

*На правах рукописи*



**ЛАНЕЦ ОЛЬГА ВАДИМОВНА**

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И  
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ФИТОГЛИНОЛ В  
МОЛОЧНОМ СКОТОВОДСТВЕ**

**06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией**

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Краснодар – 2021

Работа выполнена в Краснодарском научно-исследовательском ветеринарном институте – обособленном структурном подразделении федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

**Научный руководитель:**

**Семененко Марина Петровна**, доктор ветеринарных наук, доцент, заслуженный деятель науки Кубани

**Официальные оппоненты:**

**Оробец Владимир Александрович**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

**Дельцов Александр Александрович**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии, фармакологии и токсикологии им. А.Н. Голикова и И.Е. Мозгова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

**Ведущая организация:**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж

Защита состоится «14» декабря 2021 г., в 9 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13, корпус факультета ветеринарной медицины.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайтах: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» – <http://www.kubsau.ru> и ВАК – <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Винокурова Диана Петровна

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Молочное скотоводство, являясь одной из основных отраслей современного животноводства, выполняет важную стратегическую роль в обеспечении продовольственной безопасности нашей страны, служа индикатором стабильности и перспективности ее сельскохозяйственного производства. При этом для получения максимальной выгоды и продуктивности дойного стада в молочном скотоводстве используются новые промышленные технологии, повышающие эффективность функционирования производства молока на основе модернизации, механизации и автоматизации молочных комплексов и ферм. Однако применение любых промышленных технологий на сельскохозяйственных предприятиях сопровождается постоянным влиянием на организм коров стрессовых факторов различной силы и длительности, что вызывает у животных глубокие, а зачастую даже необратимые, нарушения метаболических процессов, приводящих к развитию ряда патологий (Сидорова В.Ю., 2014; Иванова М., 2009; Никитченко С.Л., Смыков С.В., 2014; Огородников П.И., Коваленко Г.Л., Спешилова И.В., 2018).

К развитию стрессовой дезадаптации приводят нарушения условий содержания животных, плотность размещения, микроклимат помещений, перегруппировки, транспортировка, гиподинамия, высококонцентрированный тип кормления, биологическая неполноценность рационов, лечебные и профилактические мероприятия. При этом стрессогенные факторы оказывают существенное влияние на проявление как продуктивных, так и физиологических возможностей организма (Фурдуй Ф.И., 1978; Чеченихина О.С., 2016, 2019; Dantzer R., 2001).

Стресс, являясь, по сути, адаптивным ответом животного на неблагоприятные изменения окружающей среды, способствует мобилизации энергетических запасов в организме, одновременно вызывая напряжение всех физиологических процессов для поддержания общего гомеостаза, позволяя корове быстро реагировать на отклонения от «комфортных условий» жизни (Лысенко В.И., 2020). Однако очень часто у животных возникает срыв адаптационных механизмов, сопровождающийся активацией процессов свободнорадикального окисления липидов на фоне депрессивных изменений в антиоксидантной системе организма (Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И., 1988; Рецкий М.И., 1997). Это приводит к накоплению в организме токсических продуктов перекисного окисления липидов и к деструктивным изменениям клеточных мембранных образований, что усугубляет отрицательные последствия стресса (Мухамедьярова, Л.Г., 2013; Карбышев М.С., 2018; Darenskaya M.A. et al., 2020; Vona R. et al., 2019; Шабунин С.В., Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю. и др., 2020).

На фоне выраженного физиологического истощения под воздействием стресса и стресс-факторов на организм продуктивных животных необходимым является проведение адекватной фармакологической коррекции, направленной на устранение последствий свободно-радикальных реакций окислительного дисбаланса в организме (Востроилова Г.А., Хохлова Н.А., Чаплыгина Ю.А., 2019, 2020; Konopelniuk V.V. et al., 2017; Semenenko M. et al., 2020).

Исходя из этого, разработка лекарственных средств, способствующих снижению отрицательных последствий стресса, имеет большое практическое значение. Препараты, включающие компоненты адаптогенного и антиоксидантного характера, позволят не только предотвратить или нивелировать стрессовое воздействие, но и усилить антиоксидантную защиту организма, нормализовать метаболические процессы, а также повысить резистентность животного к неблагоприятным факторам окружающей среды.

**Степень разработанности темы.** Изучением воздействия стрессогенных факторов на животных, патогенетических механизмов их развития, физиологических, биохимических, функциональных и структурных изменений, а также адаптационных возможностей организма к новым ситуациям, занимались такие ученые, как С.В. Волкова, С.Р. Мелешкина (2008); Н.П. Зуев, Р.А. Мерзленко (2009); Г.Н. Близнецова (2010); И.А. Супрун (2012); Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова (2013); Е.А. Гусакова (2013); Г.А. Востроилова и др. (2015); Д.И. Гильдилов (2020); L.Locher, T. Sattler, T.Wittek (2011); В. Kumar, А. Manuja, Р. Aich (2012); Р.А. Gonzalez-Rivas et al. (2020).

Разработке диагностических подходов и испытанию безопасных терапевтических средств и приемов коррекции стрессов посвящены значимые работы Н.П. Мещерякова, В.С. Бузламы, И.В. Трутаева, С.В. Шабунина (2000, 2008); П.А. Паршина, Г.А. Востроиловой с соавт. (2019); В.А. Оробец, И.В. Киреева с соавт. (2011, 2016, 2020); А.А. Дельцова с соавт. (2018, 2020); Н.И. Ярован с соавт. (2015); J. Lykkesfeldt, O. Svendsen (2006); R.P. Rhoads et al. (2013); Q. Han et al. (2021).

Однако несмотря на значительный опыт изучения влияния негативных факторов внешней среды на организм животных, современных комплексных инъекционных противострессовых препаратов в арсенале ветеринарной фармакологической науки крайне мало, а аспекты применения данных препаратов у крупного рогатого скота изучены недостаточно, что и стало основой для определения цели и задач исследований.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы явилась разработка препарата, обладающего антиоксидантным и стресс-протекторным действием на организм животных, изучение его фармако-токсикологических свойств и клинической эффективности при стрессе у крупного рогатого скота.

Для достижения **цели** определены к изучению следующие задачи:

1. Провести фармацевтическую разработку препарата фитоглинол;
2. Изучить параметры общетоксического действия препарата на организм животных;
3. Изучить специфическую фармакологическую активность препарата фитоглинол (анксиолитическое, антиоксидантное и стресс-протекторное действие) на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных;
4. Изучить клиническую эффективность препарата фитоглинол на коровах сухостойного и раннего послеперельного периода.

**Научная новизна работы.** В результате комплексных исследований разработан новый инъекционный препарат, обладающий стресс-протекторной и антиоксидантной активностью, определены его физико-химические и фармако-токсикологические характеристики. На экспериментальных моделях установлено выраженное анксиолитическое и стресс-протекторное действие фитоглинола, проявляемое снижением уровня тревоги и стрессового состояния у животных. Выявлено положительное влияние препарата на снижение интенсивности процессов липопероксидации и улучшение метаболического статуса организма. Экспериментально и клинически обоснована перспективность использования фитоглинола в ветеринарной практике в условиях животноводческих комплексов при оксидативном стрессе у коров сухостойного и раннего послеотельного периода.

Полученные данные позволяют дополнить и значительно расширить представления о механизмах антиоксидантного и стресс-протекторного действия препарата фитоглинол на организм животных. По результатам исследований получено положительное решение на выдачу патента РФ на изобретение № 2020132529/04 (059241) «Фармакологическое средство, обладающее антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами».

**Теоретическая и практическая значимость.** По результатам исследований для практической ветеринарии и животноводства предложен новый комплексный инъекционный препарат, обладающий широким спектром фармакологической активности, стресс-протекторным и антиоксидантным действием. Результаты по оценке безопасности и специфического действия препарата фитоглинол на лабораторных и сельскохозяйственных животных позволили экспериментально обосновать его клиническую эффективность при стрессах различного генеза.

По результатам исследований разработана временная инструкция по применению препарата фитоглинол в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), рассмотренная и одобренная Ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол №7 от 06.09. 2021 г.).

**Методология диссертационной работы.** Методология работы спланирована в соответствии со структурой и задачами исследования. Объектом исследования явились лабораторные животные (белые крысы, белые мыши, кролики, морские свинки) и коровы сухостойного и раннего послеотельного периода, а также препарат фитоглинол.

Предметом исследования служили кровь и сыворотка крови лабораторных и продуктивных животных, изучение анксиолитических, стресс-протекторных, антиоксидантных свойств фитоглинола на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных.

В работе использовались утвержденные методики исследования доклинических, клинических свойств и эффективности действия новых лекарственных препаратов, методы научного поиска, анализа, сравнения, обобщения и статистической обработки результатов.

**Степень достоверности и апробация работы.** Статистическая обработка полученных материалов исследований выполнена с использованием современных цифровых и аналитических систем, что подтверждает достоверность полученных результатов. Для анализа экспериментальных проб использовалось высокотехнологическое лабораторное оборудование, позволяющее получать достоверные данные и минимизировать ошибки.

**Апробация и реализация результатов научных исследований.** Основные результаты исследований, представляющие собой основу диссертационной работы, доложены, обсуждены и одобрены на: заседаниях Ученого совета Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института и Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии (2019-2021 гг.); VI Международной научно-практической конференции «Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции» (Краснодар, 2020); XIII Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Донского государственного технического университета в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш» (Ростов-на-Дону, 2020); VI Международной научно-практической онлайн-конференции «Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы» (Майкоп, 2020); IV Международной научно-практической конференции «Научные исследования в современном мире: опыт, проблемы и перспективы развития» (Уфа, 2020); Международных научно-практических конференциях «Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных» (Краснодар, 2019-2021); Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии» (Самара, 2021); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии» (Костанай, Республика Казахстан, 2021).

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

- фармацевтическая разработка стресс-протекторного препарата фитоглинол;
- экспериментальные данные по изучению токсикологических свойств препарата;
- специфическая активность препарата фитоглинол (анксиолитическое, антиоксидантное и стресс-протекторное действие) на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных;
- клиническая эффективность фитоглинола при оксидативном стрессе у коров.

**Личный вклад соискателя.** Основные исследования, приведённые в диссертации, выполнены лично соискателем на современном методическом уровне и в достаточном объеме. Доля участия автора в получении результатов исследований составляет 88 %, а в статистической обработке и анализе материалов – 90 %.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ в сборниках Международных конференций и центральных научных журна-

лах, из которых 3 – в научных изданиях, рецензируемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, а также 1 статья, входящая в международную библиографическую базу данных «Scopus».

**Объем и структура диссертационной работы.** Работа выполнена на 180 страницах стандартного компьютерного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования, заключения, выводы и практические предложения, а также список использованной литературы и приложения. Библиографический список включает 251 источник, в том числе – 67 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 36 таблицами и 33 рисунками.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диссертационная работа выполнена в период с 2018 по 2021 гг. в ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» на базе отдела фармакологии Краснодарского научно-исследовательского института в соответствии с планом научно-исследовательских работ по направлению 160. Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных с № госрегистрации АААА-А19-119111590044-2 (0688-2019-0019).

В проведении отдельных лабораторных исследований и клинических испытаний принимали участие М.П. Семенов, Е.В. Кузьмина, Е.В. Рогалева, А.А. Абрамов, Е.В. Долгов.

Экспериментальная часть исследований посвящена разработке и изучению фармако-токсикологических и специфических свойств нового инъекционного препарата фитоглинол, обладающего антиоксидантным и стресс-протекторным действием на организм животных, а также его клинической эффективности в производственных условиях.

Все исследования проведены в соответствии с этическими принципами экспериментирования на животных, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1987) и на основании «этического кодекса», содержащего международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (Запорожан В.Н., 2005).

Основной объект исследования – фитоглинол, комплексный инъекционный препарат, в состав которого входит дигидрокверцетин (*Dihydroquercetinum*), аминокислота глицин (*Glycine*) и янтарная (*Acidum succinicum*) кислоты, водный экстракт душицы обыкновенной (*Origanum Vulgare L.*), диметилсульфоксид (*Dimethylsulfoxide*) и вода для инъекций.

Дополнительными объектами исследования служили лабораторные и продуктивные животные – белые беспородные крысы (n=180), белые беспородные мыши (n=24), морские свинки (n=10), кролики (n=13), коровы стельные (n=40) и

новотельные (n=30) голштинской породы молочного направления в возрасте 3-4 лет.

Лабораторные исследования по изучению токсикометрических характеристик препарата, его фармакологических свойств и специфической активности были проведены на базе отделов фармакологии и эпизоотологии, микологии и ВСЭ ФГБНУ КНЦЗВ, а также в условиях вивария Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института – обособленного структурного подразделения ФГБНУ КНЦЗВ. Клинические эксперименты проведены в учебно-опытном хозяйстве «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

При проведении экспериментов были использованы следующие виды исследований: клинические (n=930), гравиметрические (n=1882), гематологические (n=2009), биохимические (n=3788), гистологические (n=400).

Доклинические исследования препарата фитоглинол проведены в соответствии со следующими методическими положениями и руководствами: «Методы определения токсичности и опасности химических веществ» под ред. И.В. Сапоцкого (1970); «Методические рекомендации по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии» (1998); «Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных» (Смирнов А.М., Дорожкин В.И., 2008); «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005); «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (часть первая), под ред. А.Н. Миронова (2012).

Острая токсичность препарата изучалась на половозрелых белых беспородных крысах и мышах обоего пола в двух сериях экспериментов при однократном внутрижелудочном (с помощью металлического атравматического зонда) и парентеральном введении максимальных доз, предусмотренных для данного вида лабораторных животных, и с учетом пути введения фармакологического средства (5 мл для крыс и 0,5 мл для мышей). Животным контрольных групп теми же способами эквивалентно применяли физиологический раствор.

Субхроническая токсичность препарата фитоглинол оценивалась на белых лабораторных крысах обоего пола (n=40), сформированных в 4 группы с учетом физиологического состояния, возраста и массы тела при внутримышечном способе введения 3 уровней субтоксических доз, рассчитанных от максимально введенной в остром эксперименте. Критериями возможного токсического эффекта от длительного применения препарата служило клиническое состояние крыс, возможное число павших особей и сроки их гибели, гравиметрические, гематологические, биохимические и гистологические показатели опытных животных.

Определение массы тела у всех животных проводилось в динамике в начале опыта и затем каждые 10 дней на электронных весах (M-ER 122 ACF (JR), НПВ-300). Кровь для морфо-биохимических исследований отбиралась в конце опыта у пяти животных из каждой группы.



Отбор проб для морфогистологических исследований органов и тканей лабораторных животных проводился согласно «Морфологическим исследованиям в ветеринарных лабораториях» (2008). Для гистологического исследования у крыс из каждой группы отбирались участки сердца, легких, печени, почек, селезенки. Материал готовился общепринятыми гистологическими методами. Срезы толщиной 5 мкм после депарафинирования окрашивались гематоксилином и эозином, а далее заключались в канадский бальзам. Фотографирование готовых гистологических препаратов проводилось при увеличениях  $\times 5$ ,  $\times 10$ , с использованием микроскопа МС 300 (Австрия) со специализированным программным обеспечением регистрации изображения цифровой камерой Leica.

Функциональное состояние почек лабораторных животных оценивалось по органолептическим (визуально) и физико-химическим (с помощью полифункциональных индикаторных тест-полосок УРОПОЛИАН-ХН (производитель ООО «Биосенсор АН»)) показателям мочи. Органолептические показатели включали объем, консистенцию, цвет, запах, прозрачность; физико-химические показатели – удельный вес (относительную плотность), рН, концентрацию белка, глюкозы, кетоновых тел, билирубина, уробилина, гемоглобина.

Исследование пищеварительной системы проводилось путем оценки фекалий кроликов по следующим тестам: цвет, консистенция, запах, примеси – визуально, рН – с помощью рН-метра ИВА-ТЕСТ, наличие билирубина – пробой Фуше, следы крови – бензидиновой пробой, желчные пигменты – пробой Терквея. Микроскопией исследовалось наличие клетчатки, крахмала, детрита, лейкоцитов, яйца простейших и гельминтов (Письменная С.В., 2013).

Исследование аллергенности препарата изучалось с помощью накожных аппликаций – на морских свинках и конъюнктивальной пробы – на кроликах (Саночки И.В., 1970). Степень реакции учитывалась по оценочной шкале в баллах.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие определялось согласно «Методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ» (Хабриев Р.У., 2005).

Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса кроликов после использования препарата фитоглинол проводилась согласно ГОСТ 20235.0-74 – Мясо кроликов (качество мяса и жира кроликов, методы отбора образцов, химического и микроскопического анализа) по оценке органолептических и вкусовых качеств мяса и бульона, биохимических показателей (рН с помощью рН-метра, реакции на пероксидазу, наличие аммиака, реакции с флороглюцином в ацетоне и резорцином в бензоле (по Видману) (Смольникова Я.В., Рубчевская Л.П., 2010).

Изучение анксиолитического действия препарата фитоглинол проводилось по его влиянию на поведенческую активность белых крыс в тесте «открытое поле». Критериями оценки служили следующие параметры: количество пересеченных квадратов опытными животными, вертикальные стойки, исследовательская активность, время неподвижности, груминг, дефекация, уринация крыс (Курьянова Е.В., 2013).

Оценка адаптогенных, стресс-протекторных и антиоксидантных свойств фитоглинола проведена в двух сериях эксперимента на моделях острого стресса

(по методу Ю.И. Добрякова, 1978) и длительного теплового стрессирования лабораторных белых крыс в условиях специально оборудованной климаткамеры.

О выраженности стрессорной реакции организма животных и эффективности фармакокоррекции фитоглинолом в ходе проведения модельных опытов судили по изменению показателей эмоционального состояния крыс, клинической картине, гравиметрическим показателям тела, терморегуляции, морфологическим и биохимическим показателям крови, процессам развития продуктов перекисидации и эндогенной интоксикации в организме животных.

Морфологические и гематологические исследования крови проводились на гематологическом анализаторе для *in vitro* диагностики фирмы «ОРПННН» – Mythic 18 (страна-производитель Швейцария), биохимические исследования – с помощью биохимического автоматического анализатора Vitalab Selectra Junior с версией программного обеспечения 1.0. (открытая система для проведения фотометрических тестов, изготовитель Vital Scientific N. V. Netherlands) с использованием реактивов фирмы ELITech Clinical Systems (Франция) и Analyticon biotechnologies AG (Германия).

Уровень эндогенной интоксикации определялся по уровню молекул средней массы (МСМ) по методу Н.И. Габриэлян и В.И. Липатовой (1984).

Оценка показателей системы ПОЛ-АОЗ проводилась в соответствии с методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма (ВНИВИПФиТ (2010)). Показатели уровня общих липидов оценивались при помощи специализированного набора в опыте с серной кислотой фирмы DAC-SpectroMed.

Эффективность фитоглинола при профилактике оксидативного и коррекции послеродового стресса изучена в условиях учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского ГАУ имени И.Т. Трубилина на коровах голштинской породы 8-го месяца стельности и новотельных коровах (10-14 дней после отела) как самостоятельного средства, так и в сравнении с препаратом эмидонолом 10 %.

Клиническая эффективность фармакопрофилактики определялась по влиянию препарата на показатели метаболического статуса, степени развития эндотоксемии и инициации процессов липоперекисидации.

Расчет экономической эффективности проводился по «Методическим рекомендациям по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в Агропромышленном комплексе» (2007) и «Экономической эффективности применения современных лекарственных средств в животноводстве, птицеводстве и звероводстве» (Никитин Н.И., 2014).

Достоверность результатов, полученных в ходе экспериментальной обработки материалов, проводилась с помощью программного обеспечения фирмы Mikrossoft ®, фирмы Carl Zeiss ®, оценивалась по t-критерию Стьюдента и выражалась в виде средней арифметической ( $M \pm m$ ). Полученные цифровые данные обрабатывались с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0.

## **3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **3.1 Состав и физико-химические свойства препарата фитоглинол**

Фитоглинол (Phytoglinol) – комплексный инъекционный препарат для внутримышечного введения. В 1 мл содержится: дигидрокверцетин – 10 мг, аминокислотная кислота – 50 мг, экстракт душицы – 10 мг, янтарная кислота – 10 мг, диметилсульфоксид – 0,2 мл, вода для инъекций – до 1 мл.

По внешнему виду представляет раствор темно-коричневого цвета, со специфическим запахом и вкусом, имеет рН, равный 4,09.

Препарат апирогенен, стерилен, сохраняет стабильность в течение 1 года при соответствующих условиях хранения в герметичной упаковке, в сухом, защищенном от солнечных лучей месте при температуре 0+25°C.

### **3.2 Токсикологическая оценка фитоглинола**

Острая токсичность фитоглинола изучалась на белых нелинейных крысах и белых мышах обоего пола в двух сериях эксперимента. В первой серии препарат животным вводился однократно непосредственно в желудок с помощью металлического атравматического зонда в дозах, составляющих 5 мл для крыс и 0,5 мл для мышей (максимальные объемы, которые можно ввести белым лабораторным крысам с массой тела 210-240 г и белым мышам с массой тела 20-40 г).

Во второй серии острую токсичность фитоглинола оценивали при его внутримышечном введении лабораторным животным в дозах, аналогичных внутрижелудочному введению (5,0 и 0,5 мл на животное). Контрольным группам животных с учетом способа введения в тех же дозах применялась дистиллированная вода и физиологический раствор.

Негативное действие препарата на организм оценивалось по степени его функциональной и поведенческой токсичности, проявляемой по числу погибших и выживших крыс и мышей, динамике развития симптомов отравления и реабилитации, а также по влиянию на клинический статус и особенности поведения грызунов.

Наблюдение, проводимое за животными на протяжении 14 дней постинтоксикационного периода, не выявило признаков клинической картины токсикоза и гибели ни в одной из опытных групп мышей и крыс, на основании чего среднесмертельную дозу (LD<sub>50</sub>) для фитоглинола определить не удалось. Следовательно, по степени фактической безопасности изучаемый препарат по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» отнесен к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

Субхроническую токсичность фитоглинола оценивали при его внутримышечном введении белым нелинейным крысам обоего пола (n=40), сформированным в 4 группы по 10 животных в каждой. Поскольку при оценке острой токсичности препарата среднесмертельная доза (LD<sub>50</sub>) установлена не была, расчет субтоксических доз крысам опытных групп производился, исходя из максимально

введенной дозы, используемой в остром эксперименте – 5 мл, по следующей схеме:

1 опытная – 1/10 от максимальной дозы – 0,5 мл;

2 опытная – 1/20 от максимальной дозы – 0,25 мл;

3 опытная – 1/50 от максимальной дозы – 0,1 мл.

Контрольная группа – физиологический раствор в дозе 0,5 мл на животное.

Длительность экспериментального периода составила 28 дней.

Клиническая картина длительного введения фитоглинола позволила установить у первой опытной группы состояние умеренной сонливости, некоторой заторможенности и более слабого реагирования на внешние раздражители. Во второй и третьей опытных группах поведенческие реакции крыс отличались более выраженной активностью, тактильная чувствительность нарушена не была, изменения мышечного тонуса не наблюдались. Кормовые привычки были сохранены во всех опытных группах.

Несмотря на ежедневное стрессирование, связанное с фиксацией, внутримышечным введением препаратов и микротравмированием мягких тканей подопытных животных, отклонений в потере мышечной массы крыс выявлено не было. Напротив, в опытных группах была отмечена тенденция к увеличению массы тела животных на 0,7-3,5 %, в зависимости от дозы фитоглинола.

Все определяемые морфологические константы крови крыс, получавших инъекции фитоглинола, были сопоставимы с аналогичными данными группы контроля и находились в пределах видовой нормы.

Результатами биохимического исследования подопытных животных выявлен ряд изменений гомеостаза крови и, в первую очередь, показателей белкового обмена. Концентрация общего белка в опытных группах, независимо от дозы введенного препарата, превышала значения контрольных крыс на 7,2; 7,8 и 10,3 % соответственно. Аналогичная картина прослеживалась и по уровню мочевины, межгрупповые различия которой в сравнении с контролем составили 5,4; 16,2 и 17,6 %. Активность АсАт была увеличена во всех группах (в среднем, на 10,3-28,6 %) как результат появления в сыворотке фермента мышечной ткани, обусловленного множественными травмами мягких тканей заднебедренных мышц. Все остальные значения биохимических показателей крови крыс по группам находились в диапазоне видовой нормы и существенных различий не имели.

Препарат при длительном введении не вызывает отрицательного воздействия на органы пищеварительной и выделительной системы животных, не обладает местными аллергическими и раздражающими свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия, не влияет на течение беременности и роды лабораторных животных, а также анатомию строения внутренних органов и их патоморфологические и гистологические изменения.

Ветеринарно-санитарной экспертизой мяса и бульона установлено отсутствие отрицательного влияния фитоглинола на качество и вкусовые особенности мяса кроликов.

## Специфическая активность фитоглинола

### 3.3.1 Влияние на поведенческую активность крыс (анксиолитическое действие)

Целью исследований явилась оценка влияния препарата фитоглинол на состояние лабораторных крыс в условиях экспериментально созданного стресса, позволяющая выявить изменения поведенческой активности и эмоциональности животных. Тестирование проводилось на базе вивария на четырех группах беспородных белых крыс ( $n=10$ ) с массой тела 200-250 г. в тесте «открытое поле» (open field test) в течение 3-х дней. Препарат вводился крысам ( $n=5$ ) внутримышечно за два дня до опыта и на 1-й день тестирования в следующих дозах: в 1 группе – 0,2 мл/животное, во 2 – 0,1 мл/животное, в 3 – 0,05 мл/животное. Контрольной группе грызунов в том же режиме вводился физиологический раствор в дозе 0,1 мл/животное. Оценка ориентировочно-исследовательского поведения осуществлялась по следующим параметрам: горизонтальная активность (количество пересеченных квадратов), вертикальная активность (количество вертикальных стоек), реакция груминга, исследовательская активность (число заглядываний в норки), дефекация.

Результатами исследований установлено увеличение горизонтальной активности в первой опытной группе –  $45,1 \pm 1,08$  квадратов, что превысило показатели других опытных групп в 1,4 (2 группа) и 1,56 (3 группа) раз. Вертикальная активность во всех группах варьировала менее значительно, при этом максимальное количество вертикальных стоек было зарегистрировано во второй опытной группе –  $9,0 \pm 0,70$  шт.

Исследовательская активность в опытных группах была ниже чем в контрольной группе, что может свидетельствовать о наличии противотревожного эффекта у изучаемого препарата (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты тестирования крыс в «открытом поле» ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Показатель	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
Кол-во вертикальных стоек, шт.	$7,80 \pm 0,50$	$9,00 \pm 0,72$	$7,8 \pm 0,44$	$6,9 \pm 0,65$
Кол-во пересеченных квадратов, шт.	$45,1 \pm 1,08^*$	$32,1 \pm 0,86$	$28,9 \pm 1,04$	$28,7 \pm 1,18$
Исследовательская активность, шт. норок	$3,2 \pm 0,12$	$3,5 \pm 0,07$	$3,4 \pm 0,41$	$4,0 \pm 0,14$
Время неподвижности, с	$20,5 \pm 1,84$	$20,4 \pm 1,01$	$28,1 \pm 2,17$	$25,4 \pm 1,37$
Груминг, раз.	$8,2 \pm 0,08^*$	$7,1 \pm 0,14$	$6,4 \pm 0,06$	$6,8 \pm 0,15$
Груминг, с	$45,0 \pm 1,14$	$47,2 \pm 1,25$	$45,7 \pm 1,18$	$48,6 \pm 1,28$
Дефекация (кол-во фекальных болюсов, шт. )	$2,4 \pm 0,05$	$3,0 \pm 0,04^*$	$3,8 \pm 0,07$	$4,2 \pm 0,24$
Уринация, шт.	$1,0 \pm 0,02$	$1,0 \pm 0,07$	$0,8 \pm 0,04$	$1,1 \pm 0,02$

Степень достоверности:  $*p \leq 0,05$  по отношению к контролю

В 3 опытной группе было отмечено увеличение времени неподвижности, составившее в среднем  $28,1 \pm 2,17$  секунды. В этой же группе и в группе контрольных крыс частота и продолжительность груминга составила, в среднем,  $6,4 \pm 0,06$  и  $6,8 \pm 0,15$  раз. Увеличение дефекации отмечено в третьей опытной группе, где количество фекальных болюсов составляло  $3,8 \pm 0,07$  шт., и контроле –  $4,2 \pm 0,24$  шт. Показатели уринации в группах относительно не варьировались.

Таким образом, в условиях модельного стресса препарат фитоглинол проявил прямо пропорциональное дозам действие на уровень тревоги животных и снижения стрессового состояния при попадании в незнакомую ситуацию.

### **3.3.2 Влияние фитоглинола на организм крыс в условиях острого стресса**

Эксперимент по оценке влияния препарата фитоглинол на организм животных после слабого стрессирующего воздействия проведен на половозрелых белых нелинейных крысах со средней массой тела 200-220 г, разделенных на три группы по 6 особей в каждой. Опытным группам крыс превентивно в течении 5 дней до начала эксперимента препарат фитоглинол вводился внутримышечно в следующих дозах: 1 опытная – 0,1 мл/животное; 2 опытная – 0,2 мл/животное, а затем за 2 часа до подвешивания была введена разрешающая доза препарата (0,1 мл и 0,2 мл соответственно по группам). Контрольной группе крыс в той же последовательности вводился физиологический раствор в дозе 0,2 мл/животное. В качестве стрессирующего фактора использовалось подвешивание животных на 60 минут фиксацией под лопатки с помощью шпагата (метод Ю. И. Добрякова, 1978).

Результатами эксперимента установлено, что острая эмоциональная стрессорная нагрузка способствовала снижению общего количества лейкоцитов в периферической крови грызунов всех подопытных групп. Однако применение фитоглинола позволило предотвратить резкое падение лейкоцитов. Так в первой опытной группе его концентрация снизилась относительно видовой нормы крыс на 25,0 %, во второй – на 12,9 %, тогда как в группе контроля снижение лейкоцитов от нижних границ нормы колебалось на уровне 44,3 %. Межгрупповые различия по данному показателю составили 34,6 и 56,4 % в пользу значений опытных животных. Данный вид стресса вызвал абсолютную лимфоцитопению на фоне нейтрофилии со сдвигом вправо (количество лимфоцитов по группам снизилось на 17,7; 19,6 и 38,0 %, тогда как уровень сегментоядерных нейтрофилов, напротив, увеличился на 12,0; 18,3 и 38,9 % соответственно). Остальные морфологические показатели крови крыс существенных изменений не претерпели.

При анализе биохимических показателей основные изменения регистрировались по уровню общего белка и глюкозы, концентрация которых в контрольной группе была существенно увеличена в сравнении с аналогичными значениями крыс опытных групп (таблица 2).

Межгрупповые различия по общему белку между контролем и опытом составили 1,3 (1 опытная группа) и 1,57 раза (2 опытная группа), по глюкозе – 1,38

и 1,53 раза соответственно. По другим биохимическим константам достоверно значимых изменений отмечено не было.

Таблица 2 – Влияние фитоглинола на морфо-биохимические показатели крови лабораторных животных на фоне острого стресса ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Показатели	Группы		
	1 Опытная	2 Опытная	Контрольная
Лейкоциты, $10^9/л$	$5,25 \pm 0,13$	$6,1 \pm 0,27^{**}$	$3,9 \pm 0,42$
Палочкоядерные нейтрофилы	$2,7 \pm 0,03$	$3,2 \pm 0,01$	$5,6 \pm 0,02$
Лимфоциты	$53,9 \pm 2,23^*$	$52,2 \pm 5,70$	$40,3 \pm 4,80$
Общий белок, г/л	$58,5 \pm 4,5$	$48,3 \pm 2,1^{**}$	$75,9 \pm 4,3$
Глюкоза, ммоль/л	$7,1 \pm 0,22^*$	$6,4 \pm 0,4^*$	$9,8 \pm 0,5$

Различия достоверны  $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$  в сравнении с группой контроля

Парентеральное введение фитоглинола лабораторным крысам не позволило развиваться резкой гипергликемии как одному из маркеров стрессовой реакции, а также привело к частичному сохранению антиоксидантной защиты и уменьшению концентрации токсических продуктов ПОЛ и МСМ (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние фитоглинола на показатели ПОЛ и эндотоксикоза лабораторных животных на фоне острого стресса ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Показатели	Группы, $n=10$		
	1 Опытная	2 Опытная	Контрольная
Параметры липопероксидации			
ДК <sub>(232)</sub> , ед. опт. плотн./мл	$0,78 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,03^*$	$1,77 \pm 0,21$
КД <sub>(273)</sub> , ед. опт. плотн./мл	$0,64 \pm 0,029^*$	$0,57 \pm 0,05^*$	$0,83 \pm 0,07$
МДА (537), мкмоль/мл	$0,071 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,02$	$0,081 \pm 0,05$
Молекулы средней массы			
254 нм, усл. ед.	$0,40 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,03^*$	$0,52 \pm 0,01$
280 нм, усл. ед.	$0,243 \pm 0,01$	$0,237 \pm 0,01$	$0,268 \pm 0,03$

Различия достоверны  $*p < 0,05$  в сравнении с группой контроля

Разница по диеновым конъюгатам между опытными и контрольной группами составила 2,27 и 3,4 раза. Аналогичные изменения наблюдались и по кетодиенам. Межгрупповые различия находились на уровне 1,3 и 1,45 раза. Под действием фитоглинола в опытных группах произошло снижение отдельных фракций среднемoleкулярных пептидов. В первой группе уровень МСМ при длине волны 254 нм был ниже аналогичного показателя группы контроля на 23,1 %, при длине волны 280 нм – на 9,3 %. Во второй опытной группе – на 38,5 и 11,6 % соответственно, что свидетельствует об уменьшении интенсивности эндотоксикоза.

Таким образом, превентивное введение фитоглинола на фоне острого стрессирования способствует частичному угнетению интенсификации процессов липопероксидации, снижает цитолиз и реактивирует состояние звеньев антиоксидантной и антирадикальной защиты, а также оказывает положительное влияние на метаболический статус лабораторных животных.

### 3.3.3 Стресс-протективная и антиоксидантная активность фитоглинола при тепловом стрессе у крыс

Оценка стресс-протекторного и антиоксидантного действия препарата фитоглинол на организм животных в условиях теплового стресса проведена на 45 белых нелинейных крысах со средней массой тела 260-300 г, разделенных на пять групп. Первая группа (n=5) – интактные здоровые животные, вторая, третья, четвертая группы (n=10) – опытные, пятая группа (n=10) – контроль. Эксперимент предполагал изучение различных доз и временных интервалов введения препарата фитоглинол опытным группам крыс на фоне повышенных температур и высокой влажности. Интактные особи были взяты в эксперимент для контроля физиологического состояния организма животных, не подвергавшихся термированию. Схема опыта представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Схема опыта при тепловом стрессе у крыс

Группа, n	Кратность введения	Доза препарата, мл/жив
Интактные, n=5	Без применения препаратов	–
1 Опытная, n=10	Фитоглинол в течении 5 дней, 1 раз в день до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,5 мл
2 Опытная, n=10	Фитоглинол в течении 5 дней, 1 раз в день до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,25 мл
3 Опытная, n=10	Фитоглинол во время опыта за 1 час до термирования (всего 4 дня)	0,5 мл
Контрольная, n=10	Физиологический раствор в течении 5 дней до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,5 мл

Тепловой стресс воспроизводили путем термирования исследуемых животных в специально оборудованной климаткамере, для чего ежедневно в течении четырех дней контрольную и опытные группы крыс групповым методом в специальных боксах с оборудованными отверстиями для поступления кислорода помещали на 20 минут в камеру при температуре + 40 °С и влажности 80-85 %.

Полученные в ходе эксперимента данные показали, что длительное тепловое воздействие на животных приводит к характерному для стрессовой реакции снижению массы тела. Так в контрольной группе крыс на фоне ежедневного термирования отмечено убывание массы тела (59,6 % от массы тела интактных крыс). Тогда как введение фитоглинола в опытных группах способствовало сохранению гравиметрических показателей животных с некоторыми колебаниями весовых показателей (на уровне тенденции). В первой опытной группе был отмечен прирост массы тела на 3,1 г, во второй опытной группе – 4,5 г. Наибольший прирост был выявлен в 3 опытной группе, в которой фитоглинол вводился в дозе 0,5 мл за час до термирования – 5,8 г.



По данным термометрии колебания температуры в первой и второй опытных группах, в которых фитоглинол вводился пролонгировано, регистрировались в пределах физиологической нормы, тогда как в 3 опытной группе отмечено повышение температуры в среднем на  $0,8^{\circ}\text{C}$  (в пределах физиологической нормы). В группе контроля в первые три дня опыта температурные колебания в сторону увеличения составили в среднем на  $1,2\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , на 4 день различия между температурой до термирования и после него составили  $1,9\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  (рис. 1).

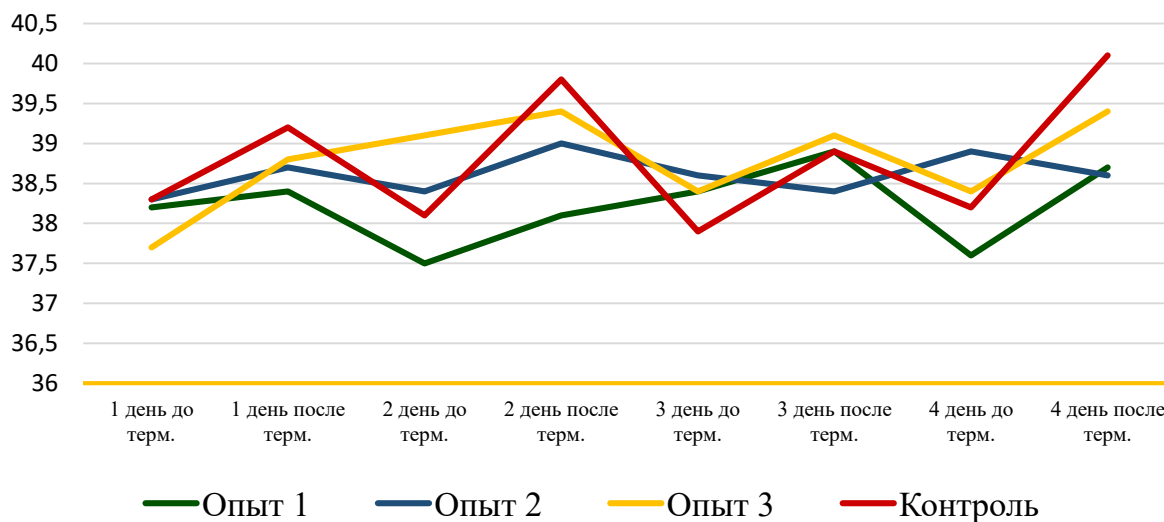


Рис. 1 – Динамика температуры тела крыс при термировании

По результатам морфологических исследований у крыс всех групп отмечено снижение абсолютного количества лейкоцитов и нейтрофилов, что можно характеризовать как абсолютную видовую лейкопению. Однако на фоне лейкопении у животных опытных групп к концу экспериментального периода выявляется увеличение общего количества лейкоцитов. Наибольшие показатели отмечаются у крыс первой опытной группы, различия у которых с контрольными аналогами составили 1,93 раза, а с интактными животными – 2,04 раза. По другим опытным группам повышение регистрировалось на уровне 1,6 и 1,7 раза и 1,2 и 1,3 раза соответственно. В третьей опытной группе процентное содержание нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с группой контроля увеличилось на 7,1 %, с группой интактных крыс – на 55,1 %. По количеству моноцитов во второй и третьей опытных группах повышение было значительным, составляя 44,3 % и 16,0 % относительно контрольных аналогов и 84,4 % и 48,2 % относительно крыс, не подвергавшихся термированию. По остальным показателям значения животных всех групп были в пределах видовой нормы.

При оценке биохимических показателей сыворотки крови установлено, что уровень общего белка в группах, в которых фитоглинол вводился за 5 дней до термирования, был ниже значений интактного контроля на 3,75 (1 группа) и 10,4 % (2 группа) соответственно. При этом доза введения препарата оказала прямое влияние на степень снижения концентрации белка в сыворотке крови. То есть,

большая дозировка (0,5 мл/животное) позволила предотвратить протеиновые потери, несмотря на наличие дополнительного стресса, обусловленного внутримышечными манипуляциями. Тогда как в третьей опытной группе уровень общего белка находился в пределах значений крыс, не подвергавшихся термированию.

При исследовании уровня глюкозы в крови по опытным крысам различия с группой контроля составили 2,21; 1,51 и 2,57 раза в пользу животных, которым проводилась фармакокоррекция. У крыс, перенесших термирование после предварительной фармакокоррекции фитоглинолом, отмечалось статистически значимое снижение аланинаминотрансферазы – в 1,61 и 1,97 раза ( $p < 0,05$ ) в сравнении с интактной группой животных. С контролем различия по данным группам составили 23,8 и 33,4 % соответственно.

Негативный эффект теплового воздействия на крыс сопровождался активацией процессов ПОЛ и накоплением в крови продуктов перекисидации – увеличением содержания диеновых конъюгатов – на 19,3; 10,5; 22,8 % (опытные группы) и 54,4 % (группа контроля) относительно животных, не участвующих в процессе термирования и кетодиенов – на 26,5; 32,4; 23,5 и 47,1 % соответственно. Концентрация малонового диальдегида (МДА) возросла только в контрольной группе крыс – на 14,2 %, тогда как у животных первых двух опытных групп, получавших в качестве превентивного курсового (5 дней) назначения фитоглинол в различных дозах, уровень МДА снизился как по отношению к группе контроля – в 1,5 и 1,36 раза, так и по отношению к интактным крысам – в 1,32 и 1,2 раза.

При оценке концентрации МСМ в крови животных, измеренных на длине волны МСМ  $\lambda = 237$  нм, установлено, что в двух опытных (1 и 3) и контрольной группах получены результаты, свидетельствующие о повышении содержания МСМ после термирования. Однако значения среднемолекулярных пептидов в опытных группах были близки к таковым у интактных крыс и колебались в пределах 1,2-10,1 %. Тогда как в группе контрольных крыс увеличение молекул средней массы составило 22,5 %. При использовании длин волны  $\lambda = 254$  и 280 нм полученные данные были аналогичными – во всех опытных группах отмечалось умеренное увеличение СМП, за исключением контроля, значения которых превосходили показатели интактной группы на 25,0-33,3 %.

Таким образом, фитоглинол в условиях теплового стресса обладает выраженной антиоксидантной и противотоксической активностью, способствуя развитию компенсаторных реакций, направленных на восстановление гомеостаза организма животных.

## **4 Клиническая эффективность препарата фитоглинол**

### **4.1 Эффективность при профилактике оксидативного стресса у стельных коров в период сухостоя**

Опыт проведен на базе учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского ГАУ имени И.Т. Трубилина на коровах 8-го месяца стельности со средней мас-

сой тела 520-600 кг. Предварительные исследования физиологического состояния животных, оцениваемые по клиническому статусу и биохимическому профилю сыворотки крови, показали, что в организме сухостойных коров в условиях промышленного содержания, характеризующегося наличием огромного количества факторов, к которым вынужден приспосабливаться организм, выявлен ряд метаболических нарушений – снижение уровня общего белка на фоне гипоальбунемии, умеренная гипергаммаглобунемия, повышение общего билирубина (в 1,44 раза от верхних пределов видовой нормы), нарушение фосфорно-кальциевого обмена, связанного со снижением концентрации общего кальция, увеличение ЩФ, а также значительное увеличение продуктов ПОЛ (ДК – в 1,8 раза, КД – на 30,1 %, МДА – в 1,63 раза).

Для проведения эксперимента было сформировано четыре группы коров по 10 животных в каждой. Первой и второй группам внутримышечно один раз в сутки вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное. Третьей группе коров ежедневно внутримышечно инъецировали препарат эмидонол 10 % (антиоксидант, ингибитор свободнорадикальных процессов) в дозе 10 мл/животное. Контрольным животным в том же режиме вводили физиологический раствор. Инъекции препаратов проводились в течение 10 дней с использованием адаптированного ветеринарного шприца-вакцинатора.

Анализ проведенных исследований сыворотки крови коров, взятой на 10 день эксперимента, показал увеличение уровня общего белка в опытных группах – на 8,4 и 6,9 %, тогда как в группе с применением эмидонола и в группе контроля концентрация общего белка снизилась (в среднем на 3,0-4,8 %). Для данных групп характерным было и уменьшение уровня альбуминов по сравнению с фоновыми значениями при сохранении более высоких показателей –глобулинов. Концентрация мочевины в первых трех группах снизилась – на 16,7; 27,7 и 7,5 % соответственно, тогда как у контрольных коров ее уровень увеличился на 36,7 %.

В ферментной активности изменения были выявлены по содержанию аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, которые в группе контрольных коров превышали аналогичные значения опытных животных на 42,7; 48,4 и 10,9 % (АсАТ) и 19,3; 14,8 и 12,0 % (ЩФ) соответственно.

При оценке содержания в крови кортизола в сравнении с фоновыми показателями отмечено его снижение в первой опытной группе на 15,4 %, во второй – на 17,3 %, в третьей – на 13,4 %, тогда как у контрольных коров уровень кортизола увеличился на 37,3 % (таблица 5).

По уровню среднемолекулярных пептидов в сравнительном аспекте с контрольными животными межгрупповые различия составили: в первой опытной группе – 20,8 % (при длине экспозиции 237 усл. ед.), 2,43 раза (при длине экспозиции 254 усл. ед.) и 2,18 раза (при длине экспозиции 280 усл. ед.); во второй опытной группе – 26,4 %, 2,17 и 2,2 раза; в третьей опытной группе – 16,7 %, 2,1 и 2,0 раза соответственно. При этом между опытными группами достоверных различий выявлено не было.

Таблица 5 – Биохимические показатели сыворотки крови коров на фоне проведенной фармакопрофилактики ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Показатели	Группы			
	1-опытная	2-опытная	3-опытная	Контрольная
Общий белок, г/л	82,9±3,8	81,8±2,2*	73,5±3,6	74,4±4,5
Белковые фракции, %				
альбумины	37,1±1,4	38,4±2,53	32,5±1,8	30,8±3,7
α-глобулины	13,6±0,9	15,2±1,1	14,6±0,57	17,3±1,65
β-глобулины	11,7±0,4	12,0±0,88	13,3±1,02	11,8±0,43
γ-глобулины	37,6±1,5**	34,4±2,7	39,6±2,1	40,1±3,16
Мочевина, мМ/л	7,24±0,4	6,36±0,7*	8,01±0,8	11,84±1,2
АлАт, Ед/л	26,5±1,54	21,0±1,23	25,0±2,4	36,5±2,14
АсАт, Ед/л	75,0±3,12	72,1±3,4	96,5±2,45**	107,0±3,4
Щелочная фосфатаза, Ед/л	176,0±6,4*	183,0±6,8	178,0±5,8	210,0±6,0
Кортизол, нг/мл	38,6±1,05	37,7±0,72	39,5±0,81	63,6±1,24

Различия достоверны \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  в сравнении с группой контроля

Применение фитоглинола и эмидонола, обладающих антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием в режиме ежедневного применения, оказало влияние на показатели липопероксидации. В сравнении с фоновыми значениями уровень первичных метаболитов ПОЛ в опытных группах снизился на 12,8; 9,7 и 4,8 % (ДК) и 11,5; 30,8 и 23,1 % (КД). Содержание в крови коров малонового диальдегида, обладающего относительно устойчивым составом, было ниже у животных, которым применялся фитоглинол. Различия с третьей опытной группой составили 5,9 и 8,0 %, а с контрольными аналогами – 36,7 и 38,1 % соответственно.

Таким образом, использование предупредительной фармакокоррекции животным оказало нормализующее влияние на показатели метаболического статуса, препятствовало развитию эндотоксемии и инициации процессов липопероксидации на ранней стадии реактивно-токсических процессов. При этом фитоглинол в дозе 7 мл/животное оказал сопоставимый фармакологический эффект в сравнении с препаратом-аналогом, а в дозе 10 мл/животное его превзошел, обеспечивая высокое стресс-протекторное и антиоксидантное действие.

#### 4.2 Эффективность фитоглинола для коррекции послеродового стресса у новотельных коров

Опыт по коррекции послеродового стресса был проведен на новотельных коровах (10-14 дней после отела). Данный эксперимент явился продолжением исследования эффективности фитоглинола на организм коров сухостойного периода. При этом структура опыта включала использование трех групп животных – две опытные и контрольную. Опытные группы были сформированы из коров,

которым на 8-м месяце стельности вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное в течение 10 дней. Контрольным животным в этой серии вводился физиологический раствор в дозе 10 мл/животное.

Схема настоящего эксперимента предусматривала коровам опытных групп внутримышечное введение фитоглинола в следующих дозах: первой опытной группе – 20 мл/животное, второй опытной группе – 15 мл/животное, контрольной группе – физиологического раствора в дозе 15 мл/животное в течении 7 дней.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови подопытных коров позволил выявить достоверное влияние фитоглинола на метаболическое состояние организма животных. Применение фитоглинола позволило увеличить концентрацию глюкозы на 11,8 и 9,4 % соответственно, тогда как в группе контрольных коров уровень глюкозы, напротив, снизился на 10,6 % относительно фоновых значений. По уровню ферментной активности была отмечена тенденция снижения АлАТ в опытных группах на 17,4 и 26,5 % при разнице с контрольными аналогами на 9,8 и 23,4 %. По АсАТ снижение на 13,8 % относительно показателей фона было установлено только в первой группе.

Препарат способствовал снижению щелочной фосфатазы на 36,9 и 32,4 % по группам, тогда как в группе контроля уровень ЩФ практически не изменился. Уровень общего билирубина в опытных группах коров был ниже фоновых значений на 35,5 и 9,8 %, показателей контрольной группы – на 47,4 и 27,6 % соответственно.

Уровень кортизола в крови новотельных коров первой опытной группы в сравнении с фоновыми показателями снизился на 26,5 %, второй – на 46,7 %, тогда как в контроле гормональная активность, напротив, увеличилась в 1,59 раз, что может указывать на усиление развития процессов оксидации.

В опытных группах отмечены более низкие показатели МСМ на всех длинах волн: на 237 нм и 254 нм – на 1,2-7,4 % ( $p < 0,05$ ) и 5,5-11,1 %, на 280 нм – в 1,38 и 2,1 раза ( $p < 0,01$ ). Уровень диеновых конъюгатов в первой опытной группе по отношению к фоновым значениям снизился в 2,27 раза, кетодиенов – в 3,3 раза, малонового диальдегида – в 2,1 раза. Во второй опытной группе – в 1,53; 3,2 и 1,24 раза соответственно. Тогда как в контрольной группе новотельных коров значения всех продуктов ПОЛ сохранились на уровне фоновых, а по количеству МДА – даже увеличились в 1,82 раза.

Таким образом, фитоглинол способствовал ослаблению процессов липопероксидации на всех этапах формирования стресс-реакции, причем, его применение в дозе 20 мл/животное оказалось более эффективным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Выводы:

1. Разработан новый инъекционный препарат фитоглинол, в состав которого входит дигидрокверцетин (Dihydroquercetinum), аминокислота глициновая (Glycine) и янтарная (Acidum succinicum) кислоты, водный экстракт душицы обыкновенной (Origanum Vulgare L.), диметилсульфоксид (Dimethylsulfoxide) и вода для инъекций. Лекарственное средство представляет собой раствор светло-коричневого цвета, со специфическим запахом и вкусом.

2. Препарат фитоглинол малотоксичен для теплокровных животных как в острых, так и в хронических опытах, и по степени воздействия на организм относится к IV классу опасности – вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007-76). Применение препарата не оказывает негативного влияния на физиологическое состояние, гомеостаз крови, пищеварение и мочеотделение лабораторных животных. Фитоглинол не оказывает местно-раздражающего, алергизирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия, не вызывает патологических изменений в органах и тканях, не изменяет вкусовых качеств мяса животных.

3. В модельных опытах фитоглинол проявляет выраженную фармакологическую активность. В тесте «открытое поле» отмечено анксиолитическое действие препарата, обусловленное снижением уровня тревоги, страха и стрессового состояния лабораторных крыс, повышением ориентировочно-исследовательского поведения при попадании в незнакомую ситуацию. В условиях острого стресса введение фитоглинола в дозах 0,1-0,2 мл/животное позволяет предотвратить падение лейкоцитов на 12,9-25,0 %, снизить уровень глюкозы на 27,5-34,6 %, ДК и КД – в 2,3 и 3,4 раза, МСМ – на 11,6-38,5 %.

4. Превентивное введение фитоглинола лабораторным животным в дозе 0,5 мл, подвергнутым длительному тепловому стрессированию, способствует нормализации баланса терморегуляции, повышению уровня лейкоцитов в 1,9-2,04 раза, нейтрофильных гранулоцитов – на 7,1-55,1 %, моноцитов – на 16,0-48,2 %. Влияние препарата на гомеостаз крови проявляется сохранением высокого уровня общего белка и глюкозы.

5. Фитоглинол оказывает выраженное антиоксидантное и антитоксическое действие, препятствуя накоплению продуктов липопероксидации, что проявляется в достоверном снижении ( $p < 0,05$ ) различных звеньев системы ПОЛ: диеновых конъюгатов – на 31,6-43,9 %, кетодиенов на 14,7-23,6 %, малонового диальдегида – в 1,36-1,5 раза, среднемолекулярных пептидов – на 25,0-33,3 %.

6. Применение фитоглинола для профилактики оксидативного стресса у коров сухостойного периода в дозе 10 мл на животное оказывает влияние на их гомеостаз, а также выраженность эндогенной и окислительной индукции среднемолекулярных пептидов и продуктов ПОЛ. Препарат способствует увеличению общего белка на 6,9-8,4 %, снижению уровня мочевины – на 7,5-27,7 %, ферментной активности – АсАТ – на 10,9-48,4 %, ЩФ – на 12,0-19,3 %, кортизола – на 15,4-17,3 %, эндогенной интоксикации – в 2,17-2,43 раза, процессов липопероксидации – на 9,7-12,7 % (ДК) и на 11,5-30,8 % (КД).

7. Внутримышечное введение фитоглинола в дозе 20 мл/животное в течение 7 дней способствует профилактике послеродового стресса у коров, снижая в крови уровень продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов – в 2,27 раз, кетодиенов – в 3,3 раза, малонового диальдегида – в 2,1 раза, предотвращает развитие эндотоксикоза и накопление в крови МСМ – в 1,2-2,1 раза, а также способствует восстановлению биохимических констант крови.

8. Экономическая эффективность от применения фитоглинола при профилактике послеродового стресса у коров составляет 6,8 рублей на один рубль затрат.

## **ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ**

Для отечественного животноводства разработан новый высокоэффективный инъекционный препарат фитоглинол, обладающий антиоксидантными и стресс-протекторными свойствами.

Препарат применяют крупному рогатому скоту внутримышечно, с соблюдением правил асептики и антисептики, в дозе 20,0 мл 1 раз в сутки в течение 7-10 дней. С профилактической целью в дозе 10-15 мл на животное 1 раз в сутки в течение 5-7 дней, либо за 7-10 дней до проведения производственных манипуляций у животных (вакцинация, перегруппировка и т. д.)

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:**

### ***Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ:***

1. Семененко М.П. Оценка субхронической токсичности фитоглинола на этапе доклинического исследования / М.П. Семененко, **О.В. Ланец**, Е.В. Кузьминова, А.А. Абрамов, Е.В. Рогалева // Ветеринарный фармакологический вестник, 2020. – № 4. – С. 38-50.

2. Семененко М.П. Вариабельность показателей гомеостаза крови лабораторных крыс в условиях стресса и их фармакокоррекция / М.П. Семененко, **О.В. Ланец**, Е.В. Кузьминова [и др.] // Труды кубанского государственного аграрного университета, 2020. – № 84. – С. 266-273.

3. Ланец О.В. Фармакокоррекция метаболического и антиоксидантного профиля коров в ранний послеродовый период // О.В. Ланец, В.А. Гринь, М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее образование. 2021. – № 3 (63). – С.306-314.

### ***Публикации в изданиях, включенных в реферативную базу данных Scopus и Web of Science:***

4. Semenenko M. Research of the detoxification properties of the preparation phyto-glinal on the heat stress model / M. Semenenko, **O. Lanets**, E. Kuzminova, A. Abramov, I. Zholobova // E3S Web of Conferences, 2020 – T. 210. – С. 1-7.

### ***Статьи, опубликованные в других изданиях:***

5. Ланец О.В. Оксидативный стресс у крупного рогатого скота и перспективы его фармакокоррекции / О.В. Ланец, В.А. Гринь, М.П. Семененко // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, – 2019.

– Т. 8. – № 2. – С. 269-274.

6. Ланец О.В. Оценка влияния нового стресс-корректора на организм лабораторных животных в остром эксперименте / О.В. Ланец, М.П. Семенов, К.А. Семенов, Л.В. Лазаревич // Сборник научных трудов XIII Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ДГТУ, 2020. – Т. 2. – С. 680-682.

7. Ланец О.В. Определение параметров токсичности нового препарата при длительном воздействии на организм крыс / О.В. Ланец, М.П. Семенов, Е.А. Рудь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020 – Т. 9. – № 1. – С. 362-365.

8. Ланец О.В. Поведенческие маркеры стрессоустойчивости лабораторных животных в тесте «открытое поле» на фоне фармакологической коррекции / О.В. Ланец, К.А. Семенов, М.П. Семенов, В.А. Гринь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020 – Т. 9. – № 2. – С. 97-100.

9. Ланец О.В. Изучение репродуктивной токсичности препарата фитоглинол в эксперименте / О.В. Ланец, М.П. Семенов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии. Кинель, 2021. – С. 93-96.

10. Абрамов А.А. Опыт разработки инновационных препаратов для сельскохозяйственных животных / А.А. Абрамов, В.А. Гринь, Е.А. Рудь, О.В. Ланец, А.А. Власенко, О.И. Василиади // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020 – Т. 9. – № 2. – С. 6-10.

11. Рудь Е.Н. Научные основы применения адаптогенов при стрессах в молочном скотоводстве / Е.Н. Рудь, Е.В. Кузьминова, М.П. Семенов, О.В. Ланец, Л.В. Лазаревич // Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции. Краснодар, 2020. – С. 165-171.

12. Рудь Е.Н. Влияние стресса на молочную продуктивность коров голштинской породы / Е.Н. Рудь, Е.В. Кузьминова, М.П. Семенов, Л.В. Лазаревич, О.В. Ланец // Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы. Майкоп, 2020. – С. 278-281.

13. Рудь Е.Н. Эффективные средства повышения продуктивности молочного скота / Е.Н. Рудь, А.А. Абрамов, Л.В. Лазаревич, О.В. Ланец // Научные исследования в современном мире: опыт, проблемы и перспективы развития. Уфа, 2020. – С. 7-11.

14. Ланец О.В. Возможность метаболической коррекции острого стресса на этапе формирования адаптационного ответа у лабораторных животных / О.В. Ланец, М.П. Семенов, А.А. Абрамов, Е.Н. Рудь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2021. – Вып. 10. – Т.1. – С.352-354.

15. Ланец О.В. Ветеринарно-санитарное качество мяса кроликов после применения препарата фитоглинол / О.В. Ланец, М.П. Семенов // Сборник по материалам Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии», Республика Казахстан, Костанай, 2021. – С. 41-45.



Ланец Ольга Вадимовна

**Разработка, фармако-токсикологические свойства и эффективность  
применения препарата фитоглинол в молочном скотоводстве**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

---

Подписано в печать 13.10.2021 Формат 60×84 1/16  
Усл. печ. л. – 1  
Тираж 100 экз. Заказ № 720.  
ООО «Редакция газеты «Огни Кубани»  
подразделение Тихорецкой типографии  
Россия, 352150, г. Тихорецк, ул. Красноармейская, д. 42.  
Телефон: 8(861-96)7-10-88  
e-mail: [tipo-tix@mail.ru](mailto:tipo-tix@mail.ru)