л воды в течение 14 суток, поскольку в этой дозировке на животных данной возрастной группы достигаются максимальные улучшения клинических и гомеостатических показателей.

Список литературы

1. Абрамов В.Е. Лексофлон – новое средство лечения телят при респираторных болезнях / В.Е. Абрамов, А.В. Балышев, Л.М. Кашковская, М.И. Сафарова // Ветеринария. 2017. – № 2. – С. 11-15.

2. Галин А.А. Результаты испытания гепатопротектора «Гепалан» на участке опороса в условиях промышленного свиноводства / А.А. Галин, И.Н. Токарев // Эффективное животноводство. 2015. –№ 12(121). – С. 40-42.

3. Лоретц О.Г. Здоровье и молочная продуктивность коров в условиях техногенеза / О.Г. Лоретц, И.М. Донник, Н.Х. Климова // Аграрный Вестник Урала. 2012. – № 4. – С. 17-19.

4. Миронова О.А. Вегетативная активность у поросят, больных гепатитом микотоксикозной этиологии / О.А. Миронова, А.И. Бутенков, А.В. Коваленко // Ветеринарная патология. 2009. – № 3. – С. 92.

5. Моргунова В.И. Нарушение обмена веществ у супоросных свиноматок и разработка мероприятий по его нормализации / В.И. Моргунова, Г.Г. Чусова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2018. – № 1(2). – С. 35-39.

6. Чусова Г.Г. Обменные процессы у поросят в условиях промышленных технологий выращивания / Г.Г. Чусова, В.И. Моргунова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2018. – № 1(2). – С. 100-106.

7. Konstandi M. Psychophysiological stress: a signifi-cant parameter in drug pharmacokinetics / M. Konstandi // Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol. – 2013. – Vol. 9, N10. – P. 317-1334. – doi: 10.1517/17425255.2013.816283.

8. Pan P.H. Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats / P.H. Pan, S.Y. Lin, Y.Y. Wang, W.Y. Chen, Y.H. Chuang, C.C. Wu, C.J. Chen // Free Radical Biology and Medicine. 2014. №73. P. 106-116.

9. Savinkov A.V., Lapteva E.I., Semenenko K.A., Semenenko M.P., Ermakov V.V., Kuzminova Influence of mineral-protein feed additive on the characteristics of the bone tissue of the vertebrae of cattle in alimentary osteodystrophy. E.V. В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. 2020. – 548. – 42064.

10. Semenenko M.P., Grin V.A., Semenenko K.A., Kuzminova E.V., Rogaleva E.V. Hepatoprotective efficiency of selenolin studied on the model of acute liver failure in rats В сборнике: E3S Web of Conferences. Сер. "International Scientific and Practical Conference "Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: Current Issues, Achievements and Innovations", FARBA 2021" 2021. – 254. – 09018.

DOI: 10.48612/zt1b-dd6u-m9tf
УДК 619:615.076

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ К КОМБИНИРОВАННОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Василиади Ольга Игоревна, аспирант
Лазаревич Любовь Викторовна, аспирант
Семененко Ксения Андреевна
Долгов Евгений Петрович
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Российская Федерация

В статье описан эксперимент по изучению мембраностабилизирующей активности веществ с антиоксидантной активностью растительного происхождения (дигидрокверцетин и силимарин) с использованием метода биотестирования, при котором оценивалась выживаемость инфузорий *Paramecium caudatum*. Экспериментально доказано наличие у исследуемых

веществ мембраностабилизирующей активности. Так, ИБА дигидрокверцетина был равен – 2,3, силимарина – 2, а комплекса антиоксидантов – 2,7, что соответствует критерию «вещество значительно повышает жизнеспособность парамеций». Также было подобранно наиболее эффективное соотношение фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина, равное 1:10, которое позволило сохранить двигательную активность парамеций до 4 минут.

Ключевые слова: антиоксиданты; мембраностабилизирующая активность; биотестирование; парамеции

EXPERIMENTAL PREREQUISITES FOR THE COMBINED USE OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN VETERINARY PHARMACOLOGY

Vasiliadi Olga Igorevna[1], PhD student
Lazarevich Lubov Viktorovna[1], PhD student
Semenenko Ksenia Andreevna
Dolgov Evgeny Petrovich
Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russian Federation

The article describes an experiment to study the membrane-stabilizing activity of substances with antioxidant activity of plant origin (dihydroquercetin and silymarin) using the biotesting method, in which the survival rate of ciliates *Paramecium caudatum* was assessed. The presence of membrane-stabilizing activity in the studied substances has been experimentally proved. Therefore, the IBA of dihydroquercetin was 2.3, silymarin – 2, the complex of antioxidants – 2.7, which corresponds to the criterion “the substance significantly increases the viability of paramecium”. In addition, the most effective ratio of phytopreparations dihydroquercetin and silymarin equal to 1:10 was selected, which made it possible to maintain the motor activity of paramecium for up to 4 minutes.

Key words: antioxidants; membrane stabilizing activity; biotesting; paramecium

В современной фармакологии одной из приоритетных задач является поиск новых веществ, проявляющих биологическую активность. На данный момент из-за значительного распространения гепатопатий у животных изучение и разработка новых препаратов, обладающих гепатопротекторной эффективностью, сохраняет свою актуальность. В основе патогенеза гепатопатий лежат процессы свободно-радикального окисления липидов, что вызывает дестабилизацию и деструкцию субклеточных мембран гепатоцитов, нарушение метаболизма с развитием ферментемии и цитотоксических эффектов [2, 4, 7].

Для нормализации функции печени в медицинской практике успешно используют антиоксиданты – вещества, ингибирующие реакции свободнорадикального окисления липидов. В эксперименте и на практике показана эффективность назначения антиоксидантных препаратов растительного происхождения в случаях, когда патогенез заболевания связан с развитием эндотоксикоза. Также считается, что фитопрепараты являются средствами первого выбора, так как синтетических альтернатив им, например, при токсических поражениях печени, нет. Препараты из лекарственных растений имеют значительные преимущества в силу того, что они не накапливаются в организме животных, не оказывают побочных действий таких, как дисбактериоз, заболевания системы крови, медикаментозные гепатиты [1, 3, 5].

К наиболее перспективным фитопрепаратам, обладающим гепатопротекторными и антиоксидантными свойствами, относятся дигидрокверцетин и силимарин [8].

Для изучения биологической активности веществ применяются определенные методы оценки, такие как экспериментальные модели с использованием культур клеток. Биотестирование – это оценка реакции тест-организмов на ту или иную субстанцию. В качестве тест-организмов обычно используют низшие организмы, такие как представители подцарства простейших – инфузории.

В данном эксперименте для оценки биологической активности растительных антиоксидантов была использована модель сво-

бодноживущей инфузории-туфельки *Paramecium caudatum,* которая имеет двойственную природу. Так она, с одной стороны, содержит все структурные признаки клетки, но, с другой стороны, на внешние раздражители реагирует как самостоятельный организм. Поверхность инфузорий покрыта ресничками, которые за счет ионных каналов, встроенных в мембрану ресничек, играют роль хеморецепторов и реагируют на растворенные химические вещества, а также формируют двигательную активность парамеций. В результате снижения мембранного потенциала при добавлении токсиканта клетки замедляют свое движение и изменяют траекторию. Мембраностабилизирующую активность изучаемых веществ оценивают по их способности повышать толерантность парамеций к клеточным ядам [6, 9, 10].

Цель исследования – изучение мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина на тест-системе *Paramecium caudatum*.

Методика исследований. В качестве объектов исследования использовались фитопрепараты дигидрокверцетина (ДГК) и силимарина. Первым компонентом являлся ДГК, находящийся в составе кормовой добавки «Экостимул-2» (АО «Аметис»), с содержанием активнодействующего вещества не менее 70 %. Второй компонент был представлен сухим растительным экстрактом расторопши пятнистой с содержанием силимарина не менее 80 %.

В опыте использовали суточные культуры *Paramecium caudatum*, которых культивировали в контейнерах с плотно прилегающей крышкой, температурный диапазон поддерживался в пределах от 20 до 26°С.

Эксперимент проходил в несколько этапов. На 1 этапе определяли индивидуальную мембраностабилизирующую активность силимарина и дигидрокверцетина, на 2 этапе изучали эффективность от комплексного применения этих веществ. Результаты оценивали по продолжительности двигательной активности инфузорий, их направленного движения и формы клеток. В качестве токсиканта использовалась 3 % раствор перекиси водорода, который расщепляется с образованием свободных радикалов и повреждает преимущественно липидный слой мембраны. Повреждающая концентрация и объем раствора токсиканта были предварительно подобраны экспериментальным путем.

В ходе опыта первого этапа на предметное стекло наносили 4 пробы – в количестве 0,05 мл среды, содержащей *Paramecium caudatum* (в поле зрения находилось не менее 5 особей). К 3 пробам тангециально добавляли соответствующие объемы исследуемых веществ и выдерживали 10 минут, четвертая проба служила контролем, в ней исследуемые вещества заменили на 0,05 мл дистиллированной воды. После этого ко всем 4 пробам добавляли 0,05 мл 3 % раствора перекиси водорода. Затем фиксировали время остановки парамеций в каждой пробе, в результате учитывались средние значения по 3 повторностям. Опыт повторялся для каждого вещества в отдельности, также использовали различные концентрации фитопрепаратов для выявления наибольшей их активности.

На втором этапе эксперимента оценивалась мембраностабилизирующая активность комплекса растительных компонентов – дигидрокверцетина и силимарина, методика выполнения опыта повторялась без изменений. В таблице 1 отображены комбинации фитопрепаратов с их порядковым номером.

Таблица 1 – Номера комбинаций фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина

№ п/п	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Соотношение ДГК : силимарин	Контроль	2:10	2:8	2:7	2:5	1:4	1:6	1:8	1:10	3:5	3:8

Индекс биологической активности (ИБА) скринингуемого (исследуемого) вещества рассчитали по формуле (1):

$$ИБА = \frac{ТО}{ТК}; \quad (1)$$

где ИБА – индекс биологической активности скринингуемого (исследуемого) вещества;

ТО – продолжительность жизни (в минутах) парамеций под действием 0,05 мл 3%-го раствора перекиси водорода, предварительно находящихся 10 минут в среде Лозина-Лозинского с исследуемой концентрацией скринингуемого (исследуемого) соединения;

ТК – продолжительность жизни (в минутах) парамеций под действием 0,05 мл 3%-го раствора перекиси водорода, предварительно находящихся 10 минут в контрольной среде с добавлением дистиллированной воды.

Критерии биологической активности исследуемого вещества:

ИБА = 1,0 ± 0,1 – вещество не активно;

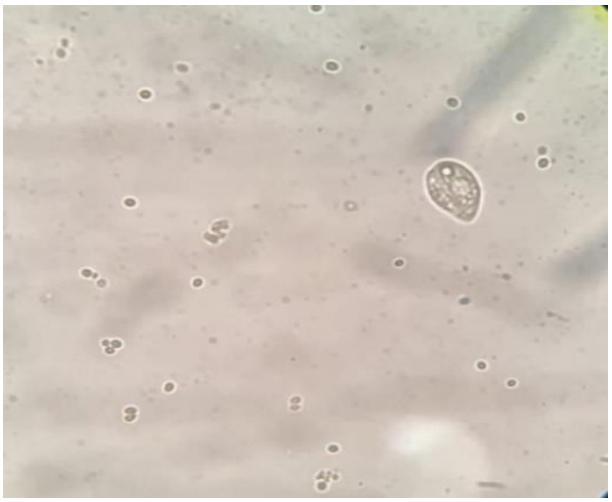
ИБА > 1,0 ± 0,1 – вещество повышает жизнеспособность парамеций;

ИБА < 1,0 ± 0,1 – вещество снижает жизнеспособность парамеций.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ статистического анализа Statistica 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение. В связи со способностью инфузорий поглощать вещества всей поверхностью тела, при добавлении в среду с парамециями токсиканта его проникновение через мембрану внутрь инфузории происходит сразу же. Токсические вещества, попадающие в клетку, нарушают ее жизнедеятельность, что сказывается и на выделительной системе – число сокращений выделительных вакуолей уменьшается, вплоть до полной блокады их функций.

На рисунке 1 представлено разрушение клеточной мембраны под действием 3 % раствора перекиси водорода.



А – до добавления токсиканта

Б – после добавления токсиканта

Рисунок 1 – Действие 3 % раствора перекиси водорода на мембрану инфузорий *Paramecium caudatum*

В результате проведенных исследований по оценке мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов с использованием 3 % раствора перекиси водорода установлено, что время остановки движения инфузорий в контрольной пробе составило 1,5±0,08 минут. Фитопрепарат дигидрокверцетина проявляет наибольшую мембраностабилизирующую активность при концентрации 1×10^{-7} (рис. 2), а силимарина – при концентрации 1 %, что увеличивает длительность двигательной активности инфузорий в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 3). Индекс биологической активности дигидрокверцетина равен 2,3, а силимарина – 2, что согласно критериям биологической активности веществ, характеризуется как повышение жизнеспособности парамеций.

Результаты оценки мембраностабилизирующей активности комплекса из фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина представлены в таблице 2.

Из таблицы видно, что комбинация под номером 8 максимально увеличила время сохранения подвижности и целостность клеточной мембраны инфузорий. В данной комбинации соотношение дигидрокверцетина к силимарину составляет 1:10. При этом, длительность движения парамеций в этой пробе составила 4,0 минуты, что в 2,7 раз больше, чем в контроле.

Произведенные расчеты индекса биологической активности скринингуемого вещества показали, что ИБА комплекса антиоксидантов равен 2,7, что соответствует критерию ИБА > 1,0 ± 0,1, следовательно, исследуемое вещество значительно повышает жизнеспособность парамеций.

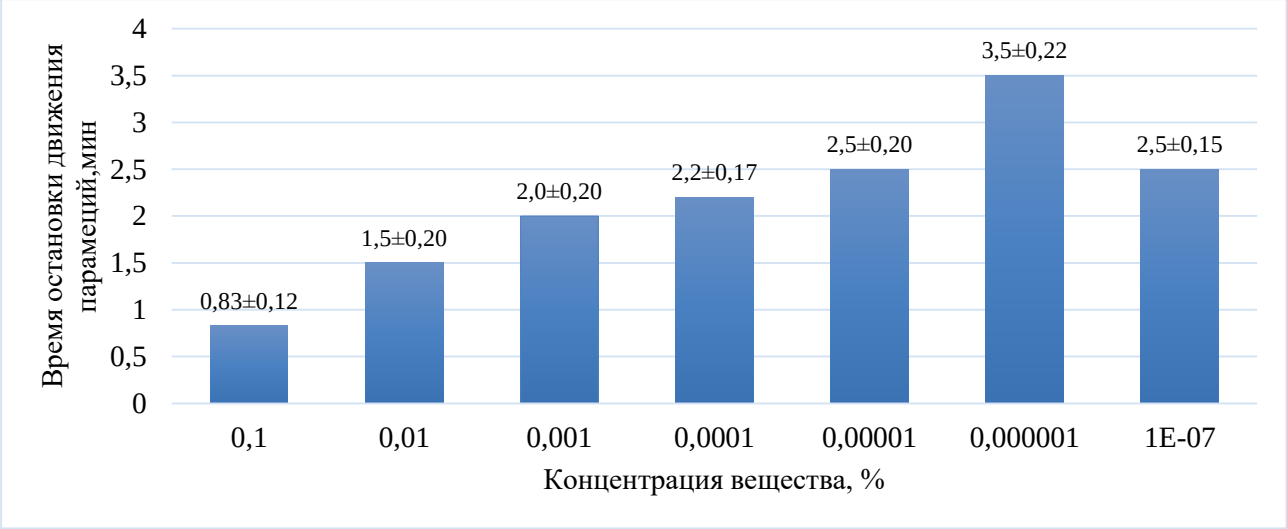


Рисунок 2 – Мембраностабилизирующая активность дигидрокверцетина

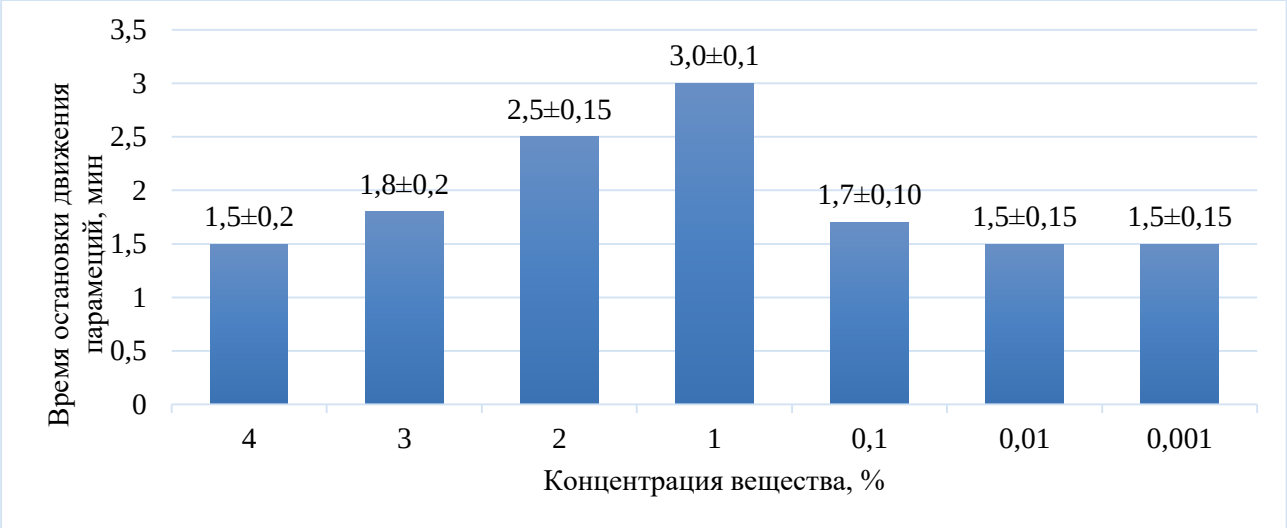


Рисунок 3 – Мембраностабилизирующая активность силимарина

Таблица 2 – Мембраностабилизирующая активность комплекса фитопрепаратов ДГК и силимарина

Номер комбинации	Время остановки движения парамеций, мин
1	1,5±0,12
2	3,0±0,16
3	3,5±0,20
4	3,1±0,18
5	3,0±0,10
6	3,2±0,22
7	3,6±0,15
8	4,0±0,13
9	3,0±0,20
10	3,0±0,19

Выводы. Экспериментально доказано наличие у исследуемых веществ (дигидрокверцетина и силимарина) мембраностабилизирующей активности, при этом наиболее эффективное соотношение фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина равно 1:10.

Список литературы

1. Антипов В.А. Фармако-токсикологическая оценка технического препарата бета-каротина / В.А. Антипов, Д.Н. Уразаев, Е.В. Кузьминова // В книге: Разработка и освоение производства нового поколения лекарственных средств для животных и их применения в ветеринарной практике. Всероссийская научно-практическая конференция. 2000. – С. 69-70.
2. Кузьминова Е.В. Современные подходы к лечению гепатопатий крупного рогатого скота / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Т.А. Шахмеликьян // Вестник ветеринарии. 2011. – № 4 (59). – С. 135-137.
3. Кузьминова Е.В. Фармако-токсикологическое обоснование применения каролина в животноводстве и ветеринарии: диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Е.В. Кузьминова. Краснодар. 2001. – С. 180.
4. Кузьминова Е.В. Эффективность каротиноидов при токсическом поражении печени / Е.В. Кузьминова, В.С. Соловьев, М.П. Семененко, С.Н. Николаенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2009. – № 1-2. – С. 117-119.
5. Медетханов Ф.А. Гепатопротекторные свойства Нормотрофина / Ф.А. Медетханов, И.Г. Галимзянов // Вестник ветеринарии. 2014. – № 2(69). – С. 79-81.
6. Методические рекомендации «*Paramecium caudatum* – как модель *in vitro* для изучения биологической активности веществ различной природы» / Н.Г. Иванова, Н.Р. Телесманич, И.Н. Андреева, Н.Г. Преферанская, Е.А. Меньшикова. Ростов-на-Дону. 2001. – С. 24.
7. Петенко А.И. Использование препаратов нового поколения – синбиотиков, как перспективных кормовых добавок / А.И. Петенко, Д.В. Осепчук, С.И. Кононенко, Н.А. Юрина : в сборнике: Перспективы производства продуктов питания нового поколения. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти профессора Сапрыгина Георгия Петровича. 2017. – С. 117-119.
8. Роговский В.С. Антипролиферативная и антиоксидантная активность новых производных дигидрокверцетина / В.С. Роговский, А.И. Матюшин и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2010. – № 9. – С. 39-42.
9. Семененко М.П. Доклиническое изучение гепатозащитного средства / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Е.В. Тяпкина, О.А. Фомин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2015. – № 2. – С. 141-143.
10. Semenenko M.P. Opportunities of complex hepatosis therapy in cattle / M.P. Semenenko, D.V. Osepchuk, N.A. Yurina, E.V. Kuzminova, K.A. Semenenko // В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. 2020. – С. 42-48.

DOI: 10.48612/5p9p-u69m-91rx
УДК 619:615.9:636.02

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ОСТЕОГЕННОГО ПРЕПАРАТА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Власенко Артем Андреевич[1], аспирант
Семененко Марина Петровна[1], д-р вет. наук
Кузьминова Елена Васильевна,[1], д-р вет. наук
Винокурова Диана Петровна[2], канд. вет. наук
[1]ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Российская Федерация