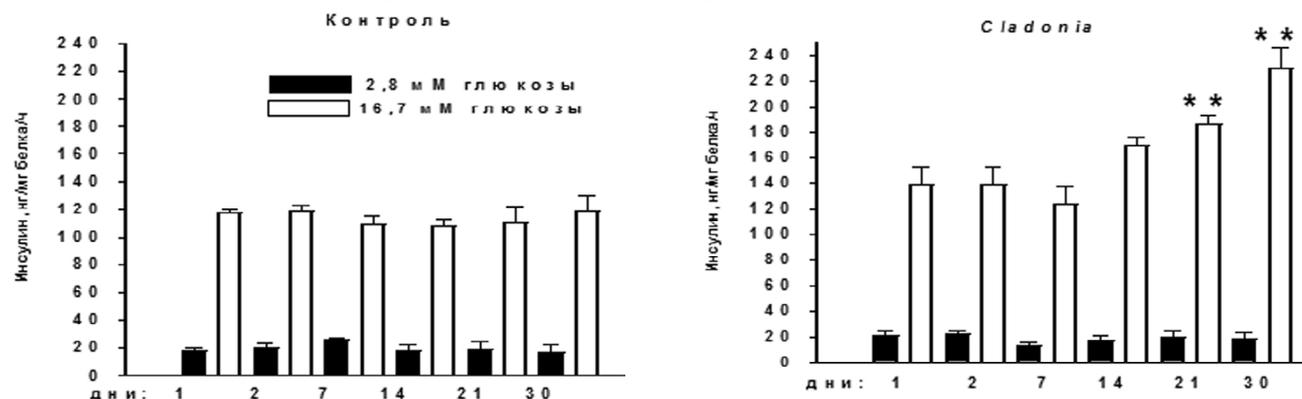


Рис. 3. Секреция инсулина β-клетками 832/13, n=3, p<0,01 по сравнению с контрольными клетками (культивация без экстракта)

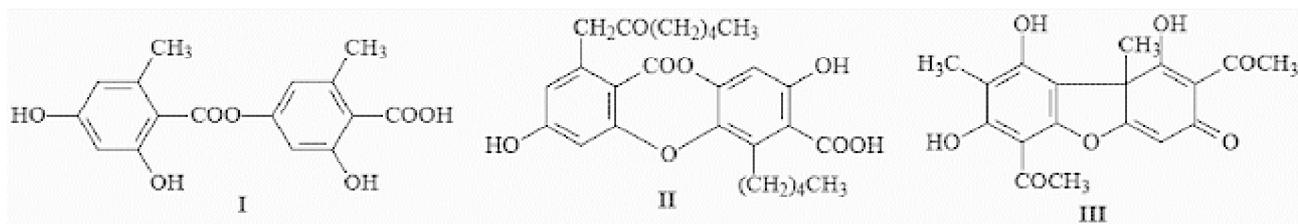


Рис. 4. Основные представители усниновых кислот: леканоровая (I), физидовая (II), усниновая (III)

способны снимать со стенок сосудов атерогенный холестерин и снижать его уровень в крови. Анти-тромбиновая активность препарата «Ягель» установлена в Гематологическом научном центре РАМН (г.Москва).

Введение БАД «Ягель» в водочные изделия в соотношении 1:100 в целях детоксикации и профилактики алкогольных патологий позволяет снизить в 2,0–3,0 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 [28]. Получено регистрационное удостоверение Роспотребнадзора РФ, разрешающее его производство и применение на территории России [29].

Известно, что лишайники используются также в качестве антибиотического средства. Так, противомикробная антибиотическая активность в отношении стафилококков, стрептококков, кислотоустойчивых микроорганизмов, грибов, простейших и вирусов обусловлена наличием в слоевищах лишайниковых кислот, прежде всего, усниновой кислоты и её производных (рис. 4) [30–33].

Ранее 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 [34]. В связи с этим, несмотря на успехи химии в синтезе лекарственных веществ, в медицине наметились тенденции более широкого использования лекарственных растений. Фармакологические исследования показали, что натриевая соль усниновой кислоты обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами относительно стафилококков, стрептококков и бактерии субтилис; механизм действия связан с разрывом процесса окислительного фосфорилирования у микроорганизмов [35, 36].

В настоящее время проблема лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) стала одной из актуальных во фтизиатрии и практическом здравоохранении [37–40]. Наличие лекарственной устойчивости МБТ существенно сни-

жает эффективность лечения, приводит к появлению хронических и неизлечимых форм, а в ряде случаев летальных исходов [41] и остро прогрессирующих форм туберкулеза [42]. Примером противотуберкулезных препаратов с широким спектром фармакологического действия является «Ислацет» (сухой экстракт из слоевищ цетрарии исландской), обладающий общеукрепляющим, противовоспалительным, противомикробным, антигипоксическим, иммуномодулирующим, гепатопротекторным, антиоксидантным действиями [43, 44].

На основе доступного биологического сырья Якутии в ИБПК СО РАН разработан комплекс природных антибиотиков «Ягель-М», сырьем для которого, как и при получении биодобавки «Ягель», являются слоевища лишайников рода *Cladonia* и *Cetraria* [45]. Данный препарат производится по механохимической технологии (совместно с Институтом химии твёрдого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск). Механохимическая активация биосырья заключается в том, что в процессе измельчения слоевищ лишайников в течение 2–3 мин в присутствии соды не растворимые в воде лишайниковые кислоты переходят в водорастворимое состояние (рис. 5).



Рис. 5. Шаровая мельница активаторного типа для получения высокодисперсных порошков

Высокая антибиотическая активность препарата «Ягель-М» (за счет действия производных урсниновых кислот) показана на коллекции штаммов микобактерий ГУ НПЦ «Фтизиатрия», обладающих лекарственной устойчивостью к полусинтетическим и синтетическим антибиотикам, применяющимся во фтизиатрии. Испытания, проведенные на лабораторных животных, инфицированных МБТ, показали очень высокую эффективность: при 100% летальности в контрольной группе и 50% летальности в группе мышей с применением стандартной противотуберкулезной терапии, в группе животных, принимающих препарат «Ягель-М», летальность равна нулю, более того, животные за время эксперимента (2,5 месяца) прибавили в весе на 20% [46].

Таким образом, решить комплекс проблем, связанных с ухудшающимися экологическими условиями, могут помочь новейшие биотехнологии, разработанные в ИБПК СО РАН и направленные на производство востребованных населением продуктов с заданными свойствами (лечебного и профилактического назначения) из северного биосырья, особо ценного по своему биохимическому составу.

Литература

1. Шеина Н.Е., Кузьмина В.Ф., Ведекинд В.А. и др. Возобновляемое биосырье Якутии: состав, свойства, биотехнологические аспекты переработки (обзор). Часть 1. Разработки на основе животного сырья // Наука и образование. – 2011. – № 4. – С. 59–64.
2. Жизнь растений: в 6 томах. Т. 3. Водоросли. Лишайники / Под ред. А. Л. Тахтаджяна. – М.: Просвещение, 1977. – 487 с.
3. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / Под ред. П.С. Чинова. – М.: Изд-во ГУТК, 1980. – 340 с.
4. Смирнова З.Н. Кормовые лишайники Крайнего Севера СССР: краткий определитель. – Л., 1962. – 72 с.
5. Курсанов А.Л., Дьячков Н.Н. Углеводный состав лишайников Кольского п-ва в связи с вопросом получения глюкозы // Докл. АН СССР. – 1945. – Т. 62, №2. – С. 401–403.
6. Сафонова М.Ю., Саканян Е.И., Лесновская Е.Е. *Cetraria islandica* (L.) Ach.: химический состав и перспективы применения в медицине // Растительные ресурсы. – 1999. – Т. 35, №2. – С. 106–115.
7. Карев Г.И., Кочевых В.П. О содержании аскорбиновой кислоты в кормовых лишайниках тундры // Ботанический журнал. – 1962. – Т. 47, №11. – С. 1686–1688.
8. Блехер Л.Б., Колосова Т.И. Лечебное применение лекарственных растений. – СПб.: ТЦ «Северо-Запад» СПБСОСФК, 1992. – 378 с.
9. Петков В. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова. – София: Медицина и физкультура, 1988. – 503 с.
10. Телятьев В. В. Целебные клады. – Иркутск, 1991. – 398 с.
11. Крамаренко Г.В., Люта М.Л., Чолий Л.Ф. и др. Исследование цетрарии исландской как перспективного лекарственного сырья. Сообщение 1. Биологическая активность и применение в медицине цетрарии исландской // Электронный журнал Провизор. – 2003. – Вып. 18.
12. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. О содержании некоторых биологически активных соединений в лишайниках *Cetraria* Ach. // Материалы III Всероссийской конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2007. – Кн.2. – С. 356–360.
13. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю. Аминокислотный состав лишайников *C.islandica* и *C.laevigata* в зависимости от мест произрастания // Материалы докл. Всероссийской науч.-практ. конф. «Биотехнология растительного сырья, качество и безопасность продуктов питания». – Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2010. – С. 17–20.
14. Свирко Е.В., Страхovenko В.Д. Тяжелые металлы и радионуклиды в слоевищах лишайников в Новосибирской области, Алтайском крае и Республике Алтай // Сибирский экологический журнал. – 2006. – №3. – С. 385–390.
15. Reimann C., Caritat R. Chemical Elements in the Environment, Berlin-Heidelberg. – 1998. – 398 p.
16. Соловьева М.И. Эколого-биохимические особенности антиоксидантно-прооксидантных равновесий в слоевищах лишайников Якутии: теоретические и прикладные аспекты: дис. ... канд. биол. наук. – Якутск, 2008. – 106 с.
17. Инсарова И.Д. Влияние тяжелых металлов на лишайники // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – Т.6. – Л.: Гидрометеозидат, 1983. – С. 101–113.
18. Подтероб А. П. Закономерности накопления металлов лишайниками Березинского биосферного заповедника // Экологический вестник. – 2010. – № 4(14). – С. 29–36.
19. Аржанова В.С., Скирина И.Ф. Значение и роль лишеноиндикационных исследований при эколого-геохимической оценке состояния окружающей среды // География и природные ресурсы. – 2000. – №4. – С. 33–40.
20. Манаков К.Н. Элементы биологического круговорота в лесотундровых ландшафтах Кольского полуострова // Биологическая продуктивность и круговорот химических элементов в растительных сообществах. – Л.: Наука, 1971. – С. 207–212.
21. Вершинина С.Э., Вершинин К.Е., Кравченко О.Ю. и др. Элементный состав лишайников р. *Cetraria* Ach. из различных регионов России // Химия растительного сырья. – 2009. – №1. – С. 141–146.
22. Вершинина С.Э., Кравченко О.Ю., Вершинин К.Е. и др. Содержание некоторых микроэлементов в *Cetraria islandica* и *C. laevigata* (Parmeliaceae) // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45, №2. – С. 104–108.
23. Московченко Д.В., Валева Э.И. Содержание тяжелых металлов в лишайниках на севере Западной Сибири // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. – 2010. – №11. – С. 162–172.
24. Энтеросгель. Паста для приема внутрь / Регистрационный номер: Р №003719/02.
25. Кершенгольц Б.М., Ремигайло П.А., Шеин А.А. и др. Природные биологически активные вещества из тка-

ней растений и животных Якутии: особенности состава, новые технологии, достижения и перспективы использования в медицине // Дальневосточный медицинский журнал. – 2004. – Приложение № 1. – С. 25–29.

26. Гольдерова А.С., Кривошапкина З.Н., Миронова Г.Е. и др. Влияние БАД «Ягель» на биохимические показатели крови // Якутский медицинский журнал. – 2010. – №4. – С.73–76.

27. Чуркина Е.В., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В. Эффект препарата «Ягель» из слоевищ лишайника рода *Cladonia* на секрецию инсулина // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – №2. – С.67–70.

28. Кершенгольц Б.М., Журавская А.Н., Ремизайло П.А. и др. Способ получения водки, обладающей пониженным токсическим и наркотическим эффектом // Патент РФ №2318407, приоритет от 10.01.2006, зарегистрировано 10.01.2008.

29. Свидетельство о государственной регистрации, санитарно-эпидемиологическое заключение и ТУ на БАД «Ягель» / Свидетельство о гос. регистрации Роспотребнадзора РФ № 77.99.23.3. У.3522.5.08 от 04.05.2008; сан-эпид. заключение №77.99.03.003. Т. 000928.05.08 от 04.05.2008; ТУ 9219-002-36971185-08.

30. Горшкова Р.П., Назаренко Е.Л., Зубков В.А. и др. Структурное исследование полисахаридов лишайников *Cetraria cucullata* и *C. islandica* // Биоорганическая химия. – 1997. – Т. 23, №2. – С. 134–138.

31. Elo H., Matikainen J., Pelttari E. Potent activity of the lichen antibiotic (+)-usnic acid against clinical isolates of vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Naturwissenschaften* (2007) 94:465–468.

32. Lauterwein M., Oethinger M., Belsner K. et al. In Vitro Activities of the Lichen Secondary Metabolites Vulpinic Acid, (1)-Usnic Acid, and (2)-Usnic Acid against Aerobic and Anaerobic Microorganisms // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 1995. – V. 39, № 11. – P. 2541–2543.

33. Ingolfssdottir K. Usnic acid // *Phytochemistry* 61 (2002) 729–736.

34. Мусеева Е.Н. Биохимические свойства лишайников и их практическое значение. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. – 82 с.

35. Крамаренко Г.В., Люта М.Л., Чолий Л.Ф. и др. Исследование цетрарии исландской как перспективного лекарственного сырья. Сообщение 2. Исследование водных извлечений из цетрарии исландской // *Электронный журнал Провизор*. – 2003. – Вып. 19.

36. Крамаренко Г.В., Люта М.Л., Чолий Л.Ф. и др. Исследование цетрарии исландской как перспективного лекарственного сырья. Сообщение 3. Исследование из-

влечений из цетрарии исландской // *Электронный журнал Провизор*. – 2003. – Вып. 22.

37. Аксенова В.А., Лугинова Е.Ф., Иванова А.П. и др. Лекарственно-устойчивый туберкулез у детей и подростков в России / 12-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сборник резюме. – М., 2002. – 272 с.

38. Мишин В.Ю. Современная тактика комплексного лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза легких // *Борьба с туберкулезом на Крайнем Севере: сборник науч. тр.* – Якутск, 2000. – С. 192–195.

39. Соколова Г.Б. Новые подходы к лечению лекарственно-резистентных форм туберкулеза // *Химиотерапия туберкулеза*. – 2000. – № 9. – С.30–37.

40. Галицкий Л.А., Зарецкий Б.В., Барнаулов О.Д. и др. Влияние фитотерапии на возможность предупреждения и устранения гепатотоксических реакций у больных туберкулезом легких, носителей маркеров вируса гепатита В // *Проблемы туберкулеза*. – 1997. – № 4. – С. 35–38.

41. Васильева И.А. Химиотерапия полирезистентного туберкулеза / IV съезд научно-медицинской ассоциации фтизиатров: сборник резюме. – Йошкар-Ола, 1999. – С.78.

42. Иванова Л.А. Характеристика лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза у больных деструктивным туберкулезом легких в современных условиях // *Новые технологии в диагностике и лечении туберкулеза различных органов и систем*. – СПб., 1998. – Т.2. – С. 156–160.

43. Витовская М.Л., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В. и др. Роль исласцета (экстракта из слоевищ цетрарии исландской) в комплексной терапии экспериментального туберкулеза // *Проблемы туберкулеза и болезней легких: ежемесечный научно-практический журнал*. – 2005. – № 11. – С.44–47.

44. Лесиовская Е.Е., Саканян Е.И., Сафронова М.Ю. и др. Препарат исласцет для профилактики и лечения туберкулеза и способ его получения / Патент РФ №2203081 от 13.12.2001.

45. Кершенгольц Б.М., Хлебный Е.С., Филиппова Г.В. и др. Способ получения препарата «Ягель-М», обладающего противотуберкулезным действием / Патент РФ №2385159 от 27.03.2010.

46. Павлов Н.Г., Кершенгольц Б.М., Филиппова Г.В., Шауруин М.М. Антимикобактериальное действие экстрактов из слоевищ северных лишайников на биологические свойства микобактерий туберкулеза // *Сборник тр. III Межрегиональной науч.-практ. конф. (электронный ресурс)*. – Якутск, 2009. – С. 215–218.

Поступила в редакцию 23.12.2011