

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 582.272 : 615.9

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-4-49-55

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ БЕЛОМОРСКИХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ – ФУКУСА ПУЗЫРЧАТОГО И ЛАМИНАРИИ САХАРИСТОЙ НА МОДЕЛИ DAPHNIA MAGNA STRAUS

Н.П. Подосиновичева¹,
К.А. Краснов¹,
А.А. Бондаренко¹,
М.Л. Александрова¹,
М.А. Зайцева¹, В.В. Халаман²

¹ФГБУН «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического
агентства», 192019,
Санкт-Петербург,
Российская Федерация
²Зоологический институт РАН, 199034,
Санкт-Петербург, Российская
Федерация

В работе проведена оценка острой токсичности, безопасности и биологической активности экстрактов липофильных веществ бурых водорослей Белого моря – ламинарии сахаристой (*S. latissima*) и фукуса пузырчатого (*F. vesiculosus*) на модели зоогидробионтов *Daphnia magna* Straus.

Апробировано два способа получения сухого липидного концентрата ламинарии и фукуса. Показано, что острая токсичность липидного экстракта ламинарии не зависит от способа его получения и составляет порядка 200 мг/л. Острая токсичность экстракта фукуса зависит от метода получения. Она составляет около 100 мг/л при «холодном» способе экстрагирования и повышается на порядок при «горячем» методе получения экстракта. Для исследования биологической активности использовались образцы бурых водорослей, полученные методом «холодной экстракции».

В хронических экспериментах препараты бурых водорослей использовали в концентрации 8,0 мг/л, которая составляла менее 0,1 ЛК₅₀ величины острой токсичности фукуса и не вызывала токсических эффектов. На протяжении 24 суток препараты вносили в среду с дафниями дважды в неделю. В дальнейшем контрольные и опытные гидробионты содержались в одинаковых условиях до гибели последних особей. Показано, что препараты ламинарии и фукуса в предложенной концентрации на 20-30% увеличивали продолжительность жизни дафний в условиях нормального содержания и на 50-60% в экстремальных условиях, стимулируя при этом в 3-4 раза репродуктивную активность гидробионтов. Полученные результаты позволяют предполагать наличие у исследованных препаратов выраженных адаптогенных и цитопротекторных свойств.

Ключевые слова: бурые водоросли, *F. vesiculosus*, *S. latissima*, липиды, токсичность, продолжительность жизни, репродуктивная активность, *Daphnia magna* Straus.

Цит: Н.П. Подосиновичева, К.А. Краснов, А.А. Бондаренко, М.Л. Александрова, М.А. Зайцева, В.В. Халаман.

Изучение токсичности и безопасности липофильных экстрактов беломорских бурых водорослей – Фукуса пузырчатого и Ламинарии сахаристой на модели *Daphnia magna* straus. Токсикологический вестник. 2020; 4:49-55

Подосиновичева Нина Павловна (Podosinovichova Nina Pavlovna), кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фармацевтической и токсикологической диагностики ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России, institute@toxicology.ru;

Краснов Константин Андреевич (Krasnov Konstantin Andrejevich), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России, krasnov_tox@mail.ru;

Бондаренко Анастасия Александровна (Bondarenko Anastasiya Aleksandrovna), bondarenko-nastua@yandex.ru;

Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna), кандидат химических наук, заведующая лабораторией фармацевтической и токсикологической диагностики ФГБУН Институт Токсикологии ФМБА России, analekt@mail.ru;

Зайцева Мария Анатольевна (Zaytseva Maria Anatolevna), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией лекарственной токсикологии ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России, alpha-2@mail.ru;

Халаман Вячеслав Вячеславович (Khalaman Vyacheslav Vyacheslavovich), vkhalaman@gmail.com

Введение. Морские бурые водоросли являются ценнейшим источником биологически активных веществ. Наибольшее промышленное значение имеют получаемые из них вещества гидрофильного ряда, такие как альгиновые кислоты, маннит, фукоидан, широко используемые в пищевой, фармацевтической и косметической отраслях [1]. Но особое внимание в современной медико-биологической литературе уделяется липидным компонентам бурых водорослей, которые рассматриваются в качестве перспективных фармакологических средств и БАДов [2, 3, 4].

К числу характерных липидов бурых водорослей относятся каротиноиды (фукоксантин и его аналоги), производные хлорофилла, полиненасыщенные жирные кислоты, стероиды и целый ряд других классов биологически активных веществ [1]. Наиболее важным из них считается фукоксантин, обладающий выраженным антиоксидантным и антимуtagenным действием [5], а также онкопротекторными, цитостатическими [6], антидиабетическими [7], гиполипидемическими [8] и многими другими биологическими свойствами. Производные хлорофилла известны как активные антиоксиданты и иммуномодуляторы [9], а полиненасыщенные жирные кислоты, (особенно ω -3), играют важную роль в регуляции липидного обмена и препятствуют развитию атеросклероза [10]. В связи с этим, липофильные концентраты бурых водорослей широко используются в диетологической практике в составе пищевых добавок и нутрицевтиков [4, 8].

На территории России большое промышленное значение имеют несколько видов бурых водорослей, в частности ламинария сахаристая (*S. latissima*) и фукус пузырчатый (*F. vesiculosus*), произрастающие в районах Белого и Баренцева морей. Комплексные исследования состава этих водорослей, проведенные в работах [1, 11, 12], подтверждают выводы о высокой биологической ценности содержащихся в них липидных веществ. Однако до настоящего времени токсикологические свойства этих липидных комплексов остаются далеко не полностью изученными, что препятствует фармацевтическим разработкам на их основе. Из липидов достаточно подробно исследован только фукоксантин, содержание которого в извлечениях не превышает нескольких процентов.

В связи с этим, в настоящей работе было проведено скрининговое исследование токсичности, безопасности и биологической активности суммы липофильных веществ беломорских водорослей *S. latissima* и *F. vesiculosus* на гидробионтах *Daphnia magna* Straus [14, 15]. Выбор дафний в качестве тест-системы связан с удобством и быстротой получения результатов на данной модели, что важно в условиях скрининга. Определение острой

токсичности образцов позволяет стандартизировать препараты по интегральному параметру. Кроме того, наблюдения за продолжительностью жизни и репродуктивной активностью дафний в хроническом эксперименте позволяют оценить интегральный биологический эффект тестируемой субстанции на живой организм.

Материалы и методы исследования. В работе использовали свежие водоросли *S. latissima* и *F. vesiculosus*, собранные в районе Чупинской губы (мыс Картеш) в период июля 2017 г. Качество собранного сырья контролировали по содержанию каротиноидов. Свежие водоросли промывали проточной водой и замораживали для хранения при -10°C .

Количественное содержания каротиноидов в свежих водорослях и экстрактах определяли методами ТСХ на пластинах Сорбфил в системе ацетон-хлороформ 1:5 (R_f фукоксантина 0.55) и ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu с диодно-матричным детектором (колонка Chromolit Performace C18, 4/6x100 mm, элюент – ацетонитрил - водный раствор муравьиной кислоты 0.1 %, скорость потока 5 мл/мин, время удерживания фукоксантина 3.22 мин. В качестве стандарта использовали фукоксантин 95 % (Sigma).

Получение липидного концентрата *F. vesiculosus*. Метод 1. 1 кг замороженной водоросли *F. vesiculosus* промывали 3 л воды комнатной температуры, отжимали и заливали 2 л этанола 96%. Выдерживали 1 сутки при температуре $20-25^{\circ}\text{C}$. Спирто-водный экстракт сливали и упаривали на ротормном испарителе при давлении 100-200 mbar и температуре водяной бани $60-70^{\circ}\text{C}$ до конечного объема 250 мл. Полученный остаток замораживали, а затем размораживали и отстаивали, отбрасывали 70-150 мл верхнего прозрачного раствора, а целевую нижнюю фракцию с осадком липидных веществ замораживали и лиофилизировали. Полученный сухой липидный концентрат фукуса (Ф-1) растирали, продували аргоном и хранили при (-10°C) .

Метод 2. К 1 кг замороженной водоросли *F. vesiculosus* приливали 3 л горячей (90°C) воды, выдерживали 15 мин и отделяли водный раствор. Процедуру промывки сырья горячей водой повторяли еще 2 раза. Затем к отжатому от воды сырью приливали 2 л этанола 96% и выдерживали 18 ч при температуре $20-25^{\circ}\text{C}$. Спиртоводный экстракт отделяли и упаривали на ротормном испарителе при давлении 100-200 mbar и температуре водяной бани $60-70^{\circ}\text{C}$ до конечного объема 150 мл. Полученный остаток замораживали и лиофилизировали. Сухой липидный концентрат фукуса (Ф-2) растирали, продували аргоном и хранили при (-10°C) .

Аналогично, из замороженной водоросли *S. latissima* по Методу 1 получали сухой липидный

концентрат ламинарии Л-1, а по Методу 2 – сухой концентрат Л-2.

Выход сухих экстрактов и содержание суммы каротиноидов в их составе приведены в таблице 1.

Исследование биологической активности субстанций. Опыты были поставлены на гидробионтах *Daphnia magna Straus* в возрасте 7 суток, выращенных в лабораторных условиях.

При тестировании биологической активности использовали водные растворы исследуемых субстанций. Для этого сухие липидные концентраты бурых водорослей суспензировали в воде с помощью ультразвукового гомогенизатора, получая 0,1% взвеси исследуемых субстанций, которые далее вносили в заданных концентрациях в культивационную среду для гидробионтов.

Изучение острого токсического действия субстанций. Для проведения исследований дафний помещали в стеклянные емкости с 50,0 мл культивационной воды по 5 особей в каждый. Исследуемые субстанции вводили в культивационную среду в пяти возрастающих по логарифмической шкале концентрациях по три параллельных пробы на каждую концентрацию. В качестве контроля использовали три параллельных пробы с культивационной водой. Через 96 часов регистрировали количество погибших дафний [13] и рассчитывали среднюю летальную концентрацию препарата ($ЛК_{50}$) по формуле, приведенной в методике [14]. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Изучение хронического действия субстанций. Хроническое воздействие субстанций исследовали на дафниях, содержащихся в стандартных условиях и в условиях стресса, оценивая продолжительность жизни и репродуктивную активность гидробионтов. В стандартных условиях дафнии содержались в емкостях с 50,0 мл культивационной среды, по 5 особей в каждой емкости. Дафний три раза в неделю кормили суспензией водорослей *Chlorella*. Один раз в две недели вместо *Chlorella* давали суспензию дрож-

жей. Каждая экспериментальная группа включала по 30 дафний, находящихся в 6 емкостях по 5 особей в каждой. Дважды в неделю гидробионтам проводили смену культивационной среды, которая, в случае опытных групп, содержала субстанции ламинарии или фукуса в выбранной концентрации. На протяжении 24 суток дважды в неделю вносили исследуемые субстанции, после чего все группы содержались в одинаковых условиях в чистой культивационной воде. В ходе эксперимента ежедневно учитывали и удаляли народившуюся молодежь и погибших дафний. Наблюдения продолжали до полной гибели всех особей во всех группах.

При изучении хронического воздействия субстанций на гидробионты в условиях стресса, объем культивационной среды уменьшали с 50,0 мл до 10,0 мл и исключали из рациона белково-витаминное питание дрожжами. В экспериментальные группы брали по 10 дафний, каждая из которых содержалась в отдельной емкости. Культивационную среду меняли гидробионтам 2 раза в неделю. На протяжении 24 суток дважды в неделю вносили исследуемые субстанции, после чего контрольная и опытные группы содержались в одинаковых условиях в чистой культивационной воде до полной гибели всех особей в группах.

Результаты и обсуждение. В таблице 2 представлены результаты определения острой токсичности образцов липидных концентратов ламинарии и фукуса для гидробионтов *Daphnia magna Straus* при экспозиции 96 часов.

Из данных, приведенных в таблице 2 следует, что липидные экстракты ламинарии менее токсичны, чем соответствующие экстракты фукуса. При этом летальные концентрации образцов Л-1 и Л-2 были примерно одинаковы, то есть в случае ламинарии токсичность не зависела от технологии выделения липидной фракции. Уровень токсичности субстанций Л-1 и Л-2 соответствует 3-му классу опасности [15]. Токсичность препаратов фукуса заметно различалась: если образец

Таблица 1

Липидные концентраты *S. latissima* и *F. vesiculosus*: выход и содержание суммы каротиноидов

Сырье	Липидный концентрат	Сумма каротиноидов, %	Выход липидного концентрата в пересчете	
			на сырой вес, %	на сухой вес, %
Фукус	Ф-1	3,4	0,56	2,9
	Ф-2	1,9	0,82	4,3
Ламинария	Л-1	1,5	1,02	11,5
	Л-2	4,2	0,31	3,5

Ф-1 по уровню ЛК₅₀ можно отнести к 3-му классу опасности, то образец Ф-2 на порядок более токсичен, соответствуя 2-му классу опасности [15]. Эти различия, очевидно, были связаны с технологическими особенностями получения данных субстанций. Вероятно, обработка сырья горячей водой, используемая при получении Ф-2, изменяла характер последующей экстракции, способствуя выделению в раствор токсичных веществ, присутствующих в составе фукуса.

Для дальнейшего исследования хронического действия были выбраны липидные экстракты ламинарии Л-1 и фукуса Ф-1 (наименее токсичные). Концентрация тестируемых субстанций в хронических экспериментах составила 8,0 мг/л, что не превышало 0,1 ЛК₅₀ выбранного образца Ф-1. С целью установления зависимости эффекта от концентрации, образец Ф-1 тестировали также в концентрации 4,0 мг/л. Во всех экспериментах внесение препаратов прекращалось после 24 суток экспозиции.

Влияние препаратов ламинарии и фукуса на продолжительность жизни *Daphnia magna* в стандартных условиях представлено в таблице 3.

Как видно из представленных данных, продолжительность жизни в группах №2 и №3 была выше, чем в контрольной группе (табл. 3). Под действием экстракта ламинарии средняя продолжительность жизни дафний увеличивалась на 30 %, а экстракта фукуса в группе №3 – на 22 % по сравнению с контролем. Хотя статистически различия не достоверны ($P > 0.05$), тем не менее, они близки к порогу, а на 90% доверительном уровне различия уже значимы. В случае воздействия низкой концентрации липидного экстракта фукуса (группа №4) продолжительность жизни дафний не отличалась от контроля.

В таблице 4 представлены результаты исследования продолжительности жизни дафний в экстремальных условиях содержания при хроническом воздействии экстрактов ламинарии и фукуса в концентрации 8 мг/л.

Как видно из представленных данных (табл. 4), под действием экстракта ламинарии средняя продолжительность жизни дафний увеличивалась на 66 %, а экстракта фукуса – на 50,2 % по сравнению с контролем. Наблюдаемые различия статистически достоверны с вероятностью не

Таблица 2

Летальные концентрации сухих экстрактов водорослей для *Daphnia magna* Straus

Ламинария		Фукус	
Образец, №	ЛК ₅₀ , мг/л	Образец, №	ЛК ₅₀ , мг/л
Л-1	200,0±52,9	Ф-1	115,7±25,3
Л-2	179,4±46,5	Ф-2	15,8±4,0

Таблица 3

Влияние ламинарии и фукуса на продолжительность жизни дафний в условиях стандартного содержания

Продолжительность жизни, сутки	Экспериментальная группа			
	Контроль	Ламинария	Фукус 8 мг/л	Фукус 4 мг/л
	№1	№2	№3	№4
Средняя	32,8	42,8	40,0	33,7
Ошибка среднего	3,0	3,5	3,9	3,1
Станд. отклонение	16,3	19,1	21,6	16,9
Максимальная	60	80	72	56
Минимальная	4	12	0	4

Таблица 4

Влияние ламинарии и фукуса на продолжительность жизни дафний в экстремальных условиях

Продолжительность жизни, сутки	Контроль	Ламинария	Фукус
Средняя	20,0	33,2	30,4
Ошибка среднего	3,8	3,8	3,7
Станд. отклонение	12,0	12,1	11,8
Максимальная	36	48	44
Минимальная	4	8	8

Таблица 5

Влияние липидных концентратов на репродуктивную активность дафний в условиях стандартного содержания

	Контроль	Ламинария 8 мг/л	Фукус 8 мг/л	Фукус 4 мг/л
Число рождений на одну особь	35,7	111,5	167,7	99,0
Коэффициент стимуляции	1,0	3,1	4,7	2,8
Ошибка среднего	20,0	28,0	24,2	17,5
Станд. отклонение	48,9	68,7	59,3	42,8

менее 95%, что может свидетельствовать о наличии у исследуемых субстанций адаптогенного, а также геропротекторного действия. В этой связи интересно отметить, что в литературе описан геропротекторный эффект фукоксантина (компонента бурых водорослей), добавки которого увеличивали продолжительность жизни дрозофил и нематод [16].

Одновременно с регистрацией продолжительности жизни, проводился учет родившейся молодежи. Результаты воздействия субстанций в условиях стандартного содержания дафний отражены в таблице 5.

Статистический анализ данных, проведенный методом Манна-Уитни [17, 18], показал достоверное увеличение репродуктивной активности во всех трех группах, получавших липидные экстракты бурых водорослей. Наиболее выраженная стимуляция рождаемости дафний наблюдалась под действием фукуса в концентрации 8 мг/л, при уменьшении концентрации вещества эффект снижался. Стимулирующий эффект ламинарии в концентрации 8 мг/л был выражен слабее, чем у фукуса в той же концентрации.

Аналогичные результаты были получены и в

случае хронического воздействия исследуемых субстанций на гидробионты, содержащихся в экстремальных условиях (табл. 6).

Из представленных данных видно, что в неблагоприятных условиях препараты бурых водорослей также значительно стимулируют репродуктивную активность дафний, причем отличия от контроля в данном случае еще выше, чем в условиях стандартного содержания дафний. Как и в предыдущем эксперименте, стимуляция репродуктивной активности дафний у экстракта фукуса была выражена сильнее, чем у ламинарии.

Заключение. Таким образом, липидные экстракты ламинарии и фукуса, острая токсичность которых на *Daphnia magna Straus* составляет $200,0 \pm 52,9$ мг/л и $115,7 \pm 25,3$ мг/л соответственно, в хроническом эксперименте в выбранных концентрациях 8 мг/л и 4 мг/л не проявляют токсических эффектов, а напротив, увеличивают как продолжительность жизни, так и репродуктивную активность дафний. Как известно, у дафний в природных условиях стимуляция репродуктивной активности сопровождается снижением продолжительности жизни, подобный эффект может быть получен в лабораторных условиях

Влияние липидных экстрактов на репродуктивную активность дафний в экстремальных условиях содержания

	Контроль	Ламинария 8 мг/л	Фукус 8 мг/л
Число рождений на одну особь	1,7	11,1	14,1
Коэффициент стимуляции	1,0	6,5	8,3
Ошибка среднего	1,5	4,6	5,8
Станд. отклонение	4,7	14,6	18,2

при повышении температуры содержания гидробионтов [13, 14]. В представленных экспериментах введение в среду препаратов ламинарии и фукуса достоверно увеличивало репродуктивную активность, как в оптимальных, так и в экстремальных условиях содержания. При этом продолжительность жизни гидробионтов по сравнению с контролем либо достоверно увеличивалась (в негативных условиях) либо имела тенденцию к увеличению (в нормальных условиях), что свидетельствует об адаптогенном и цитопротекторном действии препаратов бурых водорослей.

Следует отметить, что стимуляция репродуктивной активности под действием липидных кон-

центратов ламинарии и фукуса продолжалась достаточно долго после прекращения введения препаратов. Очевидно, полученный эффект не может быть связан только с улучшением кормовой базы гидробионтов. Полученные результаты дают основания предполагать, что липидные экстракты беломорских водорослей представляют потенциальный интерес для разработки адаптогенных и геропротекторных препаратов.

Результаты работы получены, в том числе в рамках государственной темы «Динамика структуры и функционирования экосистем Белого моря и сопредельных арктических морей». Регистрационный номер №АААА-А19-119022690122-5.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боголицин К.Г., Каплицын П.А., Ульяновский Н.В., Пронина О.А. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей Белого моря // Химия растительного сырья. 2012. №4. С. 153-160.
2. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 2011 29(5): 483-501.
3. Рябушко В.И., Мусатенко Л.И., Войтенко Л.В., Попова Е.В., Нехорошев М.В. Функциональная роль фукоксантина и фитогормонов из морских бурых водорослей. *Альгология*, 2014, 24(1): 20-33.
4. Vadalà M., Palmieri B. From algae to "functional foods". *Clin. Ter.* 2015;166(4): 281-300.
5. Gammone M.A., Riccioni G., D'Orazio N. Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. // *Mar. Drugs*. 2015, 13(10): 6226-46.
6. Martin L.J. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Mar. Drugs*. 2015, 13(8): 4784-98.
7. Maeda H. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review // *J. Oleo Sci.* 2015, 64(2): 125-32.
8. Abidov M., et al. The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat. // *Diabetes Obes Metab.* (2010)
9. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 2011,29(5): 483-501.
10. Delbrut A., Albina P., Lapierre T., et al. Fucoxanthin and Polyunsaturated Fatty Acids Co-Extraction by a Green Process // *Molecules*. 2018 Apr 11; 23(4).
11. Муравьева Е.А. Комплексная технология получения экстрактивных БАВ из бурых водорослей белого моря – Рыбпром. № 3, 2010, С. 54-57.
12. Podolskaya E.P., Gladchuk A.S., Keltsieva O.A., et al. The film chemical deposition technoloques as a tool for fingerprinting of free fatty acids by MALDI-TOF-MS // *Analytical Chemistry*. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b05296. Publ. date (Web) 11 Dec. 2018.
13. ФП.1.39.2007.003222, «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний». М. «АКВАРОС» 2007.
14. ПНД ФТ 14.1:2:3:4.12-06, 16.1:2:2:3:3.9-06. «Методика измерений количества *Daphnia magna* Straus для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, осадков сточных вод, отходов производства и потребления методом прямого счета». М. 2014.
15. Межгосударственный стандарт 12.1.007-76-2007. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Москва: Стандартинформ, 2007.
16. Lashmanova E., Proshkina E., Zhikrivetskaya S., et al. Fucoxanthin increases lifespan of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacol Res.* 2015, 100, P. 228-41.
17. Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables are stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics.* 1947; № 18. P.50-60.
18. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях; Л. 1973.

REFERENCES:

1. Bogolitsyn K.G., Kaplitsyn P.A., Ulyanovskiy N.V., Pronina O.A. Comprehensive study of the chemical composition of the White Sea brown algae. *Chemistry of plant raw materials*. 2012. – Vol. 4. – Pp. 153-160 (in Russian).
2. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 2011.- Vol. 29(5). – Pp. 483-501.
3. Ryabushko V.I., Musatenko L.I., Voytenko L.V., Popova E.V., Nekhoroshev M.V. Functional role of fucoxanthin and phytohormones from marine brown algae. *Algology*. 2014. – Vol. 24(1). – Pp. 20-33 (in Russian).
4. Vadalà M., Palmieri B. From algae to "functional foods". *Clin Ter.* 2015. – Vol. – 166(4). – Pp. 281-300.
5. Gammone M.A., Riccioni G., D'Orazio N. Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. *Mar. Drugs*. 2015. – Vol. 13(10). – Pp. 6226-46.
6. Martin L.J. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Mar. Drugs*. 2015. – Vol. – 13(8). – Pp. 4784-98.
7. Maeda H. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. *J. Oleo Sci.* 2015. – Vol. 64(2). – Pp. 125-32.
8. Abidov M., et al. The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic

fatty liver disease and normal liver fat. *Diabetes Obes Metab.* 2010.

9. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 2011.- Vol. 29(5). - Pp. 483-501.

10. Delbrut A., Albina P., Lapiere T., et al. Fucoxanthin and Polyunsaturated Fatty Acids Co-Extraction by a Green Process. *Molecules.* 2018.- Vol. 23(4).

11. Murav'eva E.A. Complex technology for producing extractive BAS from white sea

brown algae. *Rybprom.* - 2010. - Vol. 3. - Pp. 54-57 (in Russian).

12. Podolskaya E.P., Gladchuk A.S., Keltsieva O.A., et al. The film chemical deposition technoloques as a tool for fingerprinting of free fatty acids by MALDI-TOF-MS. *Analytical Chemistry.* DOI: 10.1021/acs.analchem.8b05296. Publ. date (Web) 11 Dec. 2018.

13. FR. 1.39.2007.003222, "Methods for determining the toxicity of water and water extracts from the soil, sewage sludge, waste from mortality and changes in the fertility of *Daphnia*". М. «AKVAROS» 2007

(in Russian).

14. PND FT 14.1:2:3:4.12-06, 16.1:2:2.3:3.9-06. "Methods of measuring the quantity of *Daphnia magna* Straus to determine the toxicity of drinking, fresh natural and waste waters, water extracts from soils, sewage sludge, production and consumption wastes by direct counting method". М. 2014 (in Russian).

15. Interstate standard 12.1.007-76-2007. Occupational safety standards system. Noxious substances. Classification and general safety requirements. М: Standartinform, 2007 (in Russian).

16. Lashmanova E., Proshkina E., Zhikrivetskaya S., et al. Fucoxanthin increases lifespan of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacol Res.* 2015. - Vol. 100. - Pp. 228-41.

17. Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables are stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics.* 1947.- Vol. 18. - Pp. 50-60.

18. Gubler E.V., Genkin A.A. Application of non-parametric test for statistics in biomedical research; L. 1973 (in Russian).

N.P. Podosinovicova¹, K.A. Krasnov¹, A.A. Bondarenko¹, M.L. Alexandrova¹, M.A. Zaytseva¹, V.V. Khalaman²

STUDY OF TOXICITY AND SAFETY OF LIPOPHILIC EXTRACTS OF THE WHITE SEA BROWN ALGAE – *FUCUS VESICULOSUS* AND *LAMINARIA SACCHARINA* ON THE *DAPHNIA MAGNA STRAUS* MODEL

¹Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

²White Sea Biological Station, Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, 199034, Saint Petersburg, Russian Federation

Assessment of the acute toxicity, safety and biological activity of lipophilic extracts of the White Sea brown algae – *S. latissima* and *F. vesiculosus* – on the model of zoohydrobionts *Daphnia magna* Straus has been performed.

Two methods of obtaining dry lipid concentrate of kelp and fucus were tested. It has been shown that the acute toxicity of the lipid extract of kelp does not depend on the method of its preparation and is about 200 mg/L. The acute toxicity of fucus extract depends on the method of preparation. It is about 100 mg/L in the «cold» method of extraction and increases by an order of magnitude in the «hot» method. To study the biological activity, samples of brown algae obtained by «cold» extraction were used.

In chronic experiments, preparations of brown algae were used in a concentration of 8.0 mg/L, which was less than 0,1 LC₅₀ of the acute toxicity of fucus and did not cause toxic effects.

For 24 days, the preparations were introduced in contact with *Daphnia* twice a week. Subsequently, the control and experimental hydrobionts were kept under the same conditions until the death of the last individuals. It has been shown that the preparations of *S. latissima* and *F. vesiculosus* in the proposed concentration by 20-30% increased the lifespan of *Daphnia* in normal conditions and by 50-60% in extreme conditions, while stimulating the reproductive activity of aquatic organisms by 3-4 times. The results obtained suggest that the studied drugs have pronounced adaptogenic and cytoprotective effects.

Keyword: brown algae, *F. vesiculosus*, *S. latissima*, lipids, toxicity, lifespan, reproductive activity, *Daphnia magna* Straus.

Quote: N.P. Podosinovicova, K.A. Krasnov, A.A. Bondarenko, M.L. Alexandrova, M.A. Zaytseva, V.V. Khalaman. Study of toxicity and safety of lipophilic extracts of White Sea brown algae – *Fucus vesiculosus* and *Laminaria saccharina* on the *Daphnia magna* Straus model. *Toxicological Review.* 2020; 4:49-55.

Переработанный материал поступил в редакцию 20.12.2019 г.

