

2017

ТОО «SPA-SKY
Production»

Утверждаю:

Генеральный Директор ТОО «SPA-SKY Production»

Зарков Игорь Викторович _____

(подпись)

М.П.

ОТЧЕТ

О научной и научно-технической деятельности по заявленной технологии производства биологически активного концентрированного продукта «Pavlov Spring» с использованием резонансных нелинейных и хроматографических технологий

СОДЕРЖАНИЕ:

<i>I. Краткая характеристика инновационного опыта</i>	<i>2</i>
<i>1.1. Общие положения инновационного опыта</i>	<i>2</i>
<i>1.2. Практические выводы по результатам разработки технологии</i>	<i>3</i>
<i>II. Теоретическое обоснование инновации</i>	<i>9</i>
<i>2.1. Анализ существующих технологий получения концентратов, эмульсий и растворов с содержанием CoQ10</i>	<i>9</i>
<i>2.2. Существующие технологии обогащения продуктов питания</i>	<i>15</i>
<i>2.3. Вопросы биоскрининга и экстракции растительного сырья</i>	<i>16</i>
<i>2.4. Вопросы водоподготовки</i>	<i>20</i>
<i>III. Практическая апробация технологии</i>	<i>24</i>
<i>3.1. Результаты токсикологического исследования</i>	<i>24</i>
<i>3.2. Выводы</i>	<i>31</i>
<i>IV. Краткое описание технологии производства</i>	<i>32</i>

I. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИННОВАЦИОННОГО ОПЫТА

1.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО ОПЫТА

Комплекс микроэлементов и витаминов растительного концентрата «Pavlov Spring» является натуральным биоантиоксидантом и относится к категории **нутрицевтиков с иммуномодулирующими свойствами и выраженным эффектом воздействия на процессы митохондриального окисления.** Парафармацевтики в классификации биологических активных веществ располагаются ближе к лекарственным препаратам на натуральной основе. Согласно Закону Республики Казахстан от 13.01.2004 N 522-2 «О лекарственных средствах» биологически активные вещества- вещества различного происхождения, вызывающие изменения физиологических функций организма у животных и человека и являющиеся потенциальными источниками получения лекарственных средств. Парафармацевтики прежде всего относятся к классу нутрицевтиков – незаменимых (эссенциальных) элементов питания. Это органические компоненты пищевых и лекарственных растений, морепродуктов и/ или животных тканей. Продукты с добавлением так называемых «функциональных компонентов» - парафармацевтиков и нутрицевтиков, относятся к классу обогащенных продуктов, обладающих определенной биологической активностью и занимающих промежуточное положение между «истинными» продуктами питания и веществами, характеризующимися сильным влиянием на физиологическую норму организма таких как, например, фармпрепараты. Для получения «функциональных компонентов» в последние годы во всем мире используют различные виды местного нетрадиционного сырья, которое все более широко применяется в сфере производства продуктов питания, сиропов и напитков с повышенной биологической ценностью.

Основным сырьем для производства уникального концентрата «Pavlov Spring» являются травы и растения казахстанского происхождения и спирт. Согласно разработанной технологии в технологическом процессе также присутствует вода, обработанная на специальных установках «BAZ-15» и «КСС» (установки свето-магнитной подготовки воды с ионами серебра и установка концентрированного солнечного света – хроматографические и магнитно резонансные технологии), которые являются также разработкой специалистов Заявителя проекта и не имеют полных аналогов в мире.

Специалисты ТОО «SPA-SKY Production» уже имеют опыт работы с продуктами, обогащенными убихиноном. Согласно патентам №67974 и №24221¹ в г.Алматы выпускается апробированный продукт – обогащенная лечебно-столовая вода «Spa – Sky». Вода обогащается комплексным растительным концентратом, изготовленным из вытяжки казахстанских трав и растений, с добавлением убихинона, произведенного в США и имеет положительные заключения НИИ кардиологии и внутренних болезней РК. ТОО «SPA-SKY» провело организационную работу по возможности создания продукта с аналогичными показателями на основе экспериментально разработанных технологий с учетом тенденций мирового развития технологий в области работы с биологически активными веществами и водоподготовки. Были также изучены мировые тенденции биотехнологических разработок в области создания продуктов с содержанием убихинона, а также в области обогащения продуктов питания и напитков биологически активными веществами. Исследования показали, что данный сегмент имеет глобальную тенденцию развития и роста повсеместно в мире. Зарегистрировано ряд патентов и налажено производство как ингредиентов для пищевой и фармакологической промышленности с содержанием убихинона, так и продуктов питания, соков и напитков, обогащенных биологически активными веществами.

Основываясь на опыте специалистов ТОО «SPA-SKY Production» и по договоренности об использовании их опыта специалистами исследовательской группы в составе:

1. **Нурумова Нурлана Маратовича** – научного руководителя проекта (доктор медицинских наук, профессор Пармского Университета (Италия), профессор IMARVIPCLINIC. Общий стаж работы 30 лет.)
2. **Постникова Павла Валентиновича** – заместителя руководителя проекта (главный технолог. Общий стаж работы 25 лет.)
3. **Шакенова Диаса Павловича** – лаборанта.

были проведены научно – практические исследования в области создания аналога концентрату «Pavlov Spring» без использования химически синтезированного убихинона производства США на основе 100% местного сырья.

¹«Способ лечения ишемической болезни сердца у постинфарктных больных», патентообладатели: Абдукаримов Б.У., Анаятова З.К., Шокарева Г.В., Маханов Д.И., 24.05.2011 г.

Теоретические изыскания и практические испытания проводились на базе медицинской клиники проф. Нурумова Н.М. в г.Алматы на протяжении 2012-2013 года.

Работа объединяет многолетние исследования, связанные поиском новых БАВ (биологически активных веществ) в растительном сырье, ресурсоведческой оценке местного сырья, выполнением всего цикла работ по созданию технологий получения комплекса БАВ с высоким содержанием убихинона от лабораторных испытаний до опытного и промышленного производства.

Выполненные исследования позволяют создать производство БАВ для фармацевтической, парафармацевтической пищевой и косметической промышленности.

Полученные результаты позволили предположить, что растительный концентрат «Pavlov Spring» сможет превысить аналогичные показатели содержания CoQ10 в конечном продукте и даже превзойти имеющиеся мировые аналоги по инновационности и эффективности, в том числе коммерческой, поскольку разработанная специалистами ТОО «SPA-SKY Production» технология представляет собой сочетание комплекса водоподготовки с использованием самых современных достижений, а также современных технологий экстракции биологически активных веществ.

1.2. ПРАКТИЧЕСКИЕ ВЫВОДЫ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ

Концентрат «Pavlov Spring» представляет собой уникальную биологическую композицию, полученную на основе растений и трав, в том числе лекарственных казахстанского происхождения.

Основным действующим элементом композиции является митохондриальный системный фактор транспорта электронов, присутствующий в клетках живого организма человека и участвующий в качестве носителя электронов в продуцировании АТФ при реакциях окислительного фосфорилирования (убихинон или CoQ10 растительного происхождения). Вспомогательными элементами, усиливающими эффект композиции, являются витамины, биофлавоноиды и минералы.

Кофермент Q (кофермент Q10, убихинон, ubiquinone, coenzyme Q10, coenzyme Q) - это группа коферментов — бензохинонов, содержащих хиноидную группу (отсюда обозначение Q) и содержащих несколько изопрениловых групп (например, 10 в случае кофермента Q10). Убихинон (коэнзим Q10, CoQ10) относится к чрезвычайно распространенным коферментам, который присутствует во всех живых клетках животных, растений, грибов и микроорганизмов. Убихинон является витаминоподобным веществом и синтезируется в организме из аминокислоты тирозин при участии витаминов B₂, B₃, B₆, B₁₂, C, фолиевой и пантотеновой кислот, а также ряда микроэлементов. Это сложный, многоступенчатый процесс, регулируемый несколькими ферментными системами. При дефиците витаминов и микроэлементов, при нарушениях со стороны регулирующих ферментных систем даже вне какой-либо патологии эндогенный биосинтез CoQ10 не обеспечивает потребностей организма. Компенсировать его дефицит, однако лишь частично, может поступление коэнзима Q10 с пищей.

Внутри клеток убихинон локализован в основном в митохондриях. Наибольшее его количество находится в митохондриях клеток таких энергопотребляющих органов, как сердце, печень, почки, поджелудочная железа. Важнейшая функция убихинона — коферментная. Являясь обязательным компонентом дыхательной цепи, CoQ10 осуществляет в митохондриях перенос электронов от мембранных дегидрогеназ на цитохромы.

Не менее важной является другая функция убихинона — антиоксидантная. Убихинон относится к одним из наиболее важных антиоксидантов, поскольку он вырабатывается в самом организме. Особенность CoQ10 - способность постоянно и самостоятельно восстанавливать свою антиоксидантную активность.

Реализация антиоксидантной и коферментной функций CoQ10 определяет его ключевое значение в повышении сократительной способности миокарда и поперечно-полосатой мускулатуры; улучшении кровотока в миокарде; антиаритмическом и гипотензивном действии; повышении толерантности к физической нагрузке, антиатеросклеротическом эффекте; апоптозе и замедлении процессов старения.

В 1955 году был впервые употреблен термин кофермент Q (CoQ) для обозначения вещества, содержащегося практически во всех живых клетках. В 1957-58 годах учеными Фредериком Крейном и Карлом Фолкерсом были получены препараты убихинона и была установлена его химическая структура. В 1965 году проф. Ямамура с сотрудниками впервые применили кофермент Q для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В 1978 году за описание процессов хемиосмотического фосфорилирования Питер

Митчелл удостоен Нобелевской премии в области химии. В 1997 году основан Международный центр по изучению убихинона.

По химической природе кофермент Q имеет сходство в строении молекулы с витаминами E и K и представляет собой 2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинон с изопреновой цепью в 6-м положении. Число остатков изопрена в боковой цепи убихинона в разных организмах варьируется от 6 до 10. Такие варианты кофермента Q обозначают как Co Q6, Co Q7 и т. д. В митохондриях клеток большинства млекопитающих, включая человека, встречается убихинон только с 10 изопреновыми звеньями.

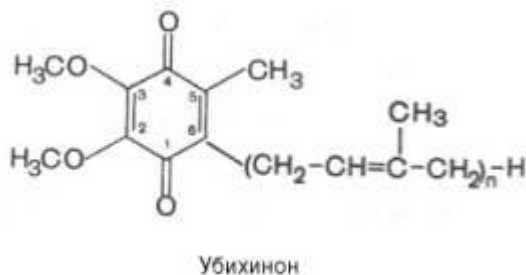


Рис. 1 Химическая формула коэнзима Q10

Кофермент Q в чистом виде представляет собой желто-оранжевые кристаллы без вкуса и запаха. Температура плавления 49-51°C. На свету постепенно разлагается и окрашивается. С водой образует эмульсию с концентрацией 10%, 20% и 40%.

Установлено, что многие биосинтетические и деструктивные процессы сопряжены с механизмами окислительных превращений липидов. Не вызывает сомнения, что процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран представляются наиболее важными с биологической точки зрения. Нарушение регуляции перекисного окисления липидов рассматривают в настоящее время в качестве патогенетического маркера целого ряда заболеваний. С этой позиции изучению биологической роли биоантиоксидантов как факторов, способных регулировать интенсивность пероксидации липидов, уделяется особенно важное внимание.

Вскоре после открытия убихинонов началось изучение возможности применения этих соединений для лечения патологических состояний. Согласно исследованиям, проведенным в различных странах, установлено, что высшие гомологи убихинона, содержащие от 7 до 10 изопреноидных звеньев имеют широкую область терапевтического применения, что связано с их участием в переносе электронов в дыхательной цепи клетки². Логическая схема, предложенная Фолкерсом и соавторами³, исходит из того, что дефицит убихинона (CoQ10) в организме или в отдельных органах вызывает нарушения биоэнергетики клетки, т.е. дефицит убихинона является «болезнью энергии». Существует мнение, что старение (снижение функциональных возможностей сердца и других органов) связано со снижением концентрации кофермента Q. Например, миокард людей старше 60 лет содержит на 40-60% меньше кофермента Q, чем миокард молодых людей. Показано, что к двадцати годам концентрация кофермента Q в миокарде достигает максимума, к сорока годам содержание падает на 30%, а к 60 годам - на 50% от максимального значения.

Нормальный уровень коэнзима Q10 в крови у взрослых составляет около 1 мг/мл. Для получения терапевтического эффекта взрослым требуется принимать не менее 100 мг/день, что приведет к увеличению уровня кофермента в крови приблизительно до 2 мг/мл или более. Употребление такого количества коэнзима Q10 с обычными продуктами затруднено.

С другой стороны, возраст не является единственной причиной снижения содержания кофермента Q в организме. Снижение концентрации кофермента Q в организме может происходить и при различных заболеваниях. Некоторые исследователи связывают дегенеративные заболевания (атеросклероз, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера) с недостатком естественного синтеза кофермента Q. Дефицит кофермента Q может также возникать при гипертиреозе, гепатитах, бронхиальной астме. Необходимо учитывать, что расход убихинона прогрессивно возрастает при физических и эмоциональных нагрузках, при частых простудных заболеваниях и при хроническом стрессе, обуславливая высокую вероятность развития его дефицита.

²КоньИ.Я., Горгошидзе Л.Ш., Васильева О.Н., Кулакова С.Н. // Биохимия -1986 V.51- №1 P.70-76.

³Folkers K. //Lenaz.G. ed Chichester 1985 - p. 379-407

Наиболее изучено влияние CoQ10 на сердечно-сосудистую систему. Почти 30-летний опыт клинических исследований его применения у тысяч больных убедительно доказывает существенную роль дефицита убихинона в развитии кардиологической патологии. Показано, что если уровень CoQ10 падает на 25%, то клетки испытывают дефицит энергии и ухудшается биоэнергетический метаболизм сердечной мышцы. Снижение содержания CoQ10 на 75% приводит к гибели клеток.

Многие исследователи считают, что по своей биохимической значимости убихиноны эквивалентны АТФ, НАД и цитохромам⁴. Проведенные исследования показали, что убихинон (CoQ10) улучшает нарушенный метаболизм сердечной мышцы, повышает интенсивность кровотока независимо от частоты пульса, одновременно понижает сопротивление периферических сосудов. Механизм действия убихинона отличается от такового препаратов дигиталиса или диуретиков, убихинон не оказывает токсического действия, присущего этим группам лекарственных средств. Поэтому убихинон (CoQ10) оказался перспективным кардиотоническим средством для лечения ишемической болезни сердца⁵.

В исследовании J. Kaikkonen и K. Nuyssonen установлено, что CoQ10- эффективный плазменный антиоксидант, регенерирующий плазменный витамин Е. Словацкие ученые F. Gazdik и A. Gvozdjakova изучили уровни CoQ10, α -токоферола, β -каротина и малонового диальдегида (МДА) у пациентов с бронхиальной астмой. Уровни α -токоферола и CoQ10 в плазме крови были значительно снижены по сравнению со здоровыми добровольцами, а МДА были увеличены. Авторы пришли к выводу, что CoQ10 играет важную роль в антиоксидантном балансе и его применение при бронхиальной астме может быть рациональным.

CoQ10 воздействует на метаболизм энергии в мышцах пациентов с полиомиелитом, хотя механизм этого эффекта неясен. Возможным является влияние CoQ10 на периферическое кровообращение в мышцах, митохондриальное фосфорилирование и/или антиоксидантный эффект CoQ10.

Учитывая многочисленные исследования, использование убихинона широко практикуется при язве желудка, для терапии эмфиземы легких, простатомегалии, облысении, в качестве хорошего радиопротекторного препарата, для лечения бронхиальной астмы, для усиления функции поджелудочной железы и др. заболеваний.⁶

Особо должна быть отмечена способность CoQ10 «уменьшать» токсичность лекарств. Многие используемые современной медициной препараты оказывают нежелательное ингибирующее действие на дыхательную цепь митохондрий. При этом установлено, что местом действия подобных фармакологически активных соединений обычно являются те же участки дыхательной цепи, в которых осуществляется перенос электронов между CoQ10и другими электронными переносчиками. Следовательно, если в организм ввести дополнительное количество CoQ10, то токсичность лекарств может быть существенно уменьшена.

Поскольку исключить контакт человека с мутагенными факторами практически невозможно, важное значение приобретает поиск природных антимутогенов, способных предотвратить генотоксичное действие внешнесредовых факторов. С данной точки зрения интерес представляют лекарственные растения, использование которых значительно возросло в последние годы. И это не случайно, так как для биологически активных веществ, содержащихся в растениях, характерны низкая токсичность и алергогенность, комплексное воздействие на организм, возможность длительного применения без побочных эффектов.

Отдельные примеры влияния растительных биологически активных комплексов на мутационный процесс демонстрируют перспективы подобного рода исследований⁷.

Таким образом, многочисленные экспериментальные и клинические мировые исследования показывают перспективность терапии убихиноном заболеваний, связанных с нарушением биоэнергетики клетки и сопровождающихся недостаточностью убихинона CoQ10 в клетке. В этой связи представляется

⁴Dunphy P.I. Brodie A.F. // Method in Enzymology. 1971 - v. 18 - p. 654-659

⁵Folkers K., Watanabe T., Kaji M., J. Molec. Med., 1977, v.2

⁶Патент №4684520 (США), 1987г., Патент №4707360 (США), 1987г., Патент №4778798 (США), 1988г., Патент №4959212 (США), 1990г., Патент №5378461 (США), 1995г.

⁷Басова Е.В. Химико-фармакологическое изучение багульника болотного: Автореф. Дис. .канд.фарм.наук / Е.В. Басова. Томск, 2004. - 22 с., Ефимов С.Н. Антимутагенная активность лекарственных растений Сибирского региона / С.Н. Ефимов, С.И. Дмитрук, Н.Н. Ильинских // Бюллетень Сибирской медицины. 2004. - Т.3, -№3. - С. 17-26., Хабибулина В.М. Антимутагенные, свойства: бета-каротин содержащих препаратов: Автореф. дис. канд. биол. наук. / В;М. Хабибулина. Казань, 1998.-20с.

важным отметить тот факт, что проводились эксперименты по исследованию антимуtagenных свойств убихинона CoQ10, полученного биотехнологическим путем. Показано, что убихинон CoQ10 не обладает собственным мутагенным эффектом, не потенцирует действие ряда мутагенов - ксенобиотиков, в реализации цитогенетических эффектов которых ведущая роль связана с процессами свободно радикального окисления. Антимуtagenная активность убихинона CoQ10 проявляется в широком диапазоне концентраций, для данного антиоксиданта отсутствует возможность инверсии защитного действия, что составляет его очевидные преимущества по сравнению с другими антиоксидантами (например аскорбиновая кислота), для которых характерна дозозависимая смена антимуtagenного эффекта на мутагенные и мутаген-потенцирующие⁸. Кроме того, в последнее время получены интересные данные о взаимодействии некоторых групп антиоксидантов, в частности, показано, что каротиноиды увеличивают свою антиоксидантную активность при совместном действии с другими жирорастворимыми антиоксидантами - α -токоферолом и коэнзимом Q10.

Поэтому поиск корректоров мутагенных эффектов незаменимых ксенобиотиков из растений в качестве профилактических средств защиты генетических структур человека от мутагенных воздействий является актуальной задачей. В пользу актуальности указанной проблемы также свидетельствует крайне малая степень изученности данной проблематики.

Полученные из природных объектов биологически активные вещества, в том числе убихинон CoQ10, на мировом рынке находят наибольший спрос в пищевой и фармацевтической промышленности, так как обладают наилучшей усвояемостью и считаются наиболее экологичными.

Создание и использование в рационе питания пищевых добавок, содержащих каротиноиды, убихиноны, полиненасыщенные жирные кислоты, некоторые фосфолипиды и витамины группы D, обладающих лечебно-профилактическим действием, позволяет повысить уровень адаптационной защиты организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды на организм человека и снизить риск развития злокачественных новообразований и ряда других опасных заболеваний.

На основании медико-биологических исследований во многих индустриально развитых странах мира во второй половине XX века были разработаны технологии и организовано большое количество промышленных производств указанных выше биологически активных веществ (БАВ). Наибольшее количество технологий и научных статей по проблемам получения и применения (3-каротина, убихинонов, эргостерина опубликовано в Японии, США, России, ФРГ, Великобритании, Италии и ряде других стран. Биотехнологическими способами в России уже в течение длительного времени получают [3-каротин из биомассы гриба *Blakeslea trispora*, и эргостерин из дрожжей рода *Sacch. cerevisiae* или *Sacch. Carlbergensis*. Российскими специалистами предложен ряд методов химического синтеза убихинонов и их аналогов, а также биотехнологические методы получения высших гомологов убихинона из липидов дрожжей рода *Candida* и из биомассы бактерий *Gluconobacter*. Для одновременного получения эргостерина и убихинонов предложены способы использования дрожжей рода *Candida* и некоторые другие. Значительное количество технологий предложено российскими специалистами по получению фосфолипидов и убихинонов из растительных (подсолнечное и кукурузное масло, некоторые виды морских водорослей) и животных (некоторые виды морских животных и рыб) клеток.

Однако, высокая потребность в указанных БАВ, выявленные недостатки в существующих методах получения БАВ, значительные негативные изменения, происходившие в начале 90-х годов XX столетия в промышленном (в т.ч. биотехнологическом) секторе экономики постсоветских стран, необходимость совершенствования существующих технологических схем определили актуальность проведения исследований по созданию технологии комплексного получения гаммы БАВ из растительного сырья казахстанского происхождения. Организация отечественного производства на основе ценных липофильных веществ позволит расширить ассортимент биологически активных веществ для применения в пищевой промышленности Казахстана, с целью профилактики онкологических, радиологических и большого числа других заболеваний. Кроме того, данные БАВ (Р-каротин, убихиноны, биофлаваноиды различных групп) находят широкое применение в косметической промышленности, фармакологии и медицине.

⁸Дурнев А.Д., Середенин С.Б., Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий) М., Медицина 1998 - 328 стр. Георгиев В.Н. Фармакологическое изучение антимуtagenных свойств убихинона-10 (Q-10): Автореф. дис. канд. биол. наук / В.Н. Георгиев. -Москва, 1994.-24с., Георгиев В.Н. Убихиноны и антимуtagenная защита организма / В.Н. Георгиев, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин // Вопросы медицинской химии., М.: Медицина 1994.-№5. - С.8-9.

Растительный концентрат «Pavlov Spring» помимо убихинона CoQ10, содержит также активные биовещества, которые в совокупности усиливают эффективность концентрата, обеспечивая синергическое действие парафармацевтика на организм человека.

- витамины группы В (В₂- рибофлавин, В₆- пиридоксин) - группа водорастворимых витаминов, играющих большую роль в клеточном метаболизме. В₂- рибофлавин участвует во всех видах обменных процессов. Особенно важную роль играет в обеспечении зрительных функций, нормального состояния кожи и слизистых оболочек, синтезе гемоглобина. В₆- пиридоксин участвует в процессах углеводного обмена, синтезе гемоглобина и полиненасыщенных жирных кислот, способствует регуляции активности нервной системы; регенерации эритроцитов, образованию антител.

- биофлавоноиды - это крупнейший класс растительных полифенолов, которые поступая с пищей в организм человека участвуют в окислительно – восстановительных процессах и способствуют нейтрализации свободных радикалов.

- витамины группы Р – рутин, кверцетин и др. - флавоноиды, которые совместно с аскорбиновой кислотой участвуют в окислительно-восстановительных процессах, а также увеличивают эластичность капилляров и снижает их проницаемость.

- кальция пантотенат - пантотеновая кислота, попадая в организм, превращается в пантетин, который входит в состав кофермента А, который играет важную роль в процессах окисления и ацетилирования. Важнейшим свойством является способность стимулировать производство гормонов надпочечников - глюкокортикоидов, что делает его мощным средством для лечения таких заболеваний как артрит, колит, аллергия и болезни сердца. Играет важную роль в формировании антител, способствует усвоению других витаминов, а также принимает участие в синтезе нейротрансмиттеров.

Таблица № 1 Соотношение химических элементов в готовом концентрате «Pavlov Spring» по результатам анализа образцов

Наименование	Результат не менее
Убихинон (кофермент Q-10)	6,84 мг/мл
Витамин В2	0,47 мг/мл
Витамин В6	0,003 мг/мл
Биофлавоноиды (качественная реакция)	положительно
Сумма биофлавоноидов	0,745%
Витамин Р (рутин)	0,37 мг/мл
Кальция пантотенат	0,012 мг/мл

Источник: на основании научно-исследовательских работ ТОО «SPA-SKY Production»

Область применения данного продукта очень обширна:

- в медицинской промышленности – для поиска и разработки новых методов, средств лечения и профилактики ишемической болезни сердца, атеросклероза, сосудов головного мозга, профилактики онкологических (раковых) заболеваний;

- в фармацевтической промышленности – для изготовления лекарственных средств, таблеток, растворов, предназначенных для повышения иммунитета человека к различным заболеваниям, профилактики и комплексного лечения состояний эмоционально-психического и физического истощения, реабилитации после различных инфекционных заболеваний, гипоксии, органических поражений сердечной мышцы, нарушений обмена веществ.

- в пищевой промышленности – для изготовления функциональных напитков и других продуктов, обладающих противораковым, иммуностимулирующим и антибактериальным, симптоматическим, гипохолестеринемическим, детоксикационным и омолаживающим эффектами. Концентрат «Pavlov Spring» может использоваться для обогащения воды, соков, молочных продуктов, хлебобулочных изделий и других пищевых продуктов. В начальном этапе планируется организовать производство минерально-столовой воды обогащенной концентратом.

Таблица № 2 Органолептические характеристики концентрата растительного «Pavlov Spring»

характеристика	описание
Внешний вид	Не прозрачный, темно-коричневого цвета - слегка тягучая жидкость без осадка и посторонних включений. Допускается легкая опалесценция, обусловленная особенностями используемого сырья.
Цвет	Свойственный применяемому сырью
Вкус и аромат	Свойственный применяемому сырью, без постороннего привкуса и аромата
Способ обработки	Облучением концентрированным солнечным светом

Источник: на основании научно-исследовательских работ ТОО «SPA-SKY Production»

Таблица № 3 Физико-химические показатели концентрата растительного «Pavlov Spring»

наименование	значение
Массовая доля сухих веществ, %, (после полной инверсии), не менее	30
Кислотность, см ³ раствора гидроксида натрия концентрацией 1 моль/дм ³ на 100 см ³ концентрата	0,1-6,0
Массовая доля спирта, % не более	30
Минеральные примеси	Не допускаются

Источник: на основании научно-исследовательских работ ТОО «SPA-SKY Production»

Концентрат «Pavlov Spring», как стимулятор защитной энергии, обеспечит нормальное усвоение любых продуктов питания, будет способствовать профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, замедлению процессов старения, восстановлению обменных процессов,

Также с целью апробации технологий была предпринята попытка производства **прототипа минерально - столовой воды**, структурированной с помощью новейших биофизических технологий и обогащенной растительным концентратом «Pavlov Spring». Основные конкурентные преимущества продукта – это синергичное сочетание положительного эффекта для организма, полученного в результате применения технологий специальной водоподготовки с учетом результатов современных существующих биофизических технологий и биохимического эффекта применения растительного концентрата с заданными свойствами и высоким содержанием убихинона CoQ10.

Как известно, с целью улучшения качества в продукты питания часто добавляются антиоксиданты природного происхождения, такие как дегидрохверцетин, кверцетин, аскорбиновая кислота, рутин. Самой используемой добавкой к различным напиткам и пищевым продуктам для профилактического питания является аскорбиновая кислота. Из синтетических препаратов наиболее известным препаратом является «митофен» – натриевая соль поли-(пара-диокси-пара-фенилен)тиосерной кислоты. Митофен – это антигипоксант-антиоксидант пролонгированного действия с величиной АОЕ 92,6 кКл/100 г⁹. Структурными аналогами митофена являются цитохром С, коэнзим Q10, солкосерил, биофен, олифен и гипоксен. Эти препараты рекомендуются для использования практически всем социальным группам населения, в особенности живущим в дискомфортных условиях, в условиях стресса и депрессии. Для восполнения запасов убихинона, когда имеется тенденция к снижению его содержания и недостаточности в результате старения и стрессов, на практике уже используют данное вещество для лечения в качестве лекарственного препарата или пищевой добавки в виде таблеток или капсул для здоровых или относительно здоровых людей, у которых имеется слабая и количественно не определенная недостаточность, и подобных людей. Однако, по мнению многих экспертов, удобнее принимать данное вещество как обычный пищевой продукт, чем принимать в виде таблеток или капсул. Кроме того, в случае пищевых продуктов, можно создавать продукты, имеющие различные вкусовые свойства и формы, что предоставляет большое преимущество в том, что потребителю не надоест потреблять эти продукты. Наиболее распространенным продуктом в современном мире, подвергаемом обогащению, является питьевая вода. Предлагаемый концентрат «Pavlov Spring», как стимулятор защитной энергии, обеспечит нормальное усвоение любых продуктов питания, будет способствовать профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, замедлению процессов старения, восстановлению обменных процессов, профилактике и лечению синдромов хронической усталости, различных стрессов.

⁹А.А. Лапин, М.Ф. Борисенков, А.П. Карманов, И.В. Бердник, Л.С. Кочева, Р.З. Мусин, И.М. Магдеев «Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения», Химия растительного сырья, 2007.№2.С. 79–83.

На основании проведенных исследований разработана технология комплексной переработки растительного сырья методом противоточной экстракции с использованием воды, прошедшей магниторезонансную и хроматографическую обработку.

Данная технология позволяет получать в едином технологическом процессе несколько ценных целевых продуктов натурального происхождения: Р-каротин, убихиноны, витамины группы В и биофлаваноиды. При этом достигается более полное использование сырья, что делает данную технологию конкурентоспособной на рынке производства БАВ.

Разработанные методы получения водорастворимых форм убихинонов, полученных из биомассы растений позволяют существенно расширить область применения и способы введения в организм данных биологически активных веществ.

Апробация работы. Исследования проводились в соответствии с тематическим планом на базе медицинской клиники проф. Нурумова Н.М. в г.Алматы на протяжении 2012-2013 года.

II. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИННОВАЦИИ

2.1. АНАЛИЗ СУЩЕСТВУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАТОВ, ЭМУЛЬСИЙ И РАСТВОРОВ С СОДЕРЖАНИЕМ СОQ10

Положительные результаты по исследованию биологической активности и терапевтическому действию убихинонов и других биологически активных веществ привели к расширению мировых исследований по разработке их методов получения.

К основным методам, которые используются в настоящий момент для получения убихинона или продуктов с его содержанием, можно отнести:

- методы химического синтеза;
- методы выделения из различных природных объектов (растительных и животных клеток);
- биотехнологические методы (биомасса бактерий).

Первоначально убихиноны было предложено изолировать из сердца крупного рогатого скота¹⁰. Специалистами НИИ рыбного хозяйства СССР предложен способ получения убихинона-9 из сырья животного происхождения (печень окуня или севуча)¹¹, в соответствии с которым проводится омыление биомассы раствором гидроксида калия в метаноле в присутствии пирогаллола и трихлорэтилена. После омыления смесь отстаивают и отделяют нижний трихлорэтиленовый слой, и повторно экстрагируют неомыляемую фракцию трихлорэтиленом. Объединенный экстракт промывают водой, упаривают, полученную фракцию разделяют методом адсорбционной хроматографии и целевой продукт кристаллизуют в абсолютном этаноле. Большое количество технологий по получению биологически активных веществ (БАВ) из животных тканей посвящено выделению их из гидробионтов морских и пресноводных акваторий, особенно таких беспозвоночных животных, как ракообразные, моллюски, иглокожие (морские огурцы, морские ежи), отличающихся от многих наземных и водных организмов значительным разнообразием метаболитов, среди которых доминирующая часть представлена функциональными соединениями - каротиноидами, фосфолипидами, сапонинами, полиненасыщенными жирными кислотами¹². Однако, такие технологии носят, как правило, сезонный характер и являются более дорогостоящими, так как содержание ценных веществ значительно ниже, чем в некоторых микроорганизмах и растительных объектах.

В некоторых случаях в качестве конечного продукта для получения убихинона фигурирует биомасса микроорганизмов, содержащая целевые биологически активные вещества, тогда вместо этапа выделения, присутствуют стадии инактивации и сушки биомассы¹³. На первой стадии технологии получения

¹⁰Liks I.O., // Bioch. Et Biophys. Acta 1963 - v.73 - №3 - P.349-366

¹¹А.С. №465812 (СССР), Кл. А 61 К 15/05, 1967

¹²Авилов С.Л., Калинин В.И., Дроздова О.А., и др. // Химия природных соединений. 1993. - № 2. - С.49-52, Ohshima T. // Food technology. 1998. - V.52. - №6. - P.50-54, Jack D., // Lancet. 1998. - V.352. - P.704-710.

¹³Производство убихинона-10 из отходов стадии микробиологического получения сорбозы/ Н.Татарина, Л.Коган, Е.Детина, Е.Обольникова// Сборник научных трудов ВНИВИ НПО «Витамины». - Москва, 1990. - С.94-101.

жирорастворимых БАВ из биомассы микроорганизмов необходимо создать определенные условия культивирования с целью накопления продуцентом целевых компонентов в максимально возможных концентрациях. Разработанные способы выделения убихинонов, каротиноидов, фосфолипидов, эргостерина, жирных кислот из биомассы микроорганизмов, как правило, включают следующие стадии: экстракции, кристаллизации или осаждения, омыления биомассы или липидов раствором щелочи¹⁴. Методы, основанные на непосредственном омылении биомассы, имеют серьезный недостаток, заключающийся в том, что в данном случае возможно получение только одного целевого продукта – убихинона. Американскими исследователями раньше японских и российских исследователей был запатентован биотехнологический способ получения убихинона-10 с использованием бактерий рода *Pseudomonas* и *Proteus*. Несмотря на приоритет в биотехнологическом направлении получения убихинона-10, американскими фирмами не было организовано промышленного производства этого продукта для медицины. В данном направлении японскими фармацевтическими фирмами были проведены достаточно крупномасштабные исследования, которые успешно завершились организацией биотехнологического производства убихинона-10 в Японии и по японским лицензиям в Западной Европе. В настоящее время запатентованы микробиологические процессы получения убихинонов, содержащих от 7 до 11 пренильных единиц. Разработаны методы получения убихинонов из микроорганизмов относящихся к родам *Candida*, *Hansenula*, *Pseudomonas*, *Methylomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*¹⁵.

Японскими фирмами «Ниссин», «Кева», «Тое» и «Асахи» запатентованы способы экстракции убихинонов из биомассы втор-бутиловым и третиамилловым спиртами, которые обеспечивают более эффективное извлечение целевого продукта. Для очистки экстракта убихинона от примесей фирмой «Мицубиси» запатентован процесс, включающий обработку раствора кофермена Q в гидрофобном растворителе раствором гидроокиси аммония в спирте. Одним из наиболее эффективных методов очистки является метод адсорбционной хроматографии. Фирмой «Мицубиси» разработаны способы очистки убихинонов с использованием силикагеля и растворов метил-трет-бутилового эфира и алифатического кетона в неполярных растворителях. Фирмой «Дзедэ» разработан способ очистки коферментов, который включает адсорбцию убихинонов из спиртового или водно-спиртового экстрактов крупноячеистым сополимером стирола и дивинилбензола. Завершающей операцией по очистке убихинонов в большинстве опубликованных патентов является кристаллизация целевого продукта из органического растворителя. В запатентованных технических решениях зарубежными исследователями и фирмами, как правило, используются штаммы микроорганизмов, выращиваемых в стерильных условиях на дорогостоящих средах, в которые добавляют биостимуляторы, экстракты, полученные из пищевых продуктов.

Такие вещества как коэнзим Q10, токоферол, изофлавоны, витамин А и т.д. являются липофильными и в отличие от водорастворимых веществ, таких как аскорбиновая кислота, они биологически доступны только в небольших количествах и, к тому же, по технологическим причинам они могут быть лишь весьма ограниченно использованы в традиционной пищевой сфере. Благодаря своим липофильным свойствам, CoQ10 частично растворим в составах на основе масел. Соответственно, из таких составов он лучше усваивается после приема пищи и его уровень в крови относительно высок. Однако некоторые авторы установили, что в этом случае CoQ10 быстро выводится из организма с мочой. Поэтому физиологические эффекты ниже, чем можно было бы ожидать. С другой стороны, полагают, что CoQ10, растворенный в водной среде, быстро усваивается клетками, например мышечными. Следовательно, он гораздо медленнее выводится из организма и, соответственно, действует более длительное время. Чистый CoQ10 практически нерастворим в воде, поэтому его биологическая усвояемость низка. Для эффективного применения CoQ10 в качестве пищевой добавки или в виде отдельных препаратов необходима форма, обеспечивающая повышенную растворимость в воде, а также улучшенную биологическую усвояемость и эффективность. Исследования показали прямую связь между скоростью растворения и биологической усвояемостью CoQ10. Растворимость в воде особенно важна для местного применения, например в полости рта, на коже, внутримышечно и т.п.

По этой причине некоторые авторы делали попытки различными путями увеличить растворимость CoQ10 в воде, чтобы повысить его биологическую усвояемость и эффективность. В «БиоТакенака Фарм.» (Япония) была разработана специальная методика для повышения растворимости CoQ10, известная как «Bio-Coenzyme Q10 gum». Методика основана на сочетании с другими ферментами и обеспечивает хорошую растворимость и существенно более высокую биологическую усвояемость. Препараты на этой

¹⁴Патент №55-85393 (Япония), 1980

¹⁵Патент №56-31117 (Япония), 1981, Патент №57-41903 (Япония), 1982, Патент №58-30038 (Япония), 1983, Патент №58-67119 (Япония), 1983, Патент №60-15319 (Япония), 1985

основе предлагаются на рынке «Кампояки Ресеч СДН БХД»(Малайзия) в форме гелей, таблеток или капсул. Сочетание с ферментами делает эту методику относительно трудной, дорогой и требовательной к точному соблюдению параметров технологического процесса.

Однако, вплоть до настоящего времени проблема получения приемлемой растворимой формы коэнзимов Q, особенно CoQ10, не решена, что доказано глубоким исследованием существующей патентной базы. По мнению специалистов ТОО «SPA-SKY Production» эти проблемы можно решить, разрабатывая прогрессивные технологии переработки растительного сырья, обеспечивающие максимальное извлечение биологически активных веществ (БАВ), и используя определенный вид фитосырья - биомассу лекарственных и полезных растений с использованием метода экстракции. Биологически активные вещества растительного происхождения принадлежат к продуктам вторичного обмена, которые называют вторичными метаболитами или вторичными продуктами биосинтеза. В настоящее время известно более 100000 вторичных метаболитов, продуцируемых растениями. Многие из них являются практически, экономически важными продуктами и используются в фармакологической, косметической, пищевой промышленности. В отношении использования растительного биосырья с целью получения продукта с содержанием убихинона в настоящее время ведутся широкие исследования, а также налажено промышленное получение ряда ценных веществ из растительной биомассы методом *in vitro* (в пробирке). Хорошо налажен в Японии выпуск таких лекарственных препаратов как шикоин (из воробейника аптечного), убихинон (из табака), дигоксин (из наперстянки шерстистой), диосгенин (диоскорея дельтовидная)¹⁶. Также в результате многолетних исследований учеными ГНУ ВНИИТТИ РФ было выделено несколько наиболее перспективных областей использования табака для получения убихинона путем химического синтеза из полиизопреноидного спирта – соланезола. Этот компонент табака, входящий в свободном виде или в виде сложных эфиров с жирными кислотами в состав листьев табачного растения и отсутствующий в цветках и стеблях табака, представляет значительный интерес для фармакологии. Соланезол может использоваться в качестве источника изопреновых единиц для синтеза метаболически активных хинонов, в том числе – убихинона-10. Неочищенный концентрат соланезола, получаемый в Индии из табачных отходов и содержащий 10-15% соланезола, продается также и в Японии по цене 11-13 долларов за кг. В последние годы индийские исследователи разработали экономичный процесс получения более богатого соланезолом (~ 70%) концентрата, цена которого составляет уже 150-160 долларов за кг. Из культуры клеток табака был выделен убихинон-10, содержание которого дает основание предположить о возможности использования этого источника убихинона для его крупномасштабного получения.

Учитывая высокую привлекательность промышленного получения биологически активных веществ, этому направлению посвящено большее число публикаций и патентов. Поиск наиболее перспективных видов получения биологически – активных веществ, в том числе убихинона до сих пор осуществляется в разных странах. Результаты патентного поиска выявили, что аналогов технологии получения убихинона из растительного сырья в Казахстане и в других странах нет. Проведенные патентные исследования подтверждают, что разработанные авторами проекта технологические решения действительно имеют признаки новизны и могут быть заявлены на патентование как полезная модель для медицинской, фармацевтической и пищевой промышленности. Аналогичных патентов с таким широким спектром полезного действия в Казахстане и за рубежом пока нет.

Таблица № 4 Анализ существующей патентной базы по способам промышленного получения композиций с содержанием убихинона (примеры некоторых патентов)

№	№ патента	Название патента	Дата публикации	Патентообладатель	Краткое описание
1	RU 2022020	Способ получения убихинона - 10	30.10.1994	НПО «Витамины» (RU)	класс C12P7/66, C12N9/00. Изобретение относится к микробиологической промышленности, а именно к способу получения убихинона-10 (кофермента O10), используемого в медицине для лечения ряда заболеваний, а также в качестве реактива при проведении научных исследований. Сущность изобретения: способ получения убихинона - 10, предусматривающий культивирование продуцирующего микроорганизма-штамма дрожжей <i>Cryptococcus curvatus</i> ВКМ 2230 в

¹⁶Kanasawa M., Takanashi T. Coenzyme Q by fermentation in biomedical and clinical aspect of coenzyme Q North-Holland: Biomedical Press. 1981. -p.311.

№	№ патента	Название патента	Дата публикации	Патентообладатель	Краткое описание
					аэробных условиях в присутствии источника углерода, минеральных источников азота, фосфора, глюкозы, дрожжевого экстракта, этанола
2	RU 2437584	Концентрат убихинона Q10 и α -липовой кислоты и способ его производства	27.09.2008	АКВАНОВА ДЖЕРМЕН СОЛЮБИЛИСЭЙТ ТЕКНОЛОДЖИЗ (АДЖТ) ГМБХ (DE)	класс А61К31,А23L1/30. Описан безводный концентрат, способствующий снижению веса, полученный способом, в котором сначала приготавливают солюбилизат из Q10, полисорбата 80 и среднепочечного триглицерида или смеси триглицеридов. Затем приготавливают солюбилизат из α -липовой кислоты и/или ее производных и полисорбата 80 или полисорбата 20. После чего солюбилизат Q10 смешивают с солюбилизатом α -липовой кислоты и/или ее производных и смесь перемешивают до получения гомогенной массы. Концентрат состоит из убихинона Q10, среднепочечного триглицерида или смеси триглицеридов, α -липовой кислоты и/или ее производных, а также по меньшей мере одного эмульгатора с показателем HLB (гидрофильно-липофильный баланс) от 9 до 19, который является полисорбатом 20 или полисорбатом 80.
3	SU 950394	Способ получения убихинона	15.08.1982	Институт биохимии им. А.В.Палладина	Изобретение относится к медицинской промышленности и касается технологии получения биологически активных веществ, в том числе убихинона из сырья животного происхождения. В качестве сырья используют печень сельдевой акулы.
4	RU 2343725	Способ получения активной добавки к пище для оздоровления организма	20.01.2009	Сергеева Елена Геннадиевна (RU), Яковлев Роберт Михайлович (RU)	Класс А23L1/30. Изобретение относится к пищевой промышленности и предназначено для реализации в производстве сухих пищевых добавок и может быть использовано в качестве профилактики атеросклероза, а также общеукрепляющего и повышающего работоспособность средства. Способ заключается в том, что осуществляют быстрое замораживание сырья растительного или животного происхождения в холодильной установке при температуре не более -70°C . Далее проводят криодеструкцию замороженного сырья до микросом размером до 1-5 микрон. Затем производят суспензирование мелкодисперсных фракций в этаноле или эфире в соотношении 1:3-1:10, при длительности экспозиции - 60-180 минут. Далее осуществляют послойное аналитическое центрифугирование. В полученную в результате центрифугирования надосадочную жидкость с экстрагированными хинонами добавляют консерванты и осуществляют выпаривание растворителя до получения сухого остатка в виде активной добавки, включающей убихинон.
5	RU 2411027	Нанодисперсная композиция с коэнзимом q10 и способ ее получения	10.02.2011	Пация Мераби Георгиевич (RU)	класс А61К8/04, А61К31/122, В82В1/00. Изобретение относится к пищевой, фармацевтической и косметической промышленности и касается новой водорастворимой формы коэнзима Q10 в виде твердой нанодисперсной системы с

№	№ патента	Название патента	Дата публикации	Патентообладатель	Краткое описание
					повышенной биодоступностью, полученной объединением биологически активной субстанции с полимерным носителем различными способами. Недостатками является многокомпонентный состав, необходимость использования эмульгаторов и стабилизатора, низкая концентрация коэнзима Q10 в композиции, размер частиц 60-300 нм.
6	RU 2290176	Устойчивая водно – масляная композиция на основе 6 – декапренил – 2, 3 – димекси-5 – метил-1, 4 – бензохинона и способ ее получения	27.12.2006	Общество с ограниченной ответственностью "АКЦЕНТ" (RU)	Изобретение относится к химии и медицине и может быть использовано в медицине для профилактики и лечения различных заболеваний, а также для восстановления работоспособности. Способ получения указанной композиции заключается в том, что определенные количества неионогенного поверхностно-активного вещества и антиоксидант смешивают, нагревают до 40-120°C, растворяют в полученном растворе необходимые количества жирорастворимого стабилизатора эмульсии и 6-декапренил-2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинона и полученную смесь при интенсивном перемешивании переливают в предварительно нагретый до 30-100°C смешанный раствор водорастворимого стабилизатора эмульсии и консерванта в воде.
7	RU 2304573	Способ стабилизации восстановленного кофермента q10и композиция на его основе	27.04.2007	КАНЕКА КОРПОРЕЙШН (JP)	Настоящее изобретение относится к биотехнологии. Способ предусматривает культивирование микроорганизмов в аэробных условиях при 15-45°C и pH 4-9, присутствует необязательное разрушение клеток и экстрагирование восстановленного кофермента Q10.
8	RU 2289954	Биологически активная добавка к пище (варианты)	27.12.2006	Брагинцева Лидия Михайловна (RU), Устынюк Тамара Кирилловна (RU), Коваленко Вера Алексеевна (RU) публикация патента	Изобретение относится к пищевой промышленности и может быть использовано как биологически активная добавка (БАД) к пище в качестве общеукрепляющего и повышающего работоспособность средства. Способ получения биологически активной добавки состоит в выращивании штамма гриба глубинным способом в жидкой питательной среде, содержащей источники углерода 3-4%, азота 0,2-0,3%, фосфора 0,2-0,3% и микроэлементы 0,07-0,08% в стерильных условиях при температуре 26-30 градусов С, при перемешивании и аэрации в течение 36-72 часов. Затем отделяют биомассу от водного раствора, который используют для приготовления БАДов. Биомассу экстрагируют в среде водного этанола 30-70% четыре раза последовательно, настаивая в течение 5 суток, извлекая биологически активные вещества - фосфолипиды, убихинон Q10, бета-глюкан. Недостатком этой биологически активной добавки является низкое содержание антиоксидантов, т.е. убихинона Q10, а также отсутствие очень важных для организма человека микроэлементов, таких как магний, цинк, марганец.
9	RU 2375053	Новая водорастворимая форма коэнзима q10	10.12.2009	КЕМИЙСКИ ИНСТИТУТ (SI)	Изобретение относится к фармацевтической, косметической и пищевой промышленностям и представляет собой способ получения

№	№ патента	Название патента	Дата публикации	Патентообладатель	Краткое описание
		в форме комплекса включения с бета-циклодекстрином, способ ее получения и ее применение			водорастворимой формы коэнзима Q10, представляющей собой комплекс включения β-циклодекстрина с коэнзимом Q10, в котором молярное соотношение β-циклодекстрина и коэнзима Q10 составляет примерно 1:1, отличающийся тем, что β-циклодекстрин растворяют в воде при температуре от 30°C до температуры кипения, предпочтительно от 55°C до температуры кипения, затем коэнзим Q10 добавляют в твердом виде и продолжают перемешивание при температуре 60-70°C, а затем при комнатной температуре. Изобретение обеспечивает повышение растворимости в воде заявленной водорастворимой формы, улучшение биологической усвояемости и эффективности.
10	RU 2278154	Антиоксидант	20.06.2006	Коротченко Владимир Иванович (RU)	Изобретение относится к пищевой промышленности и биохимии, а именно к антиоксидантам для масляной и жировой продукции. Антиоксидант представляет собой масляный экстракт зверобоя, который получен путем экстракции измельченной травы зверобоя растительным маслом в соотношении 1:1 и выдерживания при температуре 18-20°C.
11	2271213	Комбинированные композиции, содержащие экстракты из растений и морских животных	27.03.2004	ОЛЬСОН Бенгт Кристер (DK)	Группа изобретений относится к медицине, точнее к косметологии, и касается композиции по уходу за кожей. Композиция, которая содержит хрящевой экстракт, экстракт из семян винограда и экстракт из томатов, обладает антиоксидантным действием и ингибирует образование свободных радикалов.

Источник: <http://www.freepatent.ru/>

Особо необходимо отметить, что работа с технологиями получения убихинона Q10 и последующем его применении в лекарственных препаратах активно ведется в РФ через структуры РосНано. К таким проектам относится в частности проект «Митохондриальные технологии», который был запущен в 2013 году. Проект продлится до 2020 года и предусматривает финансирование в размере 3 млрд. рублей, в том числе в 2013 – 2015 годах 450 млн. рублей. Комплексный проект «Митохондриальные технологии» направлен на разработку и внедрение инновационных технологий, в первую очередь нацеленных на борьбу с возрастными патологиями и процессом старения организма. В рамках проекта будут создаваться лекарственные препараты, несущие в себе комбинацию двух типов действующих факторов – 1) прерывающих деструктивные клеточные программы и 2) замедляющих возрастные нарушения работы систем, осуществляющих контроль качества клеточных механизмов (quality control machinery). На 2013 год ядром комплексного проекта «Митохондриальные технологии» является входящий в него проект «Разработка инновационных лекарственных средств на основе митохондриально-направленных антиоксидантов для терапии и профилактики широкого ряда заболеваний, связанных с возрастными изменениями». Предполагается, что в течение ближайших 5-6 лет будут разработаны, выведены на российский фармацевтический рынок и внедрены в клиническую практику новые лекарственные препараты на основе митохондриально-направленных антиоксидантов.

В рамках проекта в 2013 году были выпущены глазные капли «Визомитин» на основе растительного убихинона, которые разработаны при непосредственном участии МГУ им. М.В. Ломоносова.

В настоящее время единственным аналогом продуктов проекта «Митохондриальные технологии» можно считать технологии новозеландской биотехнологической компанией Antipodean Pharmaceuticals. Лучшим веществом-кандидатом Antipodean Pharmaceuticals является антиоксидант MitoQ на основе убихинона. MitoQ существенно менее эффективен как антиоксидант, по сравнению с SkQ – веществами, разработанными проектом «Митохондриальные технологии». Глазные капли «Визомитин» содержат это

вещество в виде пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид (ПДФ) - производным растительного антиоксиданта пластохинона, который через линкерную цепь (C10) связан с остатком трифенилфосфина. ПДФ в низких (наномолярных) концентрациях проявляет высокую антиоксидантную активность.

Также на основе растительного убихинона выпускаются другие лекарственные препараты, например немецкий препарат «Убихинон композитум». Обладает дезинтоксикационным, антиоксидантным, иммунокорригирующим, метаболическим, противовоспалительным эффектами. Так же повышает тонус миомерия и имеет антиаллергические свойства. Широкий спектр действия «Убихинон композитум» обеспечивается благодаря комбинации 28 ингредиентов, в том числе растительных: Безвременник – эффективен при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы, подагре (хронической или острой), ревматизме, экссудации жидкости в полости тела; Черника – эффективна при заболеваниях щитовидной железы (дистиреоз), цистите, энтерите и других катаральных поражениях; Пятнистый болиголов – используется для лечения воспаления различных желез, при церебральном склерозе с явлениями обывествления атеросклеротических бляшек сосудов головного мозга, при новообразованиях и ухудшении настроения; Подофиллум – используется для терапии заболеваний гепато-биллиарной системы, в реабилитационном периоде после оперативных вмешательств на желчном пузыре, при рвоте; Подмаренник – эффективен при предраковых заболеваниях, язвообразовании, конкрементах в мочевыделительной системе; Гидрастис – эффективен при развитии полипов в полостях органов, коликах и воспалениях желудочно-кишечного тракта, язвообразовании в области слизистых оболочек, катаральных явлениях.

2.2. СУЩЕСТВУЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОБОГАЩЕНИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Впервые идея витаминизировать продукты питания возникла в начале XX века. В 1939 году советские ученые начали обогащать муку витаминами В и РР. Такой опыт почти сразу переняла Америка, а уже во времена Второй мировой в США приняли закон об обязательной витаминизации хлеба. Однако к 70-м годам пищевые пристрастия населения несколько изменились, и люди стали употреблять меньше мучного, так что, покрыть потребность населения в витаминах уже не получалось, витаминизировать начали и другие продукты. С развитием технологий появилась отдельная категория - функциональные продукты питания и напитки. Исследования подтверждают, что целый ряд ингредиентов, например когнитивные витамины, коэнзим Q10, гинкго билоба, полифенолы, ацетил-L-карнитин, экстракт зеленого чая, и др., можно использовать в продуктах, предназначенных для населения.

Изобретение японских ученых¹⁷ по обогащению продуктов питания убихиноном основано на применение композиции, содержащей убихинон и масло/жир. В качестве предпочтительного пищевого продукта по изобретению можно упомянуть пищевые масла/жиры (композиции пищевых масел/жиров), молоко и молочные продукты, соусы, хлеб, пироги, торты, кондитерские изделия, подливки, жидкие приправы, замороженные кондитерские изделия, лапшу, переработанные продукты, продукты из вареного риса, джемы, консервированные продукты, напитки и т.п. В предпочтительном варианте убихинон добавляют вместе с маслом/жиром и хорошо перемешивают во время получения продукта.

Также развитие биофизики и новые исследования в области производства питьевой воды также дало активный толчок для развития рынка. Большая информация о сочетанном действии облучения и других химических и физических агентов изложена в обобщенном виде в материалах НКДАР при ООН¹⁸. В 1995 году проходила специальная конференция в Пристоне, США, где рассматривались закономерности совместного действия препаратов в СМД (сверхмалых дозах) и других агентов. Было показано наличие сильных синергических эффектов, еще раз подтвержден факт, на который ранее указывали российские ученые, что СМД физических и химических факторов усиливают чувствительность биообъектов к действию других (или тех же) агентов в высоких дозах. Подобные закономерности могут играть определяющую роль в развитии феномена так называемой множественной химической чувствительности. Таким образом, существует множество моделей¹⁹, авторы которых пытаются объяснить реакцию биообъектов на СМД биологически активных веществ через структурные свойства воды. Все эти разработки и явно возросший в последнее время интерес к проблеме сверхмалых доз БАВ стимулирует исследования структуры воды и влияния на нее различных факторов и появляются принципиально новые воззрения на механизм действия СМД БАВ. Так, ряд авторов полагает, что в процессе растворения,

¹⁷Патент №2311046 (Япония)

¹⁸Combined Effects of Radiation and other Agents. U.N.V. 1996. 96-81969. P.132

¹⁹Чумаевский Н.А., Родникова М.Н. // ПМеждународный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Тезисы. С-Пб. 3-7.07. 2000. С. 127.

потенцирования вещества или воздействия на растворы биологических веществ электромагнитных полей в воде возникают активные формы кислорода и именно они, а не непосредственное излучение или биологически активное вещество действуют на биообъекты.²⁰

Большой комплекс исследований в области феноменологии СМД БАВ и низкоинтенсивных физических полей излучений позволяет по-новому взглянуть на ряд сложных проблем в экологии, медицине, с/х и др. и попытаться использовать результаты этих исследований в практических целях. Изучение природы и механизмов действия СМД БАВ способно внести существенный вклад в нетрадиционное использование применяемых лекарственных веществ, открытие новых направлений их создания.

На основе данных разработок в настоящее время существует несколько производителей питьевой воды, которые сочетают в производстве СМД БАВ и воду, прошедшую специальную подготовку. Все продукты и системы производства таких производителей запатентованы и получили положительную оценку. Данное направление коммерческого использования технологий с каждым годом получает все более широкое распространение. В США и странах Европы отмечается устойчивый тренд на создание высокомаржинальных продуктов, которые, несмотря на более высокую стоимость, выгодно отличаются на фоне насыщенного рынка обычной бутилированной воды. К высокомаржинальным продуктам относится вода, обогащенная различными микро- и макроэлементами, витаминами и микронутриентами. Суть данного тренда сводится к тому, что производители могут продавать не «просто воду», а нечто большее – «здоровье», «красоту» и т.п.

2.3. ВОПРОСЫ БИОСКРИНИНГА И ЭКСТРАКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Известно, что свободные радикалы, в первую очередь активные формы кислорода, образуются в большом количестве как побочные продукты процессов дыхания у всех аэробных организмов. Однако обычный в норме метаболический процесс может провоцировать при определенных условиях окислительный стресс, который, как хорошо установлено, играет решающую роль в развитии многих заболеваний, включая нейродегенеративные и онкологические.

Это обуславливает повышенный научный и практический интерес к растениям как к выгодным во всех отношениях источникам природных антиоксидантов. В связи с этим актуальной является оценка общей антиоксидантной активности лекарственного сырья, в том числе местного, которая должна, во-первых, носить скрининговый характер, а, во-вторых, быть количественной, чтобы иметь возможность сопоставлять данные свойства с таковыми антиоксидантов стандартов.

Фармакологическая коррекция окислительного стресса осуществляется с помощью биологически активных веществ (БАВ), в частности антиоксидантов. Они прерывают быстрорастущие процессы окисления, образуя малоактивные радикалы, легко выводящиеся из организма. Одной из самых перспективных групп БАВ, обладающей антиоксидантной активностью, являются растительные фенольные соединения. Их антиоксидантная активность объясняется двумя особенностями. Во-первых, они связывают ионы тяжелых металлов (образуя с ними устойчивые комплексы), которые являются катализаторами окислительных процессов. Во-вторых, фенольные соединения взаимодействуют с высокоактивными свободными радикалами, возникающими при аутооксидации, например, липидных компонентов, переводя их в малоактивные²¹.

Поэтому одним из важных показателей качества растительного сырья является их антиоксидантная активность. Существует определенный перечень растительного сырья, который обладает достаточной антиоксидантной активностью, на основе чего создаются различные коммерческие препараты пищевого и лечебно-профилактического назначения, поэтому лабораторное определение антиоксидантной активности

²⁰Воейков В.Л. // II Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Тезисы. С-Пб. 3-7.07.2000. С.1.

1. ²¹ Рябинина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина // Химия растительного сырья. — 2011. — № 3. — С. 117—121.

как природного сырья, так и полученных на его основе растительных препаратов является важным элементом установления заявленного качества соответствующих продуктов²².

Процесс экстрагирования относится к массообменным процессам и протекает за счет диффузии из зоны с высокой концентрацией. Это, как правило, клетки животного или растительного материала, содержащие биологически активные вещества. Экстрагирование основано на диффузии биологически активных веществ из внутренних структур частиц материала в экстрагент и заканчивается при достижении равновесных концентраций. В равновесном состоянии из материала в экстрагент переходит такое же количество молекул, как и из экстрагента в материал, т. е. концентрация остается постоянной.

Особенности извлечения БАВ из материалов с клеточной структурой связаны с тем, что на пути к веществам, содержащимся в клетке, находится клеточная стенка, физиологическое состояние которой может быть различным.²³ Так, живая растительная клетка имеет пристенный слой протоплазмы определенной толщины. Пока протоплазма жива, клеточная стенка является полупроницаемой перегородкой, не пропускающей наружу вещества, растворенные в клеточном соке. Совершенно по-другому ведет себя мертвая клетка. Вследствие гибели протоплазмы (плазмолиза) клеточная стенка теряет характер полупроницаемой перегородки и начинает пропускать вещества в обе стороны (диализ). То есть клеточная стенка приобретает свойства пористой перегородки, через нее могут диффундировать биологически активные вещества, молекулы которых не превышают размера пор. Подавляющее большинство экстракционных препаратов получают из высушенного растительного сырья, т.е. обезвоженного путем тепловой сушки.

На первой стадии экстрагирование из обезвоженного сырья с клеточной структурой начинается с проникновения экстрагента (водно – спиртового раствора) в материал, смачивания веществ, находящихся внутри клетки, растворения и десорбции их – процесс мацерации. Далее следует молекулярный перенос растворенных веществ, вначале в экстрагент, находящийся в межклеточном пространстве, затем в экстрагент, заполняющий микро-и макротрещины, и наконец, на поверхность кусочков материала. Активность этого процесса увеличивается за счет давления – процесс ремацерации. На второй стадии идет диффузия веществ от поверхности частицы (концентрация C_2) к наружной поверхности диффузионного пограничного слоя (концентрация C_3). Далее, на третьей стадии процесса экстрагирования перенос действующих веществ осуществляется за счет движения экстрагента – процесс перколяции. Перколирование заканчивается получением вытяжки - за один прием - при производстве жидких, густых и сухих экстрактов или в два приема - при производстве жидких экстрактов.

Испытания показали, что для того, чтобы получить качественный растительный концентрат «Сакский коэнзим»[®] технологически необходимо применение многократной или повторной перколяции путем противоточной экстракции. Противоточное экстрагирование осуществляется в батарее экстракторов. В каждом экстракторе сырье настаивается определенное время, в первом – с чистым экстрагентом, в последующих – с вытяжками, полученными из предыдущих экстракторов. Батарея экстракторов связана между собой помощью штуцеров и трубопроводов, является коммуницированной. Получается замкнутая система, позволяющая подавать экстрагент и получать вытяжку из любого экстрактора. Число экстракторов в батарее и скорость движения экстрагента обеспечивают возможность его полного насыщения к моменту получения готовой вытяжки из последнего экстрактора и полного истощения сырья в первом.

Исследования по подбору растительного сырья для концентрата «Pavlov Spring» велись по методике Сирота Т.В. (Способ определения антиоксидантной активности супероксидсмутазы и химических соединений. // Патент РФ № 2144674 от 20.01.2000.).

Последовательно согласно методике была измерена оптическая плотность раствора чистого адреналина (А) и растворов адреналина в присутствии настоев изучаемых образцов растительного сырья. Чтобы определить реальную антиоксидантную активность (АОА) настоев изученных растительных

2. ²² Сайтембетова А.Ж. Природные фенольные соединения перспективный источник антиоксидантов / А.Ж. Сайтембетова, С.М. Адекенов. - Алматы: КазгосИНТИ, 2001.- 165 с., Блинова О.А Стандартизация хвойного хлорофиллина натрия, разработка состава, технологии лечебных и лечебно-профилактических средств на его основе: Автореф.дис.канд.фарм.наук / О.А. Блинова. Пермь, 1998. - 31с., Богачева Н.Г. Стандартизация лекарственного растительного сырья облепихи крушиновидной / Н.Г. Богачева, Н.П. Кокушкина, Т.А. Сокольская // Фармация.-2001. -№ 1.-С. 12-13., Компанцева Е.В. Идентификация и количественное определение флавоноидов в многокомпонентном лекарственном средстве кардиотонического действия / Е.В. Компанцева, А.Ю. Айрапетова // Фармация. -2000. -№ 1.-С. 40-41.

²³ Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В.Д. Пономарев.- Москва: Медицина, 1976.-204с.

объектов, которые продемонстрировали потенциальную способность противодействовать аутоокислению адреналина, мы ее рассчитали по формуле из методики исследования.

При анализе полученных данных обнаружено, что прослеживается положительная корреляция между показателем ССА лекарственного растительного сырья и содержанием окисляемых веществ ($r=0,94$, $p<0,05$), а также суммой флавоноидов ($r=0,97$, $p<0,05$).

Проведенные расчеты позволили достоверно определить, какие образцы изученного растительного сырья проявляют антиоксидантную активность, по крайней мере, в рамках использованной нами методики. Этими образцами оказались около 60 трав, которые проявили разный уровень антиоксидантной активности. В результате были выбраны 53 травы для финальной рецептуры.

Для того чтобы выявить общие подходы к пониманию вклада действующих веществ в антиоксидантные свойства сырья, было решено в данном исследовании не определять отдельные специфические для каждого растения БАВ. Поэтому для изучения вклада БАВ-антиоксидантов в антиоксидантные свойства исследуемого ЛРС мы определяем содержание в нем суммы флавоноидов.

В исследовании также использованы результаты изучения следующих работ:

Тулеев Б.И. Полифенольные и стероидные соединения растений. Поиск, модификации и практические аспекты применения., дис. УДК 547.972:577.117.2:577.127.2, г.Караганда, 2009 г.

Биологически активные вещества растений, их химическая модификация и биоскрининг. Алматы: Гылым, 2004. - С.7-17.

Оценка биологической активности суммарных экстрактов в системе биотестов. Мурсалиева В.К., Нам С.В. Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан, Материалы международной научной конференции (29–31 мая 2013 г., г. Минск)

Антимутагенная и антиоксидантная активность краун-соединений в сравнении с эффектами экстракта чеснока / Г.Д. Засухина, И.М. Васильева, Е.С. Михальчик и др // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2003. -Т.135.-№3. С.302-305.

Бандюкова В.А. Тонкослойная хроматография флавоноидов / В.А.Бандюкова, А.А. Шинкаренко // Химия природных соединений.- 1983.-№1.- С.20-24.

Беляков К.В. Количественное определение полисахаридов в листьях мать-и-мачехи (*Tussilago farfara* L.) / К.В. Беляков, Д.М. Попов // Фармация. 1999. -

Васильева И.М. Сравнение протекторного эффекта чесночного экстракта и защиты клеток при адаптивном ответе / И.М. Васильева, Г.Д. Засухина // Генетика. 2002. -Т.38.-№3.-С.422-425.

Влияние Р-каротина и аспартама на кластогенную активность циклофосамида и диоксида у мышей / Е.Г. Белоголовская, А.В. Орещенко, А.Д. Дурнев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2000.-Т.130.-№11. С.570-573.

Корепанов С.В. Травы против рака / С.В. Корепанов. Барнаул, 2002. -16 с.

Лежнева Л.П. Исследования по расширению области использования крапивы двудомной в медицине: Автореф.дис.канд.фарм.наук / Л.П. Лежнева. — Пятигорск, 1986. — 22 с.

Макаров М.Т. Стандартизация спиртосодержащих жидких лекарственных форм фитопрепаратов / М.Т. Макаров, К.А. Краснов, Н.А. Тюкавкина // Фармация. 1997.-№5. - С.20-22.

Минина С.А. Оптимизация процесса экстрагирования корня женьшеня. / С.А. Минина, Л.В. Шигарова, В.А. Вайнтейн // Химико-фармацевтический журнал.- 1998. -№7. -С.42-44.

Определение содержания суммы флавоноидов в траве душицы обыкновенной / М.Н. Лякина, А.К. Виноградов // Научные труды: Фармация на современном этапе проблемы и достижения. - М., 2000. - Т. XXXIX., Ч. 2.1. С. 74-79.

Определение суммы фенолкарбоновых кислот в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) / Д.А. Шматков, Д.М. Попов // Научные труды: Фармация на современном этапе проблемы и достижения. - М., 2000. - Т. XXXIX., Ч. 2. -С. 174-178.

Определение микроэлементов в лекарственном растительном сырье, заготавливаемом в Московской области / С.Н. Спирова, В.И. Шиянов, С.С. Стуловский и др. // Фармация. М., 1993. - Т. XLII., № 3. - С. 44-48.

Патент № 2002-115-232 РФ Вольтамперометрический способ определения активности антиоксидантов. Е.И. Короткова, Ю.А. Карбаинов.от 6.06.2002г.

Петрова Ч.А. Фармакогностическое исследование сборов для лечения хронического панкреатита / Ч.А. Петрова, Т.И. Плеханова, К.А. Пупыкина // Здоровоохранение Башкортостана, спец.выпуск. 2002. - №2. - С.89.

Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А.Краснов, Т.П.Березовская, Н.В. Алексеюк и др. Под ред. Е.Е.Сироткиной.-Томск,1987.- 184 с.

Драницина В.Б. Микроэлементы химически и фармакологически активные ингредиенты лекарственных растений: Автореф. дис.канд. биолог, наук / В.Б. Драницина. - Ярославль, 1975. - 26 с. Изучение процесса экстракции и количественное определение суммы биологически активных веществ в суммарном препарате желчегонного действия / Г.И. Российская, Т.Д. Даргаева, Л.И. Брутко и др. // Фармация. -1985. №6. - С.18-21.

2.4. ВОПРОСЫ ВОДОПОДГОТОВКИ

Водоподготовка является одним из инновационных направлений данного проекта. В настоящее время абсолютно доказано, что очищенные воды, в том числе дистиллированные и подвергнутые обратному осмосу (все питьевые воды, продающиеся на территории РК, особенно в 5 и 19 л. бутылках), не являются физиологически полноценными, не приносят пользу организму человека. Вода, подвергаемая обратному осмосу по факту является деминерализованной и иногда последствия недостаточного поступления в организм некоторых веществ видны лишь спустя долгие годы, но сердечно-сосудистая система, испытывающая нехватку кальция и магния, реагирует гораздо быстрее. Несколько месяцев употребления воды, бедной кальцием и/или магнием – достаточный срок для того, чтобы в организме начали проходить нарушения. Кроме того, после очистки обратным осмосом вода становится кислой, т.е. ее уровень pH понижается. Естественно, что такая вода по своему химическому составу отличается от природной. Казахстанская школа ученых во главе с профессором В.Инюшиным, сформулировала теорию плазменной структуры воды. Доктор биологических наук В.Инюшин, один из основателей гелий-неоновых лазеров для медицины, занимавшийся исследованиями в советской аэрокосмической отрасли, изучавший плазму, сформулировал теорию биоплазмы и гидроплазмы. Биоплазма – плазма живого организма. Гидроплазма – плазма воды. В организме человека гидроплазма активно взаимодействует с биоплазмой. Гидроплазма представляет собой комплекс элементарных частиц: электронов, протонов, позитронов, экситонов и других частиц физического вакуума, - расположенных в межатомном пространстве молекул воды. Она имеет структуру, которая представлена кластером, состоящим из вышеперечисленных свободных частиц.

Вода природных источников – родников, скважин, горных рек - изначально содержит структурную гидроплазму. Такая вода обладает целебными, оздоровительными свойствами. Различные техногенные воздействия на водную среду способствуют разрушению гидроплазменного кластера с образованием деструктивных фрагментов, которые создают феномен «патогенной» воды. Современные методы подготовки питьевой воды, как правило, основанные на многоступенчатом фильтровании и химической очистке, приводят к «омертвлению» воды, лишая ее своей главной «живой» компоненты - гидроплазмы. Доказано, что гидроплазма является определяющим звеном в биоэнергетической структуре живого организма, обеспечивающим его жизнеспособность. Казахстанскими биофизиками разработаны методы регенерации гидроплазмы в воде, получившие название «биогеизации» воды, а вода, обработанная данными методами, получила название «биогеизная», то есть «живая», оказывающая профилактическое действие при инфекционных, аллергических, сердечно-сосудистых заболеваниях, нейтрализующая вредные воздействия различных источников излучения, укрепляющая иммунную систему организма. Одним из методов улучшения физиологических свойств воды является обработка воды красным светом.

В настоящее время производство питьевой воды, расфасованной в емкости, предусматривает лишь ее соответствие определенным нормам безопасности по содержанию загрязняющих веществ и ряду других параметров. Однако на физиологические свойства воды влияют не только её химический состав и степень очистки, но и целый ряд других комплексных физических параметров, которые характеризуют биологическую полезность воды и воду как сложную систему, находящуюся в неравновесном термодинамическом состоянии с собственным характерным излучением и собственными микрокластерными структурами.

Проблема очистки воды и подготовки ее для выпуска конечного продукта охватывает вопросы физических, химических и биологических изменений в процессе обработки с целью сделать ее не только пригодной для питья, но и придать ей определенные свойства, т. е. вопросы очистки и улучшения ее природных свойств. Таким образом, специальная водоподготовка должна включать в себя сочетание как традиционных методов (фильтрование через грубые и тонкие фильтры, обеззараживание с помощью ультрафиолета), так и применение новых инновационных технологий для улучшения качества и природных свойств воды (свето – магнитная подготовка с ионами серебра и обработка воды световым излучением в специально заданных спектрах и с разной удельной мощностью).

Магнитная подготовка воды в настоящий момент является очень распространенным способом очистки и умягчения воды. Магнитная водоподготовка в узком диапазоне – это способ очищения воды от лишнего включения солей кальция и магния путем влияния магнитного поля на форму кристаллов солей жесткости²⁴. Главный плюс устройств магнитной водоподготовки - она не требует расходных материалов и обслуживания (срок бесперебойной работы 25 – 30 лет). Это значительно экономит силы, время и конечно

²⁴Патент RU №2188798, кл. C02F 1/48, 10.09.2002

деньги. Доказано, что при использовании омагниченной воды повышается урожайность сельскохозяйственных культур на 20%. Омагниченную воду используют в медицине для растворения камней в почках.

Кроме этого существует ряд изобретений, которые позволяют обрабатывать воду не только постоянным магнитным полем, но и путем оказания строго контролируемого воздействия на питьевую воду переменным электромагнитным полем с заранее заданными его характеристиками, в частности заданной частотой в области колебаний звуковой частоты и временем воздействия. Указанная задача решается и технический результат достигается за счет того, что на питьевую воду воздействуют электромагнитным полем, при этом емкость с питьевой водой помещают в цилиндрическое гнездо, на наружной поверхности которого устанавливают катушку индуктивности, которую для создания электромагнитного поля запитывают током звуковой частоты через усилитель электрических колебаний звуковой частоты от источника электрических звуковых колебаний, при этом на усилителе электрических колебаний звуковой частоты усиливают электрические звуковые колебания, созданные при воспроизведении музыки в одном темпе в течение не менее 15 мин или при воспроизведении музыки с чередованием двух - трех темпов, причем длительность каждого из темпов не менее 5 мин.²⁵ Обработанная с помощью данного способа вода приобретает новые свойства воздействия на живые организмы. В зависимости от характера входного сигнала меняются биоактивные свойства воды. Экспериментально установлено, что «озвученная» вода повышает всхожесть семян на 4-5%.

Также обогащение воды ионами серебра или других микроэлементов используется многими компаниями. Ионизированная вода, содержащая ионы серебра, обладает ярко выраженными бактерицидными свойствами. В ней быстро гибнет патогенная микрофлора, происходит обеззараживание. Наиболее эффективным методом приготовления воды, содержащей ионы серебра, является электролитический метод (обогащение воды серебром при помощи электролиза)²⁶. Недостатком известного способа является то, что при длительном хранении, а также под воздействием света бактерицидные свойства «серебряной воды» падают.

Обработка воды ультрафиолетовым излучением – широко распространенный способ водоподготовки и обеззараживания. Его основное преимущество в том, что в воду не привносятся никакие реагенты. Параметры излучения можно подобрать таким образом, что будет гарантия почти полной стерилизации воды. В качестве стерилизаторов этого типа широко применяются специальные ультрафиолетовые лампы, смонтированные в жестком корпусе, внутри которого протекает вода, подвергаясь воздействию ультрафиолетового излучения. Ультрафиолетовые лучи уничтожают не только вегетативные, но и споровые формы бактерий и не изменяют свойства воды. Если в случае с хлорированием и озонированием при неправильном расчете дозы требуется убирать реагенты дополнительной стадией фильтрования, то ультрафиолетовое излучение в этом отношении абсолютно безопасно.

Обработка воды световыми лучами с разной длиной волны и с разной удельной мощностью также известный способ обработки воды, хотя и мало применимый²⁷. Поляризованный свет как упорядоченное волновое излучение, волны которого распространяются в параллельных плоскостях, способствуют упорядочиванию пространственного расположения молекул воды и образованию надмолекулярных ассоциатов (жидкокристаллических структур). Световая энергия также упрочняет межмолекулярные водородные связи. Известен способ обработки воды красным светом для придания ей свойств усиления жизнедеятельности и ускорения роста и развития живых организмов²⁸. Красный свет используется АО «Кокшетауминводы» в водоподготовке при производстве физиологически полноценных природных минеральных вод, расфасованных в емкости («Туран»).

Известны установки для обработки воды различными источниками света, в том числе источниками комбинированного ультрафиолетового, инфракрасного излучения и видимого света, источниками КВЧ или СВЧ излучения. Вода или раствор после такой обработки долго (до 120 мин вода и до 4 мес. растворы) сохраняют свои активные свойства, так при определенной выдержке воды после обработки происходит существенное снижение количества растворимых солей в воде, которые выпадают в осадок, полив такого рода водой позволяет получить более высокий по сравнению с поливом обычной водой урожай,

²⁵Патент RU 2333159Способ электромагнитной обработки питьевой воды

²⁶Кульский Л.А. Серебряная вода. Киев, Наукова думка, 1983, с.17-32, патент РФ №2125971, патент RU 2334681, патент RU 2482072

²⁷Патент RU 2262485

²⁸Красный свет болезням. - Изобретатель и рационализатор, - 10 - 1997, стр. 11

использование такого рода воды для микробиологических экспериментов показывает увеличение роста колоний микроорганизмов и т.д.²⁹ Возможность активирования воды лазерным светом показана еще в 1969 г. в работах Инюшина В. Впервые был выдвинут принцип резонансной спектральной памяти водных растворов, построенная на теории плазменной структуры воды. Было установлено, что водные растворы запоминают воздействие по определенным спектральным линиям оптического спектра. Более того, повторное воздействие создает эффект резонанса, что усиливает эффект и сохраняет его в течение длительного времени. Открытие спектральной резонансной памяти у водных растворов создает новые возможности для улучшения биологической ценности воды. Фактически возникла возможность создания технологии для биогенизации воды. В результате была разработана установка «Ревиталайзед» - Восстанавливающий биогенный активатор. Разработчики - В.Инюшин (Казахстан), О.Еско (США), Р.Гербер (США). Технология внедрена с 2004г. в США, применяется с 2006-2007г.г. в Италии, Германии, Израиле.

Недавно были запатентованы световые технологии передачи целебной информации воде (Австрия, Swarowski-ILAB). На воду воздействуют световой матрицей, составленной с учетом последовательности Фибоначчи, придавая ей определенные заданные врачом целебные свойства. Последовательность Фибоначчи - математическая последовательность, каждый член которой является суммой двух предыдущих.

Анализ прогрессивных технологий обработки воды световым диапазоном лучей позволил профессору Нурумову Н.М. разработать новый уникальный аппарат, который получил название «Концентрированный солнечный свет (КСС) 2013». Установлено, что видимый свет занимает некоторую область длин волн, примерно от 400 нанометров до 750 нанометров. Если разбить эту область на три подобласти меньшего размера, например, 400-500 нм, 500-600 нм и 600-750 нм, то область 400-500 нанометров будет видиться нам, как синий свет, область 500-600 нанометров будет видиться как зелёный свет, область 600-750 нанометров будет видиться как красный свет. Непосредственным следствием этого факта является различная химическая активность различных цветовых зон. Общеизвестно, что красный свет химически малоактивен, лампы красного света повсеместно применялись в фотокомнатах и не вызывали засветки фотоэмульсии. Зелёный свет химически активнее красного, но химическая активность синего света является наивысшей из трёх. Химическая активность синего света настолько ярко выражена, что она была замечена врачами ещё в конце 19-го века. Именно тогда русский врач А.В.Минин ввёл в практику лампу синего света. Этой лампой лечили воспаления горла и уха, известно было, что синий свет обеззараживает кожу и способствует заживлению ранений и язв, уже в наше время выяснилось, что синий свет благотворно влияет на иммунную систему организма. Кроме того, необходимо отметить, что концентраторы солнечного света успешно используются в настоящее время в энергетических установках. Все это дало возможность разработать уникальную установку биоактивации воды с учетом хроматографического эффекта и эффекта световой концентрации (лазера). Предварительные испытания элементов показали высокую эффективность оборудования при обработке воды, а последующее применение воды человеком существенно повышало иммунологический потенциал испытуемых.

Участником рабочей группы по реализации проекта ТОО «SPA-SKY Production» профессором Нурумовым Н.М. совместно с инженерным составом ИП «B@Z» была разработана также уникальная установка ионо – магнитной подготовки воды «BAZ 15», которая объединяет все лучшие разработанные достижения в области водоподготовки и снижает недостатки каждого отдельного способа водоподготовки, т.е. нет необходимости использовать разные типы оборудования для электромагнитной, ультрафиолетовой и ионной подготовки воды отдельно.

Внедрение новых технологий и инновационных методов водоподготовки позволяет решать также комплекс задач, обеспечивающих:

- производство питьевой воды, отвечающей установленным стандартам (СТ РК) и СанПиНам, удовлетворяющей требованиям потребителей;
- надежность очистки и обеззараживания воды;
- эффективную бесперебойную и надежную работу водоподготовительного оборудования;
- снижение себестоимости водоочистки и водоподготовки;

²⁹Патент RU 2457183

- экономию реагентов, электроэнергии и воды на собственные нужды;
- качество производства воды.

ТОО «SPA-SKY Production» для производства необходимо использовать безреагентные методы водоподготовки (активацию или структурирование жидкости). Важнейшим свойством воды является ее необычайно высокая чувствительность к различным физико-химическим и энергоинформационным воздействиям за счет наличия низкоэнергетических водородных связей, способных перестроиться под действием разнообразных внешних воздействий, не требующих больших затрат энергии. Таким образом, в настоящий момент существует множество доказанных исследований, что воздействие на воду непосредственно связано с влиянием на живые системы, в частности, на человеческий организм. Способов активации воды на сегодняшний день известно множество (например, магнитные и электромагнитные волны; волны ультразвуковых частот; кавитация; воздействие различными минералами, резонансные и др.). Метод структурирования жидкости обеспечивает решение комплекса задач водоподготовки (обесцвечивание, умягчение, обеззараживание, дегазацию, обезжелезивание воды и т.д.), при этом исключает химводоподготовку. Структурированная вода существенно отличается от воды, подготовленной традиционным способом водоподготовки и водоочистки. Структурированная вода по своей физической структуре похожа на родниковую, или как говорят «живую» воду. Такая вода обладает целебными свойствами и полезна для здоровья.

Одним из важнейших параметров питьевой воды является ее «заряд» - окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), т.к. основными процессами, обеспечивающими жизнедеятельность любого организма, являются окислительно-восстановительные реакции, т.е. реакции, связанные с передачей или присоединением электронов. Энергия, выделяемая в ходе этих реакций, расходуется на поддержание гомеостаза (жизнедеятельности организма) и регенерацию клеток организма, т.е. на обеспечение процессов жизнедеятельности организма.

Обычная питьевая («консервированная») вода, в т.ч. и минеральная, разлитая в бутылки, с $ОВП > 0$, проникая в ткани человеческого организма, отнимает электроны от клеток и тканей, которые состоят из воды на 70-80% и имеют $ОВП \sim (-70)$ мВ. В результате этого биологические структуры организма (клеточные мембраны, органоиды клеток, нуклеиновые кислоты и др.) подвергаются окислительному разрушению. Так организм изнашивается, стареет, жизненно-важные органы теряют свою функцию, снижается иммунитет. Но эти негативные процессы могут быть замедлены, если в организм поступает вода, обладающая свойствами внутренней среды организма ($ОВП < 0$), т.е. обладающая защитными восстановительными свойствами. При этом, если $ОВП$ воды значительно ниже $ОВП$ внутренней среды организма, то такая вода становится донором недостающих электронов, мощным антиоксидантом и источником дополнительной энергии для всех жизненно важных процессов.

Несмотря на такие уникальные потребительские свойства, вода с отрицательным $ОВП$ в настоящее время доступна лишь немногим обладателям дорогостоящих бытовых установок для ее получения. Проблема заключается в том, что такую воду необходимо употреблять свежеприготовленной, так как она быстро теряет свой «заряд» и полезные биологические свойства. Поэтому промышленное приготовление воды с отрицательным $ОВП$ для ее последующей реализации населению через розничную сеть практически отсутствует. Предлагаемая технология позволяет получать воду с длительно сохраняющимся восстановительным потенциалом заданного значения для ее последующей реализации населению в потребительской упаковке.

Резонансная технология основана на переводе жидкостей в неравновесное термодинамическое состояние с резонансными микрокластерными структурами, с повышенной энергией и сверхкогерентным электромагнитным излучением. Как и при воздействии электромагнитных и ультразвуковых волн, под влиянием резонансных колебаний рвутся неустойчивые межмолекулярные связи, а молекулы воды выстраиваются в естественную природную физико-химическую структуру в кластеры. Структурированная вода с длительным отрицательным $ОВП$ обладает доказанными бактерицидными свойствами.

Исходя из этого, специалисты пришли к выводу, что вода «SPA-SKY», произведенная с добавлением растительного концентрата «Pavlov Spring» и на основе воды, структурированной с использованием достижений современной биофизики, сможет обладать следующими заданными характеристиками:

- Обладать сильными антиоксидантными свойствами;
- Снижать уровень холестерина и сахара в крови, способствовать процессам снижения веса;

- Способствовать укреплению сердечно-сосудистой системы, улучшению работы желудочно – кишечного тракта;
- Оказывать общеукрепляющее воздействие на организм человека, повышать устойчивость организма к внешним факторам воздействия, особенно в ситуациях стрессовых нагрузок;
- Омолаживать клетки организма и запускать процесс саморегуляции организма.

III. ПРАКТИЧЕСКАЯ АПРОБАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ

3.1. РЕЗУЛЬТАТЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Цель исследования: определить хроническую токсичность обогащенной природной воды - напитка безалкогольного с натуральным концентратом «Pavlov Spring»

2. Задачи исследования:

1. Регистрация признаков проявления токсичности с изучением причины. Выявить наиболее чувствительные к изучаемому веществу органы и системы организма, характер и степень патологических изменений в них.

2. Определение появления побочных реакций.

3. Изучить зависимость токсических эффектов от длительности применения объекта.

3. Объект исследования:

Обогащенная природная вода - безалкогольная газированная с натуральным концентратом «Pavlov Spring»

Материалы исследования

4.1. Экспериментальные животные

Крысы белые, неинбредные, самцы и самки, половозрелые, весом 190-220 грамм, прошедшие карантин 14 дней (76 особей). Животные содержались в стандартных условиях вивария [1], на стандартной диете в соответствии с правилами по устройству и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Контрольные животные содержались в аналогичных условиях.

4.2. Описание напитка

Обогащенная природная вода безалкогольная газированная с концентратом «Pavlov Spring». Сертификат соответствия

В состав напитка входят: Экстракт из растительного сырья (ноу-хау) переработанные с использованием концентрированного солнечного света.

Согласно документам, представленным ТОО «SPA-SKY COMPANY»:

Химический состав напитка - обогащенной природной воды с натуральным концентратом «Pavlov Spring», соответствует нормативным требованиям, предъявляемым к обогащенным питьевым водам (приложение 4).

4.3. Условия хранения

При t^0 от $+5^0$ С до $+20^0$ С, в оригинальной закрытой упаковке. При вскрытии упаковки - хранение не более 72 часов.

4.4. Условия передачи, учета и возвращения вещества

Прием вещества осуществлялся согласно актам приемки при наличии сертификата соответствия. Прием, учет расхода вещества заносили в «журнал учета образцов». Контрольную пробу напитка в стеклянной стерилизованной бутылке в количестве 1 л. запечатали и оставили на хранение, согласно

лабораторным правилам. Остатки напитка уничтожали, согласно приказу №51 МЗ РК и требованиям техники безопасности.

4. Структура исследования

5.1 Общий план исследования

Общий план исследования представлен в таблице 5. В качестве контроля использовали воду водопроводную. Напиток предполагается использовать без ограничений, поэтому при проведении экспериментов по субхронической токсичности наблюдение за животными продолжалось 30 дней, по хронической токсичности - 60 дней [2-5].

Таблица № 5 Общий план общетоксического исследования

№	параметры	Сроки наблюдения		
		Контроль	Субхроническая токсичность	Хроническая токсичность
1	Начало и конец наблюдения	6. 04.07- 6. 06.07	6. 04.07 - 6. 05.07	6.04.07-6.06.07
2	Внешний вид, поведение, изменения покровов, потребление пищи и воды, интенсивность и характер двигательной активности, координация движения, выживание	Ежедневно	Ежедневно	Ежедневно
3	Масса тела	1,7, 15, 30, 45, 60-е сутки	1,7, 15, 30-е сутки	1,45,60-е сутки
4	Общий анализ крови, мочи	На 15,30,45,60 сутки	На 15,30-е сутки	На 45,60-с сутки
5	Содержание холестерина и МДА в сыворотке крови	--	--	--
6	Морфологические исследования: желудок, тонкий и толстый кишечник, печень, сердце, легкие, почки.	--	--	--

5.2 Критерии включения, исключения и выбытия животных

- Критерии включения - здоровые, половозрелые животные обоего пола, прошедшие карантин.
- Критерии исключения - больные животные (изменения покровов, глаз, состава мочи, экскрементов), покусанные животные с ранами, особо агрессивные животные во время карантина.
- Критерии выбытия животных - данные всех подопытных животных - после начала экспериментов включались в отчет.

5.3 Схема применения

Условия проведения экспериментов по исследованию воды с концентратом «Pavlov Spring» приведены в таблице 6.

Таблица № 6 Условия проведения экспериментов

	Контроль	Подопытные группы
Частота введения	в течение дня, без ограничений	в течение дня, без ограничений
Путь введения	Перорально	Перорально
Способ введения	Через поилки	Через поилки

5. Методы исследования

В исследовании использовали фармакологические, биохимические и морфологические методы исследования.

1. Фармакологические - методы проведения острой и хронической токсичности, согласно методическим указаниям Фармакологического комитета по доклиническому изучению лекарственных средств [2, 4].

2. Биохимические:

Стандартный анализ крови (гемоглобин, эритроциты, цветовой показатель, лейкоцитарная формула) [6]. Анализ мочи проводили, используя диагностические полоски DekaPhanLeucoфирмы PLIVA-Lachema. Определение общего холестерина проводили колориметрическим методом [7].

Исследование системы гемостаза проводилось с помощью наборов реагентов фирмы «Технология-стандарт» (г.Барнаул) согласно прилагаемой инструкции. Забор материала для исследований - кровь у животных, осуществляли из сонной артерии под легким эфирным наркозом.

Тромбо-тест - для определения тромбинового времени при диагностике конечного этапа свертывания крови.

Квик-ФГ-тест - определение протромбинового времени. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов свертывания II (протромбина), V, VII, X и и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

Для определения влияния напитка на электрофизиологические параметры регистрировали у наркотизированных животных в течение 5 мин ЭКГ на электрокардиографе ЭК 1 Т-03 М2 в 6-ти стандартных отведениях [8].

Определение артериального давления проводили у бодрствующих животных плетизмометрическим методом [8].

3. Морфогистологические исследования органов проводили, следуя стандартной процедуре [9,10]. Для исследований у животных после эвтаназии извлекали сердца, печень, легкие, почки, желудок, тонкий и толстый кишечника. Забор материала проводился согласно плану эксперимента (таблица 1).

6. Этические и правовые нормы доклинического изучения исследуемого вещества

Оценку общетоксического действия препарата проводили в соответствии с требованиями фармакологического комитета МЗ РК [2]. При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями, изложенными в приказе МЗ СССР за № 755 от 12 августа 1977г [1], правилами GLPи рекомендациями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях», Страсбург 18 марта 1986 г. Согласно вышеперечисленному умерщвление животных проводили эфирным наркозом.

7. Статистические методы исследования

Сравнение показателей, имеющих нормальное распределение, проводили с использованием дисперсионного анализа. Если результаты анализа были статистически значимыми, затем проводилось попарное сравнение между двумя группами с использованием двухстороннего критерия Стьюдента [11]. При сравнении показателей, которые не подчиняются нормальному распределению, использовали критерий у2.

Все данные приведены в виде среднее арифметическое + стандартная ошибка среднего. Математическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью статистических пакетов программ для Windows (Exel-U.8.0)

8. Результаты исследований

В процессе проведения исследования не отмечено гибели животных получавших напиток безалкогольный газированный с натуральным концентратом «Pavlov Spring», (напиток) в течение всего срока наблюдения (60 дней).

В течение всего срока наблюдения внешний вид (состояние волосяного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек), поведение животных, интенсивность и характер двигательной активности, координация движений, реакция на раздражители (световые) не изменялись. Симптомов интоксикации, судорог не наблюдалось.

Как следует из данных, представленных в таблице 7, отсутствует достоверная разница между массой тела контрольных и подопытных животных в течение всего срока наблюдения.

Таблица № 7 Таблица Изменение массы тела группы крыс, получавших напиток с концентратом «Pavlov Spring»

Срок наблюдения	Контроль, n-16	Напиток, n-60
Исходные данные	190,5 ±4,31	192,5 ±3,71
Через 7 дней	202,8 ±3,21	205,5 ±2,15
Через 15 дней	208,3 ± 0,22	210,8 ±2,32
Через 30 дней	212,3 ±2,98	216,3 ±2,33
Через 45 дней	218,0 ± 5,13	220,8 ± 2,42
Через 60 дней	229,9 ± 4,97	221,0 ±2,84

При исследовании влияния напитка с «Pavlov Spring» на гематологические показатели крови не выявлено патологических изменений на протяжении всего срока наблюдения по сравнению с контрольной группой животных (таблицы 4). Некоторое повышение содержания лимфоцитов, эозинофилов находится в пределах нормы. Как известно, моноциты относятся к системе фагоцитирующих мононуклеаров. Они удаляют из организма отмирающие клетки, остатки разрушенных клеток, денатурированный белок, бактерии и комплексы антиген-антитело. Кроме фагоцитоза моноциты выполняют важную роль в иммунном ответе клеток, взаимодействуя с лимфоцитами. Возрастание содержания моноцитов в крови после приема напитка с натуральным концентратом «Pavlov Spring» следует рассматривать как ответную реакцию организма, отражающую увеличение иммунной активности и увеличение детоксикационных возможностей организма.

С мочой из организма выводятся многочисленные биологически важные соединения вместе с продуктами их превращения (так называемое шлаки). Поэтому выявление и количественное определение в моче отдельных ее компонентов способствует диагностике и распознаванию многих заболеваний. Как видно из данных приведенных в таблице 5. активная реакция (рН) мочи не превышала нормальных значений. Плотность мочи практически здоровых особей варьируется в течение суток в пределах 1,012-1,020 кг/л, под влиянием напитка изменения плотности были в пределах нормы. Остальные показатели анализа показывает на отсутствие побочных реакций после длительного приема напитка.

Таблица № 8 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на общий анализ крови

	норма	контроль	Сроки наблюдения			
			15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Гемоглобин, г/л	120,0 -160,0	136,8 ±4,16	138,4 ±6,52	135,6 ±8,63	135,4 ± 1,84	140,3 ±2,29
Эритроциты, х 10 /л	3,8-5,0	4,44 ±0,12	4,3 ±0,12	4,48 ± 0,32	4,61 ± 0,08	4,57 ± 0,07
Цвет, показатель,%	0,9-1,1	0,92 ± 0,02	0,9 ± 0,02	0,9 ±0,016	0,88 ± 0,07	0,92± 0,03
Лейкоциты, х10 /л	4-9	6,40 ± 1,78	5,2 ± 1,38	5,8 ± 1,21	6,90 ± 2,62	4.4 ± 0,66
СОЭ, мм/ч	1-15	1,5±0,89	2,01 ±0,04	1,5 ±0,9	2,06 ± 0,6	2,3 ± 0,23
Лейкоцитарная формула в %						
Палочкоядерные	1-6%	0,39 ± 0,02	1,8 ±0,31	1,0 ±0,001	1,5 ±0,37	0,33 ± 0,2
Сегментоядерные	47-72%	55,3 ± 6,89	57,4±1,56	53,3 ±3,07	40,6 ± 6,99	32,7 ± 3,47
Моноциты	3-11%	13,3 ± 1,67	15,5 ±2,41	17,3 ±4,55	20,2 ± 2,75	18,0 ±3,48
Лимфоциты	19-37%	33,67 ±6,74	30,1 ±2,23	26,0 ±2,71	34,4 ± 4,55	43,0 ±3,35
Эозинофилт	0,5-5,0%	1,33 ±0,42	2,3 ± 0,35	1,67 ±0,33	4,2 ± 1,46	3,0 ± 0,73

Таблица № 9 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на общий анализ мочи

Показатели	Контроль, n-12	группа «Pavlov Spring», сроки наблюдения, кол-во животных			
		15 дней, n-60	30 дней, n-45	45 дней, n-30	60 дней, n-15
Удельный вес	1,010	1,015 ^{80%} 1,010 ^{20%}	1,015 ^{60%} 1,010 ^{40%}	1,015 ^{60%} 1,025 ^{40%}	1,010 ^{70%} 1,015 ^{30%}
Нитриты	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}
рН	5	5 ^{100%}	5 ^{100%}	5-6 ^{100%}	5 ^{100%}
Белок	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%} 0,3/3030%
Глюкоза	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	normal ^{100%}	normal ^{100%}
Кетоны	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}
Уробилиноген	normal	normal ^{100%}	normal ^{100%}	normal ^{100%}	normal ^{100%}
Билирубин	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}
Лейкоциты	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}
Кровь	neg	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}	neg ^{100%}
Примечание: % - количество животных с данным показателем выраженное в процентах ко всей группе					

Как следует из данных приведенных в таблице 10, напиток с «Pavlov Spring», начиная с 45 дня приема, вызывает снижение АД на 12%, по сравнению с контрольными животными. На данный факт следует обратить внимание, но рассматривать его как антигипертензивный все же нельзя, так как снижение находится в пределах нормальных значений.

Таблица № 10 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на артериальное давление

Группы/ сроки наблюдения	Артериальное давление, мм рт.ст.			
	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Контроль	68,9 ± 1,49	72,0 ± 5,80	76,8 ± 4,80	70,8 ± 3,36
«Spa Sky»	72,4 ± 1,94	76,0 ± 3,16	68,0 ± 2,70	62,0 ± 1,21

После употребления напитка с «Pavlov Spring» у животных отмечали правильный синусовый ритм, нарушений ритма и проводимости не наблюдалось. На ЭКГ животных начиная с 45 дня употребления напитка регистрировали только незначительное снижение вольтажа комплексов QRS (у 50% животных) и частоты сердечных сокращений (таблица 7). Следует отметить, что уменьшение ЧСС было в пределах нормы (300-500 уд/мин).

Таблица № 11 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на частоту сердечных сокращений

Группы/ сроки наблюдения	ЧСС, уд/мин			
	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Контроль	368,8 ± 10,49	372,0 ± 9,0	365,0 ± 14,1	382,0 ± 8,60
«Spa Sky»	405,0 ± 11,32	370,0 ± 13,71	378,0 ± 10,5	370,0 ± 8,21

При изучении влияния напитка с «Pavlov Spring» на механизмы коагуляции крови установлено, что через 15 и 30 дней наблюдения прием напитка не вызывает никаких изменений (таблицы 12-13). На 45 и 60 день наблюдения напиток с «Pavlov Spring» проявляет некоторую антикоагуляционную и фибринолитическую активность. На это указывает увеличение тромбинового и протромбинового времени на данных сроках наблюдения в группах животных принимавших напиток.

Таблица № 12 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на тромбиновое время

Группы/ сроки наблюдения	время, сек.			
	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Контроль	15,67 ± 0,21			
«Pavlov Spring»	16,2 ± 0,98	16,3 ± 0,92	18,6 ± 0,71 *	20,7 ± 0,56*
Примечание - отличие достоверно по отношению к контролю * - p < 0,05				

Таблица № 13 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на протромбиновое время

Группы/ сроки наблюдения	время, сек.		
	15 дней	30 дней 45 дней	60 дней
Контроль	14,67 ± 0,42		
«Spa Sky»	15,69 ± 1,01	15,33 ± 0,21 17,7 ± 0,22*	18,67 ± 0,21*
Примечание - отличие достоверно по отношению к контролю * - p < 0,05			

Протромбиновое время - показатель внешней системы активизации протромбина [7,12]. Увеличение протромбинового времени при отсутствии данных о воспалительных заболеваниях наблюдается при лечении антикоагулянтами и использовании ингибиторов факторов свертывания (гепарин, продукты деградации фибрина) [7,12]. Тромбиновое время - показатель перехода фибриногена в фибрин. Оно не зависит от внутренней и внешней системы активации протромбина, но во многом определяется концентрацией фибриногена, активностью антипротромбина, процессов полимеризации и стабилизации фибрина. Увеличение тромбинового времени наблюдается при фибринолитической терапии (стрептокиназа), гепариновой терапии [7,12].

Холестерин представляет собой вторичный ароматический одноатомный спирт. Является важным компонентом клеточных мембран.

Служит предшественником образования стероидных гормонов и желчных кислот. Существует прямая зависимость между увеличением концентрации холестерина в плазме и появлением риска атеросклеротического поражения коронарных сосудов. В норме уровень общего холестерина колеблется в широких пределах - 3,6 - 6,7 ммоль/л [7,8,12]. Снижение общего холестерина через 45 и 60 дней приема «Pavlov Spring» указывает на возможность применения данного напитка в составе диетической и лекарственной терапии ожирения, заболеваний печени, ИБС, атеросклероза и других (т.е. заболеваниях, при которых наблюдается увеличение холестерина) (таблица 14).

Таблица № 14 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на содержание холестерина

Группы	сроки наблюдения			
	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Контроль	4,89 ± 0,45	4,19 ± 0,62	4,53 ± 0,40	4,29 ± 0,68
«Spa-Sky»	4,78 ± 0,29	4,60 ± 0,17	2,52 ± 0,22*	3,02 ± 0,31*
Примечание - отличие достоверно по отношению к контролю * - p < 0,05				

Механизм возникновения и развития многих патологических состояний организма связан с нарушением структуры и свойств биологических мембран [7]. Повреждение последних может быть обусловлено бесконтрольным образованием свободных радикалов, вызывающих пероксидное окисление полиненасыщенных жирных кислот, лежащих в основе липидного бислоя мембран. Поэтому важным критерием оценки эффективности биологически активных веществ является их антиоксидантная активность, позволяющая поддерживать сбалансированное взаимодействие реакций образования продуктов окисления, а также механизмов контроля, ведущих к их торможению. Как показали наши исследования, употребление напитка с «Pavlov Spring» в течение 45 дней вызывает достоверное снижение уровня малонового диальдегида (15). Данный факт позволяет утверждать, что напиток проявляет антиоксидантный эффект.

Таблица № 15 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на содержание МДА

Группы	сроки наблюдения			
	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
Контроль	3,76 ± 0,19			
«Spa Sky»	3,95 ± 1,01	3,71 ± 0,92	2,83 ± 0,18*	1,82 ± 0,61*
Примечание - отличие достоверно по отношению к контролю *				- p < 0,05

Морфологические исследования

На 15, 30, 45 и 60 день употребления напитка животных для исследования умертвили под эфирным наркозом. После вскрытия произвели морфологическую оценку изменений внутренних органов. Как следует из данных таблицы 12, введение «Pavlov Spring» в течение 15, 30, 45 и 60 дней не вызывало никаких внешних изменений структуры внутренних органов. Через 45 и 60 дней у животных принимавших напиток отмечалось уменьшение жировой ткани.

Таблица № 16 Влияние напитка с «Pavlov Spring» на морфологические показатели

Орган	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
легкие	без изменений	- " -	- " -	- " -
сердце	без изменений	- " -	- " -	- " -
желудок	Слизистая оболочка без изменений. Язв нет	- " -	- " -	- " -
Тонкий кишечник	Слизистая оболочка без изменений. Язв нет.	- " -	- " -	- " -
Брыжеечные лимфатические узлы	Без изменений	- " -	Увеличение в размерах. Темные включения	- " -
печень	Поверхность гладкая, блестящая. При разрезе видно мелкозернистое строение печеночной паренхимы.	- " -	- " -	- " -
почки	Фиброзная капсула без изменений. Жировая капсула без изменений. При разрезе изменений коркового и мозгового вещества не	- " -	Жировая капсула уменьшена.	Жировая капсула уменьшена

Орган	15 дней	30 дней	45 дней	60 дней
	обнаружено.			

Через - 45 и 60 дней напиток вызывал изменения размеров и внешнего вида брыжеечных лимфатических узлов. При морфологическом осмотре отметили потемнение лимфатических узлов, увеличение их размеров и уменьшение жировой ткани. Данные изменения вероятнее всего отражают детоксикационные и иммуностимулирующие свойства напитка.

Токсикологическое исследование напитка с «Pavlov Spring» показало, что наиболее чувствительными органами и системами организма являются: жировая ткань и лимфатические узлы.

Заключение

1. В течение всего срока наблюдения внешний вид (состояние волосяного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек), поведение животных, интенсивность и характер двигательной активности, координация движений, реакция на раздражители (световые) не изменялись после применения напитка с «Pavlov Spring». Симптомов интоксикации, судорог не наблюдалось.

2. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» применяемый в течение 60 дней не влияет на состав крови крыс и свертывающую систему крови.

3. При доклиническом изучении хронической токсичности воды с натуральным концентратом «Pavlov Spring» было установлено отсутствие патологических изменений внутренних органов.

4. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» через 45 дней употребления проявляет антиоксидантные свойства.

5. Применение воды с натуральным концентратом «Pavlov Spring» в течение 45 и более дней вызывает уменьшение жировой ткани.

6. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» через 45 дней употребления снижает уровень общего холестерина. Снижение объема жировой ткани и общего холестерина через 45 и 60 дней приема «Pavlov Spring» указывает на возможность применения данного напитка в составе диетической и лекарственной терапии ожирения, заболеваний печени, ИБС, атеросклероза и других (т.е. заболеваниях, при которых наблюдается увеличение холестерина).

7. Данные нашего исследования и имеющиеся в литературе сведения позволяют считать, что напиток, в составе которого присутствует натуральным коэнзим Q10, может быть использован как профилактическое дополнительное средство при стрессовых ситуациях, при повышенной физической нагрузке. Ожидаемые эффекты проявляются не ранее чем через 1 месяц приема напитка с «Pavlov Spring».

Список использованной литературы

1. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (утверждены МЗ СССР, приказ № 755 от 12.08.1977г.)
2. Инструкция по проведению доклинических испытаний и (или) исследований биологически активных веществ в Республике Казахстан (утверждены МЗ РК, приказ № 51 от 14.02.2005г.)
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.- Москва, 2000,- 562с.
4. Гуськова Т. А. Оценка безопасности лекарственных средств на стадии доклинического изучения //Химико-фармацевтический журнал.-1990.-№7.-С.10-15
5. Доклинические испытания лекарственных средств (Методические рекомендации).- Алматы, 1997.- 39 с.
6. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А. Гематология животных.-М.:Медицина.-1974.-285с.
7. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической. лабораторной диагностике.-Т. 1.- Мн.:Интерпрессервис, 2003.- 495 с.
8. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., Утехин В.И и др. Введение в экспериментальную патологию.- Элби-СПб.:2003.-384
9. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой.- М.:Медицина.-1982, 304с.

10. Войно-Ясенецкий М.В., Жаботинский Ю.М. Источники ошибок при морфологических исследованиях.-Л.:Медицина, 1970.-156с.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика.-М.-Практика.-1999.-215с.
12. Чиркин А.А. Практикум по биохимии.-Мн.:Новое знание, 2002.-512 с.

3.2. ВЫВОДЫ

Проведенные исследования показали, что:

1. В течении всего срока наблюдения внешний вид (состояние волосяного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек), поведение животных, интенсивность и характер двигательной активности, координация движения, реакция на раздражители (световые) не изменялись после применения напитка с натуральным концентратом «Pavlov Spring». Симптомов интоксикации, судорог не наблюдалось.

2. Изучение «хронической токсичности» при длительном употреблении (60 дней) напитка с натуральным концентратом «Pavlov Spring» не выявило повреждающего действия на организм экспериментальных животных. Макроскопическое исследование внутренних органов (сердца, легких, почек, надпочечников, печени и ЖКТ) животных употреблявших напиток в течении 15, 30, 45 и 60 дней не выявило патологических изменений.

3. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» не влияет на состав крови и свертывающую систему крови на всех сроках наблюдения.

4. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» после 45 дней употребления проявляет антиоксидантные свойства.

5. Напиток с натуральным концентратом «Pavlov Spring» после 45 дней употребления снижает уровень общего холестерина. Снижение объема жировой ткани и общего холестерина через 45 и 60 дней приема данного напитка указывает на возможность применения данного напитка в составе диетической и лекарственной терапии ожирения, заболевания печени, ИБС, атеросклероза и других (т.е. заболеваниях, при лечении которых необходимо снижение холестерина).

6. Данные нашего исследования и имеющиеся в литературе сведения позволяют считать, что напиток, содержащий природный коэнзим, может быть использован как профилактическое дополнительное средство при стрессовых ситуациях, при повышенной физической нагрузке. Ожидаемые эффекты проявляются не ранее чем через 30 дней ежедневного приема напитка с натуральным концентратом «Pavlov Spring».

Заключение: Напиток безалкогольный с натуральным концентратом «Pavlov Spring» не оказывает повреждающего действия на организм и его применение является безопасным. Напиток с «Pavlov Spring» проявляет антиоксидантные свойства при постоянном употреблении.

IV. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА



ОПЛАТА РАБОТ, ВЫПОЛНЯЕМЫХ ТРЕТЬИМИ ЛИЦАМИ

В качестве третьих лиц по данному проекту рассматриваются государственные и частные учреждения, осуществляющие работы по следующим направлениям:

- **Проведение химических и микробиологических анализов сырья**, в том числе на подлинность, доброкачественность, безопасность и соответствие требованиям СНИП в независимой лаборатории - Исследовательская лаборатория ТОО «Нутритест». Для установления подлинности лекарственного растительного сырья используют простейшие качественные реакции и хроматографические пробы на действующие и сопутствующие вещества. Подлинность сырья определяется макроскопическим, микроскопическим, химическим и люминесцентным анализами. В сырье определяется уровень содержания солей тяжелых металлов (мышьяк, свинец, кадмий, ртуть), радионуклеидов (цезий, стронций), эфирное число, массовая доля влаги, посторонние примеси (Ценовое предложение см. Приложение).

- **Проведение доклинических исследований готового продукта** – растительного концентрата в НИИ кардиологии и внутренних болезней РК. На этой стадии потенциальный продукт с биологически активными свойствами растительный концентрат «Сакский коэнзим»® подвергается лабораторным исследованиям и испытаниям на животных (мышах) для анализа его биологической активности, безопасности и доступности (усваиваемости). Эти доклинические испытания помогают определить, можно ли перейти к клиническим испытаниям на людях. На основе доклинических исследований готовится отчет по результатам исследований. (Ценовое предложение см. Приложение).

• **Получение заключения и рекомендации Казахской Академии питания** на концентрат «Сакский коэнзим»® и питьевую лечебную минерально-столовую воду

• **Проведение химических и микробиологических анализов готового продукта** Исследовательской лаборатории ТОО «Нутритест» и регистрация концентрата в реестре Таможенного Союза, включая выдачу свидетельства о государственной регистрации в реестре ТС (Ценовое предложение см. Приложение).

• **Проведение операций дробления ЛРС** (травы и растения). Дробление сырья осуществляется по договору оказания услуг с НПФ «Кызыл май». Для дробления используется специальное оборудование и соответственно операция не может быть выполнена на опытном производстве. (Ценовое предложение см. Приложение).

• **Подготовка окончательного бизнес – плана коммерциализации, включая стратегию выхода на рынок и позиционирование.** Данный бизнес план будут готовить консультанты ТОО «KazIndustrial Engineering Co.», которые в рамках проекта осуществляют постоянную консультационную поддержку в области коммерциализации технологии (Ценовое предложение см. Приложение).

• **Проведение маркетингового исследования целевых сегментов потребителей,** в том числе 5 фокус групп по тестированию готового продукта на протяжении 1 недели, тестированию концепции позиционирования, тестированию упаковки на целевых потребителя, тестированию рекламной концепции продвижения. Данное исследование будет осуществляться ИП «Прогресс».

• **Получение экспертного заключения на проект стандартов организации** (СТ РК на концентрат и «Сакский коэнзим»® и питьевую лечебную минерально-столовую воду и их утверждение в РГП «Казахстанский институт стандартизации и сертификации».

• **Разработка дизайна упаковки** – этикетка, 3D дизайн бутылки воды и бутылки концентрата.(Ценовое предложение см. Приложение). Работы по дизайну упаковки будут выполнены ТОО «Копия».

Общий бюджет оплаты работ, поставляемых третьими лицами в рамках проекта ТОО «SPA-SKY Production» (за весь период проекта)

№	Наименование затрат	Выбранный соисполнитель	Доля в %
1	Проведение химических и микробиологических анализов сырья	ИЛ ТОО «Нутритест»	6,3%
2	Проведение доклинических исследований готового продукта	НИИ кардиологии и внутренних болезней РК	41,3%
3	Получение заключения и рекомендации Казахской Академии питания	Казахская Академия питания	6,3%
4	Проведение химических и микробиологических анализов готового продукта и регистрация концентрата в реестре ТС, получение сертификата соответствия	ИЛ ТОО «Нутритест»	3,5%
5	Проведение операций дробления ЛРС	ПКФ «Кызыл Май»	7,0%
6	Подготовка окончательного бизнес – плана коммерциализации	ТОО «KazIndustrial Engineering Co.»	12,3%
7	Разработка, экспертное заключение и утверждение СТ РК	РГП «Казахстанский институт стандартизации и сертификации»	2,9%
8	Разработка дизайна упаковки	ТОО «Копия»	1,9%
9	Проведение маркетингового исследования целевых сегментов потребителей, включая рекомендации по формированию стратегии выхода на рынок и позиционирования	ИП «Прогресс»	18,5%
	Итого		100%