

КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ – обособленное структурное подразделение
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО ЗООТЕХНИИ И
ВЕТЕРИНАРИИ»

На правах рукописи



ВАСИЛИАДИ ОЛЬГА ИГОРЕВНА

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ПРЕПАРАТА ФИТОСОМИН И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В
ПТИЦЕВОДСТВЕ**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, доцент
Кузьмина Елена Васильевна

Краснодар 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Системы адресной доставки лекарственных препаратов, липосомы и фитосомы.....	11
1.2 Основные свойства лецитина.....	23
1.3 Основные свойства расторопши пятнистой.....	27
1.4 Основные свойства дигидрокверцетина.....	30
1.5 Основные свойства репешка обыкновенного.....	34
1.6 Основные свойства володушки золотистой.....	37
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
3.1 Фармацевтическая разработка и определение срока годности препарата фитосомин	46
3.1.1 Выбор и обоснование компонентного состава препарата	46
3.1.2 Технология изготовления, изучение показателей качества и сроков годности препарата фитосомин.....	54
3.2 Токсикологическая оценка фитосомина.....	58
3.2.1 Острая токсичность.....	58
3.2.2 Хроническая токсичность.....	63
3.2.2.1 Изучение хронической токсичности фитосомина на лабораторных крысах	63
3.2.2.2 Изучение хронической токсичности фитосомина на цыплятах-бройлерах.....	70
3.2.3 Ветеринарно-санитарная оценка мяса цыплят-бройлеров после применения фитосомина.....	75
3.2.4 Местнораздражающие свойства.....	78
3.2.5 Эмбриотоксическое и тератогенное действие.....	81
3.3 Фармакологические свойства фитосомина.....	84

3.3.1	Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальном поражении печени лабораторных животных гидразином.....	84
3.3.2	Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальном микотоксикозе цыплят-бройлеров....	101
3.3.3	Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальной аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров.....	113
3.3.4	Изучение фармакологических свойств фитосомина при технологическом стрессе цыплят-бройлеров.....	128
3.3.5	Влияние препарата на продуктивные качества и показатели крови цыплят-бройлеров.....	139
3.4	Клиническая апробация фитосомина на цыплятах-бройлерах в производственных условиях.....	147
4	ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ	153
5	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	156
6	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	165
7	ПРИЛОЖЕНИЯ	190

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Продовольственная безопасность является одним из главных направлений в реализации национальной независимости Российской Федерации. К важнейшей отрасли агропромышленного сектора России, которая вносит значительный вклад в обеспечение населения страны необходимым продовольствием, относится птицеводство. Успешное развитие промышленного птицеводства может быть достигнуто не только за счет внедрения новых технологий, комплектования поголовья породами и кроссами с высоким генетическим потенциалом и скоростью роста, но и за счет использования инновационных фармакологических средств и способов сохранения здоровья птицы (Фисинин В. И. с соавт., 2011–2015; Булдакова К. А., 2016; Василевич Ф. И., Полябин С. В., Бачинская В. М., 2021).

Интенсивная эксплуатация сельскохозяйственной птицы при промышленном выращивании характеризуется значительной концентрацией поголовья на ограниченной территории, достаточно часто несбалансированностью рационов по питательным и биологически активным веществам, наличием в кормах микотоксинов и других ксенобиотиков, что приводит к метаболической переориентации, функциональным перегрузкам органов и систем организма и, в первую очередь, печени (Носков С. Б., Резниченко Л. В., 2016; Кочиш И. И., Капитонова Е. А., Никулин В. Н., 2020; Коцаев А. Г. с соавт., 2020; Осепчук Д. В. с соавт., 2022).

Решение проблемы нормализации обменных процессов и морфофункционального состояния печени у сельскохозяйственной птицы за счет использования фармакологических средств представляется важным резервом повышения эффективности промышленного птицеводства и производства продуктов питания. Перспективными в этом плане являются исследования по разработке лекарственных средств на основе растительных ресурсов, для которых характерно структурное многообразие, полифункциональность фарма-

кологического действия и низкая токсичность (Дельцов А. А. с соавт., 2015–2022; Кузьмина Е. В. с соавт., 2020).

В последние годы все больше внимание ученых привлекает создание новых лекарственных форм, к числу которых относятся липосомы. Преимущество липосомальных препаратов заключается в повышении биодоступности, продолжительности и эффективности действия лекарства при снижении побочных эффектов (Швец В. И. 1980–2018; Торчилин В. П. 1980–2020; Сухинин А. А. 2001–2004; Шанская А. И. 2007–2015; Сейфулла Р. Д. 2008–2013; Оробец В. А. с соавт., 2015–2019; Шахова В. Н. 2016–2022; Третьякова Д. С. 2016–2022; Caracciolo G. 2012–2022; Touitou E. 1992–2018).

В связи с этим научный и практический интерес представляют исследования по разработке ветеринарного липосомального препарата на основе веществ растительного происхождения с полифункциональным фармакологическим действием, обуславливающим улучшение обмена веществ, антиоксидантного статуса и состояния печени, увеличение продуктивности и сохранности животных.

Степень разработанности проблемы. В настоящее время значительный вклад в исследования по разработке препаратов и кормовых добавок для сельскохозяйственной птицы, обладающих метаболическими, ростостимулирующими, гепатопротекторными и антиоксидантными свойствами, внесли И. А. Егоров (2011–2022), В. А. Антипов (2013–2014), В. Н. Никулин (2017–2021), А. Г. Кошаев (2018–2020), Ф. И. Василевич (2020–2021), Ф. А. Медетханов (2020–2021), В. И. Котарев (2021–2022), И. И. Кочиш (2021–2022), Л. В. Резниченко (2021–2022). В зарубежной практике в этом направлении работали E. V. Batrakova (2007–2015), Myung Soo Kim (2015), M. J. Haney (2013).

Несмотря на значительные успехи в области, связанной с получением липосом, их стандартизацией по размерам, стерилизацией и стабильностью в организме, исследования по разработке липосомальных препаратов на основе веществ растительного происхождения, предназначенных для применения в птицеводстве, практически отсутствуют.

Указанные положения определили направленность диссертационной работы и выбор методических подходов при разработке липосомального препарата фитосомин, изучении его фармако-токсикологических параметров и эффективности применения в птицеводстве.

Цель и задачи исследований. Целью исследований явилась разработка липосомального препарата фитосомин, изучение его фармако-токсикологических свойств и обоснование эффективности применения в птицеводстве.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Разработать липосомальный препарат на основе веществ растительного происхождения, изучить его физико-химические свойства и установить срок годности;
2. Определить острую и хроническую токсичность, местнораздражающее, эмбриотоксическое и тератогенное действие фитосомина;
3. Изучить фармакологические свойства препарата с использованием различных модельных систем: на лабораторных крысах – при поражении печени гидразином; на цыплятах-бройлерах – при экспериментальном моделировании микотоксикоза, аммиачной интоксикации и технологического стресса;
4. Оценить влияние фитосомина на продуктивные качества и показатели крови цыплят-бройлеров;
5. Провести клиническую апробацию препарата в условиях производства на цыплятах-бройлерах.

Научная новизна. Впервые проведены биофармацевтические исследования по разработке липосомального препарата ветеринарного назначения, обладающего полифункциональным фармакологическим действием. Обоснован компонентный состав фитосомина, представленный лецитином, дигидрокверцетином, экстрактами расторопши пятнистой, репешка обыкновенного и володушки золотистой. Разработана липосомальная лекарственная форма препарата, установлены его физико-химические свойства и срок годности. Впервые изучены токсикологические характеристики фитосомина, что поз-

волило определить степень безопасности его применения в ветеринарии и птицеводстве. Экспериментальным путем получены данные о фармакологических эффектах фитосомина на лабораторных животных и цыплятах-бройлерах при моделировании различных патологий. Установлено фармакодинамическое влияние препарата на показатели крови и продуктивные качества сельскохозяйственной птицы, определена эффективная доза его применения при выращивании цыплят-бройлеров. Доказано метаболическое, гепатопротекторное, антиоксидантное и ростостимулирующее действие фитосомина. Проведена клиническая апробация препарата и обоснована экономическая эффективность его использования в условиях производства, что послужило основой для разработки показаний к применению фитосомина в птицеводстве.

По результатам исследований подана заявка на патент РФ № 2022127058 «Средство, обладающее гепатопротекторным и антиоксидантным действием».

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в том, что полученные результаты расширяют и дополняют теоретические представления о фармакотоксикологических свойствах и клинической эффективности липосомальных препаратов, созданных на основе веществ растительного происхождения. В результате проведенных исследований установлена существенная для ветеринарной фармакологии зависимость между фармакодинамикой разработанного средства и откликом основных жизнеобеспечивающих систем организма сельскохозяйственной птицы.

По результатам диссертационного исследования для практического применения в ветеринарии и птицеводстве предложен эффективный и безопасный липосомальный препарат на основе веществ растительного происхождения, обладающий полифункциональным фармакологическим действием, способный улучшать метаболизм и морфофункциональное состояние печени, увеличивать продуктивность и сохранность сельскохозяйственной пти-

цы. Приведено экономическое обоснование использования фитосомина в птицеводстве. По результатам исследований разработана нормативная документация (инструкция по применению фитосомина), определяющая условия применения препарата.

Изложенные в диссертационной работе материалы могут быть использованы при подготовке научно-информационной литературы, в учебном процессе сельскохозяйственных вузов, а также в ветеринарной практике и птицеводстве.

Методология и методы исследований. Методологической основой проведенных исследований является анализ доступных литературных источников отечественных и зарубежных ученых, который создает теоретические предпосылки для разработки липосомальных препаратов на основе веществ растительного происхождения, оценки их фармако-токсикологических свойств и клинической эффективности.

Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования с использованием фармацевтических, токсикологических, фармакологических, клинических, биохимических, гематологических, гистологических, статистических и других методов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- обоснование компонентного состава, фармацевтическая разработка и показатели качества липосомального препарата;
- экспериментальные данные по изучению токсикологических свойств фитосомина;
- фармакологические свойства препарата, изученные на лабораторных животных и цыплятах-бройлерах;
- результаты клинической апробации фитосомина на цыплятах-бройлерах в условиях производства.

Степень достоверности и апробация работы. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации,

отвечают цели и задачам исследования, а достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты фармацевтических, доклинических и клинических исследований, представляющие основу диссертационной работы, были представлены на: заседаниях Ученого совета Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии (2020–2023); XIV Международной научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности и здоровья животных» (Краснодар, 2020); IV Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной науки: теория, методология, практика, инноватика» (Уфа, 2020); II Международной научно-практической конференции «Современные проблемы цивилизации и устойчивого развития в информационном обществе» (Махачкала, 2021); IV Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования, общества, производства и экономики» (Уфа, 2021); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии», Республика Казахстан (Костанай, 2021); XV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы повышения здоровья и продуктивности животных» (Краснодар, 2021); IX Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в науке и образовании» (Ростов-на-Дону, 2021); IX Международной конференции «Инновационные разработки ученых – развитию агропромышленного комплекса» (Михайловск, 2021); Международной научно-практической конференции «Приоритетные направления в области ветеринарной науки», Азербайджанская Республика (Баку, 2021); Национальной научно-производственной конференции «Актуальные вопросы современной ветеринарии» (Майский, 2021); XVI Международной научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности, здоровья животных и продовольственной безопасности» (Краснодар, 2022); X Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в науке и

образовании» (Ростов-на-Дону, 2022); финальной сессии конкурса Фонда содействия инновациям «Умник» (Краснодар, 2021–2022).

Личное участие автора. Приведенные в диссертации материалы получены при личном участии автора, как на этапе постановки задач и разработки методических подходов к их выполнению, так и при накоплении фактических данных, статистической обработке и анализе результатов, написании и оформлении публикаций. Выводы диссертации сформулированы автором.

Публикации. Результаты диссертационных исследований опубликованы в 23 научных работах из них: в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций (рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ) – 6; в изданиях, входящих в международную библиографическую и реферативную базу данных Scopus – 1.

Объем и структура диссертации. Диссертация, изложенная на 190 страницах компьютерного текста, состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, расчета экономической эффективности, заключения, включающего выводы и практические предложения, списка литературы и приложений. Список литературы включает 210 источников, в том числе иностранных – 80. Работа содержит 50 таблиц и 42 рисунка.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Системы адресной доставки лекарственных препаратов, липосомы и фитосомы

Разработка и внедрение инновационных лекарственных форм препаратов относится к приоритетным направлениям фармакологии. В настоящее время около 25 % мирового объема продаж лекарств занимают препараты с улучшенной (адресной) системой доставки (Соснов А.В. с соавт., 2008; Лампрехт А., 2010; Dutta R.C., 2007; Ajazuddin S., 2010).

Впервые упоминания об адресной доставке лекарственных веществ появились в начале XX века, когда в своих трудах немецкий иммунолог П. Эрлих описывал возможность в будущем синтеза препаратов с избирательным воздействием, способных самостоятельно найти источник болезни или очаг заболевания и поразить их, не затрагивая здоровые органы и ткани организма. В настоящее время под доставкой лекарственных средств, иначе адресная доставка лекарственных веществ или направленный транспорт лекарственных веществ (англ. drug delivery), понимают направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, органа или клетки (Мартынова Е.У., Козлов Е.Н., Муха Д.В., 2012; Кулакова И.И. с соавт., 2018; Кондрашова Ю.С., 2019; Irache J.M. et al., 2011).

Существует две стратегии адресной доставки лекарственных препаратов к поврежденным тканям: пассивная и активная. Первая обеспечивается за счет повышенной проницаемости капилляров в очаге поражения, вторая реализуется прикреплением к поверхности носителя не только действующего вещества, но и направляющих лигандов, специфически связывающихся с маркерами повреждения на мембране измененных клеток. Присоединение лекарств к носителям, а по сути – наночастицам различной природы, позволяет осуществить направленную доставку к органу-мишени. В качестве носителей лекарственных препаратов могут использоваться наночастицы как неорганические (частицы золота, серебра, оксидов железа, кремния, фуллерены, нанотрубки и

другие), так и органические (белки, липосомы, дендримеры и даже вирусы). Направленный транспорт лекарственных препаратов может осуществляться и с помощью молекулярных векторов, в качестве которых часто используются пептиды, гормоны, ферменты, антитела и гликопротеиды (Соснов А.В. с соавт., 2008; Тараховский Ю.С., 2011; Кулакова И.И. с соавт., 2018; Brayden D.J., Oudot E.J. M., Baird A.W., 2010).

Опосредованная наночастицами доставка лекарств обеспечивает более длительный период полувыведения из кровотока и улучшенную фармакокинетику. Терапия на основе наночастиц оптимизирует баланс между эффективностью и токсичностью системных терапевтических вмешательств. Наночастицы могут нести большую дозу лекарств, превосходя низкомолекулярные лекарства, которые подвержены трансмембранной диффузии. Связывание терапевтической молекулы с наночастицей может повысить ее растворимость на порядки, позволяя гидрофобным препаратам легче переноситься кровотоком. Это помогает решить серьезную проблему в фармакологии, поскольку, до 40 % новых лекарств плохо растворимы в биологических жидкостях. Кроме того, наночастицы могут обеспечить контролируемое высвобождение лекарства или одновременную доставку двух разных веществ для реализации более мощной комбинированной терапии. В целом наночастицы облегчают всасывание и прохождение лекарств через биологические мембраны, существенно повышают безопасность применения, уменьшаются токсичность и риск развития побочных эффектов (Постнов В.Н. с соавт., 2013; Жилкина В.Ю. с соавт., 2015; Шахова В.Н., Гулян К., 2022; Park K., 2013; Bai D.P., 2018).

Несмотря на общее название, наночастицы существенно различаются по размеру, форме и составу входящих в них веществ. По форме они могут быть в виде шара, сферы, трубки, мицеллы и др. Преимущественно наночастицы – это сложные многокомпонентные структуры, порой составляющие несколько слоев, различных по физико-химическим свойствам. Наиболее изученными наночастицами являются липосомы – наносферы водной субстанции, заключенные в фосфолипидную оболочку. Название «липосома» происходит от

двух греческих слов: «липос» – жир и «сома» – тело. Липосомы могут быть размером от десятков нанометров до десятка микрометров, иметь однослойную или многослойную структуру. Ее название связано со структурными строительными блоками – фосфолипидами, а не с размером. Толщина липидного бислоя определяется, прежде всего, длиной углеводородных цепей и равна приблизительно 4–5 нм. Расстояние между бислоями обычно 2–3 нм, но может возрастать до 20 нм в зависимости от величины заряда бислоя (Умнова О.А., 2010; Фисинин В.И. с соавт., 2011; Кондрашова Ю.С., 2019; Banerjee R., 2001; Daraee H. et al., 2016).

Липосомы были впервые описаны британским гематологом доктором Алеком Д. Бэнгхемом в 1964 г. в институте Бэбрахама в Кембридже. Липосомы были обнаружены, когда А.Д. Бэнгхем и Р.В. Хорн тестировали новый электронный микроскоп института, добавляя негативную окраску к сухим фосфолипидам (Сариев А.К., Абаймов Д.А., Сейфулла Р.Д., 2010; Третьякова Д.С., 2022; Kumar P. et al., 2010).

Среди отечественных исследователей можно выделить труды академиков М.М. Шемякина, Ю.А. Овчинникова и Н.А. Преображенского. В шестидесятые годы прошлого столетия они создали и развивали перспективное направление в области живых систем – физико-химическую биологию, один из разделов которой был посвящён изучению биологически активных веществ для использования их в практической медицине (среди основных исследуемых веществ были липиды, в том числе и фосфолипиды). Усилия ученых и технологов были также направлены на создание синтетических и биотехнологических методов их получения с возможностью практического использования путем конструирования на этой основе эффективных диагностических и лекарственных препаратов и их дальнейшего применения в практической медицине (Швец В.И., Лютик А.И., 2014).

Практическая деятельность советских ученых в области липосомальных препаратов началась в конце 1970-х годов и уже через некоторое время на базе предприятия «Биолек» был организован выпуск лекарств. Одним из подтвер-

ждений признания отмеченных работ было присуждение в 1985 году коллективу, представляющему несколько научных школ, работающих в различных направлениях липидной тематики, Государственной премии СССР за цикл работ «Структура и функции липидов», опубликованных в 1965–1983 годах. Коллектив, награжденный этой премией, состоял из представителей научных школ Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (академик Е.М. Крепс, Н.Ф. Аврова), Института биорганической химии РАН (член-корр. РАН Л.Д. Бергельсон, Э.В. Дятловицкая, Ю.Г. Молотковский), Московского университета тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова (академик РАМН В.И. Швец). Отмеченные исследования явились основой для создания В.И. Швецом и В.П. Торчилиным в 1990 году программы биотехнологического конструирования эффективных лекарственных препаратов путем создания липосом на основе фосфолипидов и дальнейшей упаковкой в них классических препаратов. Данная программа в конце 1990-х годов начала реализовываться на Харьковском предприятии «Биолек». Были созданы технологии получения лекарственных липосомальных препаратов, исследованы их фармакологические свойства и получено разрешение на их практическое использование (Водовозова Е.Л. с соавт., 2017; Горбик В.С. с соавт., 2021).

В настоящее время представлены следующие липосомальные препараты – липодокс (липосомальный доксорубин, противоопухолевый препарат), липин (липосомальный фосфатидилхолин, антигипоксический препарат), лиолив (липосомальный антраль, гепатопротекторный препарат), липофлавон (липосомальный кверцетин, кардиологический препарат, в виде капель – офтальмологический препарат), липодокс (цитостатик, доксорубин в липосомах), глазные капли липофлавон (противовоспалительное средство) и еще множество потенциальных лекарств проходят различные испытания, от биологических и лабораторных до клинических (Краснопольский Ю.М. с соавт., 2017).

Липосомы представляют собой сферические частицы, инкапсулирующие часть растворителя, в котором они свободно диффундируют внутрь себя.

Базовая структура липосом включает гидрофильные головные группы липидного бислоя, направленные к водным фазам, тогда как гидрофобные хвостовые группы направлены друг к другу, образуя ядро мембраны. При взаимодействии с водой полярные липиды образуют самоорганизующиеся коллоидные частицы. Простыми примерами являются детергенты, компоненты которых образуют мицеллы, в то время как полярные липиды с более объемными гидрофобными частями не могут объединяться в мицеллы с большими радиусами кривизны, но образуют бислои, которые могут замыкаться в липосомы или липидные везикулы. В структуре липосомы гидрофильные головки амфифилов ориентированы в сторону водного отсека, в то время как липофильные хвосты ориентированы от воды к центру везикулы, таким образом, образуя бислои. Следовательно, водорастворимые соединения захватываются в водном отсеке, а жирорастворимые соединения агрегируют в липидном отделе. Липосомы могут инкапсулировать как гидрофобные, так и гидрофильные соединения и используются для внутриклеточной доставки лекарств (Сухинин А.А., 2004; Сейфулла Р.Д., 2010; Шанская А.И., Пучкова С.М., 2013; Torchilin V.P., 2005; Rose J.S., Neal J.M., Koracz D.J., 2005).

Свойства липосом в большой степени определяются химическим составом липидного бислоя. Рядом авторов было показано, что включение в состав липидного бислоя липосом анионных фосфолипидов (фосфатидилэтаноламина или инозит-фосфатида) увеличивает стабильность липосомальной везикулы. Введение отрицательно заряженного компонента придает мембране отрицательный заряд, предотвращающий агрегирование везикул и их прилипание к стенкам сосудов (Сейфулла Р. Д., 2010; Сариев А.К., Абаймов Д.А., Сейфулла Р.Д., 2010; Sharma G. et al., 2006; Caracciolo G., Amenitsch H., 2012).

Размер липосомы, поверхностный заряд и свойства поверхности можно легко изменить с помощью различных соединений и параметров подготовки. Например, добавление полимеров, таких как полиэтиленгликоль, к поверхности липосом может создать долго циркулирующие липосомы, которые могут избежать захвата ретикулоэндотелиальной системой, дольше оставаться в ор-

ганизме и демонстрировать пролонгированное высвобождение инкапсулированного препарата с течением времени. Прикрепление антител и других маркеров к поверхности липосом может обеспечить диагностическую визуализацию и таргетную терапию. Липосомы могут быть разработаны для триггерного высвобождения с использованием внешних раздражителей, таких как pH, ультразвук и температура. Термочувствительные липосомы разрабатываются на основе термочувствительных полимеров, которые имеют более низкие критические температуры растворения (НКТР). При температурах ниже их НКТР (обычно 20 °С) полимерные цепи стабильны и гидратированы, но при температурах выше НКТР (около 39–42 °С) они обезвоживаются и разрушают липидный бислой, что приводит к немедленному освобождению захваченного содержимого (Сейфулла Р. Д., 2010; Lukyanov A. N. et al., 2004; Rose J.S., Neal J.M., Koracz D.J., 2005; Basu S. C., Basu M., 2008).

Оболочка липосом состоит из молекул тех же природных фосфолипидов (ФЛ), что входят в структуру клеточных мембран. Согласно классификации, ФЛ относятся к группе водорастворимых набухающих амфифилов. Амфифильность ФЛ, обусловленная наличием в молекуле гидрофильной части – фосфорилированного спирта (так называемая «полярная головка») и липофильной части – цепи жирных кислот (так называемый «жирнокислотный хвост»), определяет их уникальные свойства – способность к эмульгированию и диспергированию в водных системах с образованием в определённых условиях мембранных структур (ламелл, липосом и мицелл). Именно это свойство ФЛ при направленном использовании и специальном подборе позволяет использовать их в качестве поверхностно-активного вещества (сурфактанта) при получении эмульсий или в виде наночастиц (липосом и мицелл) как транспортное средство для доставки лекарственных соединений и биологически активных веществ. Водорастворимые (гидрофильные) лекарственные вещества могут быть заключены во внутреннее водное пространство липосом, а жирорастворимые (гидрофобные) включаются в липидный бислой. Стремление максимально ограничить контакт неполярных цепей липида с водой приводит

к тому, что бислой при его достаточной протяженности замыкается сам на себя, образуя полые оболочечные структуры, получившие название везикулы (от англ. vesicle – маленький пузырек) (Сариев А.К., Абаимов Д.А., Сейфулла Р.Д., 2010; Водовозова Е.Л. с соавт., 2017; Краснопольский Ю.М. с соавт., 2017; Bawarski W.E. et al., 2008).

Перечисленные характеристики липосом демонстрируют их потенциал для применения в ветеринарии. В частности, липосомы могут служить мощными платформами для доставки противораковых препаратов, вакцин и обезболивающих препаратов.

Начиная с 1995 года, широкие клинические испытания на собаках с гемангиосаркомой селезенки продемонстрировали высокий противоопухолевый потенциал инкапсулированного в липосомы мурамилтрипептида (конъюгированный с фосфатидилэтаноламином), который давали собакам в качестве иммунотерапевтического адьюванта к химиотерапии доксорубицином, что приводило к увеличению выживаемости без признаков заболевания у больных собак (Vail D.M. et al., 1995).

В настоящее время липосомальные средства для лечения рака продемонстрировали обнадеживающие результаты на животных, что имеет большое значение для ветеринарной онкологии. Например, подтверждено, что инкапсулированный в липосомы доксорубицин проявляет благоприятные фармакокинетические профили и более низкую кардиотоксичность у пациентов, в отличие от свободного доксорубицина (Водовозова Е.Л. с соавт., 2017; Марнаутов Н.А. с соавт., 2020; Judson I. et al., 2001; Nguyen T.L. et al., 2017).

Kleiter M. et al. (2010) изучалось использование липосомальных препаратов в сочетании с другими видами терапии в качестве многогранного подхода к ветеринарной онкологии. Из-за того, что препараты на основе липосом имеют более длительную циркуляцию *in vivo*, сенсibiliзирующие агенты могут быть загружены в липосомы, чтобы служить мощными сенсibiliзаторами перед лучевой терапией при раке. Исследование, проведенное в 2010 году, продемонстрировало улучшение терапевтических результатов у кошек с за-

пущенными саркомами мягких тканей при назначении липосомального доксорубина одновременно с ежедневной паллиативной лучевой терапией. Было показано, что липосомальный доксорубин повышает чувствительность опухолевых клеток к сопутствующей лучевой терапии.

В последние годы липосомы рассматриваются как платформа для разработки вакцин. К приоритетным направлениям фармации относится создание более безопасных рекомбинантных белков и синтетических пептидов в качестве «субъединичных» вакцин. Однако эти вакцины часто обладают плохой иммуногенностью и требуют сильнодействующих адъювантов для улучшения иммунного ответа хозяина. Поэтому были проведены исследования по использованию систем доставки на основе нанотехнологий, таких как липосомы, для доставки адъювантов, которые могут повышать иммуногенность новых вакцин. Эти системы потенциально могут увеличивать иммуногенность несколькими способами. Во-первых, многие наночастицы могут имитировать молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами, активируя врожденный иммунный ответ через рецепторы распознавания паттернов. Во-вторых, наночастицы, такие как липосомы, преимущественно поглощаются антигенпрезентирующими клетками, что приводит к усиленной активации Т-клеток. В частности, катионные липосомы служат мощными платформами для разработки вакцин благодаря их способности связываться с ДНК и вызывать иммунный ответ. Кроме того, некоторые наночастицы могут быть сконструированы с вирусоподобными частицами на своей поверхности, что обеспечивает необходимую иммунную стимуляцию без фактической вирусной ДНК, которая может вызвать инфекцию. Наконец, системы доставки, такие как липосомы, могут действовать как целевые депо-препараты, которые обеспечивают пролонгированную доставку антигена в определенное место в течение определенного периода времени. Из-за потенциально благоприятных характеристик липосом их использование в вакцинах против ряда патогенов сельскохозяйственных животных вызвало большой исследовательский интерес в последнее десятилетие (Storni T. et al., 2005; Csaba N. et al., 2009; Nordly P. et al., 2009; Cox J.M.,

Pavic A., 2010; Schroeder A. et al., 2012; Caracciolo G., Amenitsch H., 2012; Korsholm K.S. et al., 2012).

Благодаря многочисленным исследованиям в этой области фармакологии была выявлена многофункциональность липосом при разной экспериментальной патологии, что позволяет рассчитывать на их успешное включение в схемы медикаментозного лечения (Medina P.O., 2004; Mohamed S. El-Samaligy, 2006).

К новым способам доставки лекарственных средств с целью увеличения их биодоступности относятся «фитосомы», название которых происходит от «липосомы». Обе лекарственные формы содержат в своем составе липиды, однако по строению фитосомы значительно отличаются от липосомальных лекарственных форм.

История открытия фитосом приходится на конец XX века. Основываясь на том, что в природе большинство полифенолов имеют сильное сродство к фосфолипидам, группа итальянских ученых «завернула» экстрактивный полифенол с низкой биодоступностью в фосфолипидную «обложку», что существенно улучшило абсорбционные свойства новообразованного комплекса, получившего название «фитосома». Среди потенциальных стратегий фитофосфолипидные комплексы (известные как фитосомы) стали перспективным методом повышения биодоступности активных растительных компонентов. Фитосомы получают путем комплексообразования фитоконпонентов в определенных молярных соотношениях с фосфолипидами в специфических условиях. Амфипатические фосфолипиды в основном действуют как «проводники» фитоконпонентов, помогая им проходить через наружную мембрану клеток желудочно-кишечного тракта, в конечном итоге достигая крови (Dayan N., Touitou E., 2002; Patella J. et al., 2009; Gandhi A. et al., 2012).

Фитосомы увеличивают абсорбцию растительных экстрактов или изолированных активных ингредиентов при местном или пероральном применении. Инкапсуляция – это процесс, при котором одно вещество захватывается другим веществом, в результате чего образуются частицы диаметром от не-

скольких нанометров до нескольких миллиметров. Инкапсулированные компоненты можно назвать основным материалом, активным агентом, наполнителем, внутренней фазой или фазой полезной нагрузки. Фитосомальная технология разработана путем включения стандартизированных растительных экстрактов или водорастворимых фитокомпонентов в фосфолипиды с образованием комплексов, способных повышать биологическую активность экстракта и его фармакологическое действие. Фитосомная технология была успешно применена к растительным экстрактам (гинкго, расторопше и зеленому чаю), а также к фитохимическим веществам (куркумин и силибин) с высокой эффективностью, как у животных, так и у человека (Semalty A. et al., 2010; Kidd P.M., Head K.A., 2005; Hoh C. et al., 2006).

Фитосомы как лекарственная форма – это новое, только развивающееся направление. Под фитосомой понимают флавоноидную молекулу, связанную, по крайней мере, с одной молекулой фосфатидилхолина. Она является молекулой-гибридом, обладающей высокой растворимостью в липидной и в водной средах. Принципиальное отличие липосом от фитосом заключается в том, что в липосомах активный биоматериал растворен в среде, содержащей полость, или в слоях мембраны, тогда как в фитосомах он является составной частью мембраны, представляя собой молекулы, стабилизированные посредством химической связи с полярной головкой фосфолипидов (рис. 1). В липосомах активное вещество растворено в ядре комплекса, и между липидом и лечебным веществом нет химической связи; однако в фитосомах полярная группа фосфолипидов взаимодействует с водородными связями и образует уникальное расположение, которое подтверждается спектроскопией. Некоторые липосомальные препараты действуют в водной среде или буферном растворе, тогда как фитосомы активны с растворителями, имеющими низкую диэлектрическую проницаемость (Жилкина В.Ю. с соавт., 2015; Kidd P.M., 2009; Bhattacharya S., 2009; Semalty A. et al., 2010; Husch J. et al., 2011; Gandhi A. et al., 2012; Kaur P. et al., 2012).

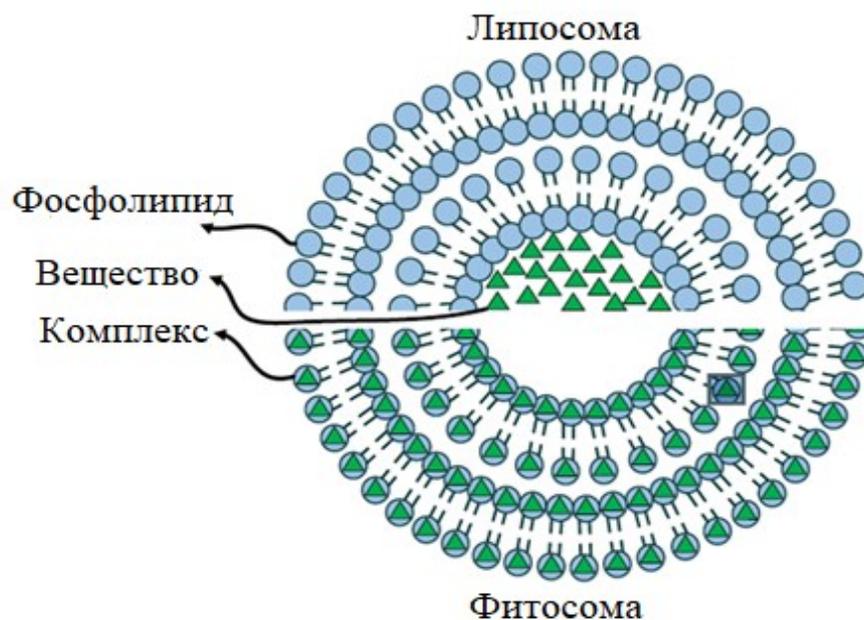


Рисунок 1 – Разница между фитосомой и липосомой. Молекулярная организация фитосомы (нижний сегмент) и липосомы (верхний сегмент) <https://www.semanticscholar.org/paper/Phytosome-and-Liposome>

Липосома образуется при смешивании водорастворимого вещества с фосфатидилхолином, при этом не образуется никакой химической связи; молекулы фосфатидилхолина окружают водорастворимое вещество. Могут быть сотни или даже тысячи молекул фосфатидилхолина, окружающих водорастворимое соединение. В отличие от фитосомной технологии, фосфатидилхолин и растительные активные компоненты из комплекса 1:1 или 2:1 (в зависимости от вещества) сравнивают с липосомами. Фитосома характеризуется высоким соотношением биоактивных веществ и липидов со стехиометрией в диапазоне 1:1–1:3 между активным и вспомогательным фосфолипидным составом (Жилкина В.Ю. с соавт., 2015; Dayan N., 2002; Patella J. et al., 2009; Bhattacharya S., 2009; Kumar P. et al., 2010).

В липосомах активное вещество растворено в ядре комплекса, и между липидом и веществом-гостем нет химической связи, однако в фитосомах полярная группа фосфолипидов взаимодействует с водородными связями и образует уникальное расположение, которое подтверждается спектроскопией (Kidd P.M., 2009; Sindhumol P.G. et al., 2010; Kaur P. et al., 2012).

Многие ученые, занимающиеся разработкой и изучением фитосом, исследуют их фармакологическую активность и преимущества в сравнении с доступными коммерческими формами лекарственных препаратов. Большинство исследований фитосом сосредоточено на *Silybum marianum* и ее флаволигнанах, защищающих печень (Kidd P.M., 2009; Khan J., Saraf S., 2016).

Moscarella S. et al. (1993) приготовили силибиновую фитосому и пролечили 232 больных хроническими гепатитами в дозе 120 мг два или три раза в день курсом до полугода. Показано, что функционирование печени быстрее возвращалось к нормальному состоянию у пациентов, принимавших силибиновые фитосомы по сравнению с группой контролей (49 обработанных коммерчески доступной формой силимарина и 117 без лечения).

Yanyu X. et al. (2006) изготовили силимариновые фитосомы и изучали их фармакокинетику на крысах. Установлено, что биодоступность силибина у крыс была значительно больше после перорального приема силибин-фосфолипидного комплекса за счет впечатляющего улучшения его липофильных свойств и биологического действия силибина.

Maiti K., Mukherjee K., Gantait A. (2007) сообщили, что фитосомы куркумина (флавоноид из куркумы – *Curcuma longa*) и нарингенина (флавоноид из плодов винограда – *Vitis vinifera*) показали более высокую антиоксидантную активность, чем чистый куркумин, во всех тестируемых дозах.

Шупелькова Ю.О. (2012) описывает, что силибинин в составе фитосом при гепатите С способствовал снижению реакции повреждения печени и развития окислительного стресса.

За последние десятилетия были достигнуты значительные успехи в разработке систем доставки растительных активных веществ и экстрактов. Доказано, что липосомы повышают терапевтическую активность фитоконпонентов. Методология составления рецептур липосом проста и может быть легко модернизирована до коммерческого масштаба производителями фармацевтических,нутрицевтических и ветеринарных средств.

1.2 Основные свойства лецитина

Фосфолипиды играют важную роль в поддержании жизнедеятельности и нормальном функционировании организма. Фосфолипиды – это липиды, которые находятся в животных и растениях, а их основными источниками являются растительные масла (соевое, хлопковое, кукурузное, подсолнечное, рапсовое и др.) и ткани животных (яичный желток, бычий мозг, молоко и др.) (Манджиголадзе Т.Ю., Арчинова Т.Ю., 2011; Степанов Ю.М., 2016; Husch J. et al., 2011).

Фосфолипиды представляют собой сложные эфиры многоатомных спиртов глицерина или сфингозина с высшими жирными кислотами и фосфорной кислотой. В состав фосфолипидов входят также азотсодержащие соединения – холин, этаноламин или серин. В зависимости от того, какой многоатомный спирт участвует в образовании фосфолипида (глицерин или сфингозин), последние делят на 2 группы: глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды (Айдинян Г.Т., 2015; Калоев Б.С., Ибрагимов М.О., 2020).

Количественно и качественно доминирующей молекулой эссенциальных фосфолипидов (ЭФЛ) является фосфатидилхолин. Известно, что фосфолипиды образуют двойной слой клеточных и субклеточных мембран, обуславливая их гибкость и биологическую активность. Эффективность ЭФЛ в терапии заболеваний печени обеспечивается не только способностью фосфатидилхолина включаться в поврежденные участки мембран и тем самым улучшать регенерацию печени, но и повышать текучесть и функционирование мембран. Исследования на животных показали, что ЭФЛ влияют на мембранозависимые клеточные функции, обладают антиоксидантными, противовоспалительными, антифиброзными, апоптозмодулирующими, регенеративными, защитными, липидорегулирующими эффектами, обеспечивая сигнальные и рецепторные взаимоотношения (Гундерман К.Д., 2019; Tedesco D., 2004; Van Hoogevest P., Wendel, A., 2014).

Фосфолипиды являются важной частью клеточных мембран. Они обеспечивают текучие и пластические свойства мембран клеток и клеточных органоидов, в то время как холестерин обеспечивает жёсткость и стабильность мембран. Фосфолипиды участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина. Между плазмой и эритроцитами происходит обмен фосфолипидами, которые играют важнейшую роль, поддерживая в растворимом состоянии неполярные липиды. Будучи более гидрофильными, чем холестерин, благодаря наличию в молекуле остатков фосфорной кислоты, фосфолипиды являются своеобразными «растворителями» для холестерина и других высоко гидрофобных соединений (Рубан Н.А., Микитюк В.В., 2014; Айдинян Г.Т., 2015).

Метаболизм фосфолипидов тесно связан со многими процессами в организме: образованием и разрушением мембранных структур клеток; формированием мицелл жёлчи; образованием в альвеолах лёгких поверхностного слоя, предотвращающего слипание альвеол во время выдоха. Нарушение обмена фосфолипидов – причина многих заболеваний, в частности респираторного дистресс-синдрома новорождённых, жирового гепатоза, наследственных заболеваний, связанных с накоплением гликолипидов, лизосомных болезней. При лизосомных болезнях снижается активность гидролаз, локализованных в лизосомах и участвующих в расщеплении гликолипидов (Калоев Б.С., Ибрагимов М.О., 2020; Швед А.В., 2022; Semalty A. et al., 2010).

Лецитин обычно относится к триглицеридам, фосфолипидам (фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин) и гликолипидам. Однако термин лецитин, применяемый в области биохимии, конкретно относится к чистому фосфатидилхолину, который представляет собой фосфолипид, полученный из фосфатной фракции, экстрагированной из овощей, таких как соевые бобы, подсолнечник, рисовые бобы и семена рапса. Природные фосфолипиды также могут быть извлечены из животных источников, включая яичный желток, морские источники и молоко. Для разработки лекарственных липосомальных композиций лецитин из животных источников, в отличие от растительных, имеет определенные недостатки. Например, липи-

ды, полученные из крупного рогатого скота или яиц, имеют проблемы со стабильностью из-за высокой концентрации полиненасыщенных жирных кислот. Следовательно, лецитин из этих источников менее стабилен по сравнению с соевым или другим лецитином растительного происхождения, которые содержат меньше полиненасыщенных жирных кислот. Кроме того, бычий и яичный лецитин (например, яичный желток и молочный лецитин) могут быть контаминированы белками и/или патогенами, такими как вирусы (Манджиголадзе Т.Ю., Арчинова Т.Ю., 2011; Ибрагимов М.О., 2021; Machado A.R., 2014; Van Hoogevest P., Wendel A., 2014).

Лецитин, полученный из соевых бобов, считается более экономичным, безопасным и стабильным с производственной точки зрения. Помимо крупномасштабного выращивания соевых бобов по всему миру, производство липосом из неочищенного соевого лецитина может быть более экономичным, поскольку неочищенные компоненты содержат значительно большее количество фосфолипидных компонентов по сравнению с другими растительными источниками. Это означает, что соевый лецитин имеет преимущества, заключающиеся в том, что он более стабилен (меньше полиненасыщенных жирных кислот), безопасен, в изобилии доступен как в очищенной, так и в неочищенной формах, менее затратен как для лабораторного, так и для фармацевтического производства липосом (Айдинян Г.Т., 2015; Калоев Б.С., Ибрагимов М.О., 2020; Van Hoogevest P., Wendel A., 2014; Nguyen T.L. et al., 2017).

Фосфатидилхолин (соевый лецитин) является натуральным фосфолипидом с молярной массой 780 г/моль. Он является составной частью молекулярной структуры биологических мембран, но также присутствует в плазме крови в составе липопротеинов. Структура фосфатидилхолина образована двумя длинными углеводородными цепочками (насыщенная и ненасыщенная), составляющие неполярную или гидрофобную часть молекулы. Полярная или гидрофильная часть образована глицерином, фосфатной группой и холином. Фосфатидилхолин представляет собой желтоватое и гигроскопичное твердое вещество. Легко разлагается при высоких температурах и разрушается под действи-

ем кислорода при длительном воздействии воздуха и влаги. Его присутствие резко увеличивает проницаемость липосом в мембраны и снижает способность удерживать инкапсулированный материал (Madrigal-Santillán E. et al., 2014; Machado A.R. et al. 2014; Patra J.K. et al., 2018).

Attia Y.A. et al. (2008) представили данные, что соевый лецитин, введенный в рационы кур-несушек, достоверно увеличивает массу яиц и яичную продуктивность. Об аналогичном влиянии фосфолипидов на яичную продуктивность кур-несушек сообщают An B.K. et al. (1997).

Доктором Роландом Адельманном установлено, что лецитин, играя роль эмульгатора, является важнейшей соединяющей жиров в водной среде, благодаря чему значительно улучшается переваримость жиров. Поскольку лецитин увеличивает активную для расщепления площадь поверхности частиц питательных веществ, повышается эффективность действия пищеварительных энзимов, а также лучше абсорбируются жирорастворимые витамины (Semalty A. et al., 2010).

Melegy T. et al. (2010) описывают, что к важнейшей особенности лецитинов относится их положительное влияние на процесс всасывания питательных веществ в кишечнике благодаря встраиванию отдельных молекул в клеточные мембраны энтероцитов, тем самым увеличивается их проницаемость и повышается эффективность всасывания питательных веществ из просвета кишечника.

О достоверном увеличении живой массы и улучшении конверсии корма бройлерами в ответ на введение в рацион фосфатидилхолина сообщают Hodallah H.A. et al., 2013. Авторы также установили достоверное увеличение уровня триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови, а также увеличение длины ворсинок и глубины крипт эпителиального слоя тонкого кишечника у цыплят, получавших фосфатидилхолин.

Введение в рационы поросят-отъемышей лецитина способствует улучшению переваримости липидов корма и увеличению интенсивности приростов (Швед А.В., 2022).

1.3 Основные свойства расторопши пятнистой

Одним из эффективных лекарственных растений является расторопша пятнистая (*Silybum marianum*). Это двулетнее растение высотой до 2 метров, семейства сложноцветных, матово-зеленого цвета, колючее, со стоячим стеблем, который может быть толстым, простым или слегка разветвленным. Листья большого размера до 80 см длину и до 30 см в ширину, кожистые, перистолопастные, темно-зеленого цвета. Корзинки расположены одиночно на верхушке стебля (Рис. 2).



Рисунок 2 – Слева направо: расторопша пятнистая и ее семена (плоды)

<https://honeymarket.ru/rastoropsha-pyatnistaya-plody-100gr-eklipta>

Растение распространено в южных районах России и в Западной Сибири. Наиболее активно расторопшу пятнистую в России начинали культивировать, начиная с 1975 г, и на протяжении длительного времени растение традиционно выращивается в Краснодарском крае и в Самарской области. Семена расторопши пятнистой содержат около 70–80 % флавонолигнанов силимарина и около 20–30 % полимерных и окисленных полифенольных соединений (таких как дубильные вещества) В качестве лекарственного сырья используют зрелые плоды – *Fructus Silybi mariani*, где содержится группа флавоноидных соединений, обозначенных как силимарин (*Silimarin*). Из силимарина выделено три отдельных изомерных соединения – силибинин, си-

лидианин и силикрин, имеющих фенилхроманоновую структуру и обладающих в той или иной степени гепатопротективным действием (Яковлев Г.П., Блинов К.Ф., 2004; Крепкова Л.В., Шкаренков А.А., Сокольская Т.А., 2008; Фисинин В.И., 2011; Куркин В.А., 2016; Khazaei R., Seidavi A., Bouyeh M., 2022).

Опыт применения и использования в медицинской практике расторопши пятнистой известен с самых древних времен. В традиционной и народной медицине расторопша пятнистая применяется уже более 2 тысяч лет. Первое научное описание в трудах Теофраста датируется IV в. до н.э. Расторопша упоминается в работах известного древнегреческого врача Диоскорида и знаменитого античного целителя Галена. Следует отметить, что как гепатопротекторное средство расторопша получила признание в средние века, начиная с XVI века, когда стали широко применять настойку плодов расторопши. В начале XVIII века известный клиницист Радемахер использовал расторопшу пятнистую при различных заболеваниях гепатобилиарной системы, считая ее специфическим средством при печеночной колике, желтухе, кровавой рвоте, желчнокаменной болезни, хроническом кашле. Примерно в это же время немецкий врач Рейль ввел настойку из плодов расторопши «*Carduus marianus*» в гомеопатическую практику. Известный немецкий врач-гомеопат Винденбанд применял «*Carduus marianus*» при кровотечениях и застое в портальной вене, доктор Прель – при различных поражениях печени (Куркин В.А., 2003; Вайс Р.Ф., Финтельманн Ф., 2004; Цаприлова С.В., Родионова Р.А., 2008; Губергриц Н.Б. с соавт., 2012; Kidd P.M., Head K., 2005; Abenavoli L. et al., 2018).

Плоды расторопши пятнистой были включены в третье издание Фармакопеи России в 1880 г. и имели латинское название *Fructus Cardui Mariae*. Позже данное растение исключили из реестра также, как и в других странах. Переломным моментом можно назвать 60-е годы XX столетия, когда усилиями немецких ученых (Вагнер, Хансел, Вогел и др.) удалось выделить силима-риновый комплекс, на основе которого позже в Германии стали выпускать

оригинальный препарат «Легалон». После этого в мировом профессиональном сообществе ученых, медиков и фармацевтов появляется особый интерес к данному растению. Именно в тот период расторопша входит в современную медицинскую и фармацевтическую практику, и растение снова получает статус фармакопейного. В 1968 г. немецкими учеными из Мюнхенского института фармации был расшифрован биохимический состав расторопши пятнистой, а также выделены индивидуальные оригинальные биологически активные соединения силимаринового комплекса названные флавонолигнанами (Куркин В.А., 2001-2016; Самылина И.А., Аносова О.Г., 2007; Росихин Д.В., 2018).

Примерно в этот же период особый интерес к данному растению возник и в СССР, где были проведены полномасштабные научные исследования по созданию новых гепатопротекторов на основе плодов расторопши пятнистой, что привело к значительным успехам по созданию ряда уникальных препаратов, обладающих гепатопротекторным эффектом (Куркин В.А., 2003; Волоцьева А.В., 2004).

Расторопша пятнистая относится к лекарственным растениям растительного происхождения, чей фармакологический профиль легко поддается доказательству клинической эффективности. Между тем силимарин плохо всасывается (20–50 %) из желудочно-кишечного тракта и его включение в липосомальную лекарственную форму, может значительно улучшить биодоступность (Цаприлова С.В., Родионова Р.А., 2008; Нoh С., 2006).

Силимарин проявляет противовоспалительное, гепатопротекторное, цитопротекторное и антиканцерогенное действие. Антиоксидантные свойства силимарина значительно улучшают устойчивость печени к токсическим воздействиям. Силибин, как составляющая силимарина, защищает печень, сохраняя глутатион в паренхиматозных клетках, а фосфатидилхолин помогает восстанавливать и заменять клеточные мембраны. Пероральная биодоступность силибина в фармакокинетическом исследовании заметно увеличивается при введении в виде комплекса силибин-фосфолипид (Yanyu X. et al., 2006; Chand N. et al., 2011; Baradaran A. et al., 2019).

Многочисленные исследования показывают механизмы воздействия силмарина на печень: в качестве антиоксиданта, который нейтрализует свободные радикалы и регулирует внутренний уровень глутатиона в клетке; как стабилизатор клеточной мембраны и регулятор проницаемости в клетках печени для предотвращения проникновения токсичных веществ в клетки печени; как стимулятор синтеза РНК и обновления клеток печени; как ингибитор деформации звездчатых гепатоцитов в миофибробласты, процесса, ответственного за отложение коллагеновых волокон, которые могут привести к циррозу печени; он связывается с мембранными рецепторами клеток печени, отвечающими за абсорбцию токсинов и, изменяя их фосфолипидные соединения, предотвращает абсорбцию токсинов клеткой; стимулируя синтез белка, он регенерирует гепатоциты. Флавоноиды и антиоксиданты расторопши пятнистой играют важную роль в улучшении иммунной системы организма, поскольку содержащиеся в растении витамины и железо эффективно повышают уровень кроветворения (Young J.F. et al., 2003; Tedesco D. Et al., 2004; Chand N. et al., 2011; Madrigal-Santillán E. et al., 2014; Shanmugam S. et al., 2022).

1.4 Основные свойства дигидрокверцетина

Дигидрокверцетин (*Dihydroquercetinum*, ДГК, международное непатентованное название Таксифолин) – природный антиоксидант и биофлавоноид, уникальный акцептор свободных радикалов кислорода, обладает свойствами гепатопротектора, радиопротектора, противовоспалительным, обезболивающим и иммунорегулирующим действием (Филимонова С.А., Молянова Г.В. 2018; Егоров И.А. с соавт., 2018; Kang J.T. et al., 2013; Orlova S.V. et al., 2022).

История изучения биофлавоноидов официально начинается с 1813 года, когда французский химик-органик Мишель Эжен Шеврель выделил из американского дуба кверцетин. Уровень лабораторной и промышленной техники XX века долго не позволял получать биофлавоноиды вообще, и дигидрокверцетин в частности, пока не разработали методики его извлечения из древесины

хвойных пород. Впервые ДГК был получен в 1951 году в Японии, как аналог кверцетина, обладающий Р-витаминной активностью и целым рядом прочих свойств, отсутствующих у других биофлавоноидов (Вайс Р.Ф., Финтельманн Ф., 2004; Леонтьев В.Н. с соавт., 2022; Brown J. E. et al., 2006).

В конце 1960-х годов профессор Н.А. Тюкавкина с группой ученых выделила ДГК из древесины лиственницы. Природным сырьем, используемым в данном методе, служит комлевая часть Сибирской (*Larix sibirica*) и Даурской (*Larix gmelinii*) лиственниц, произрастающих в отдельных районах Иркутской области и на Дальнем Востоке. Уникальность метода состояла в том, что ДГК впервые получили в форме чистого вещества – кристаллического порошка, а не в виде настойки, мази или экстракта. Это позволило применять ДГК в таблетках или капсулах в концентрациях в сотни раз превосходящих прежние экстракты. Разработка технологии получения ДГК из лиственницы продолжалась в 70-е годы XX века. Работы выполнялись на базе лаборатории природных соединений Иркутского института органической химии Сибирского Отделения Академии Наук, совместно с научными сотрудниками Ленинградской Лесотехнической академии и Красноярского института леса и древесины. В 2008–2009 годах двумя независимыми лабораториями Advanced Botanical Consulting & Testing, Inc. и Brunswick Laboratories было выполнено тестирование ДГК российского производства. Результаты показали, что такой ДГК обладает очень высокой антиоксидантной активностью и превосходящей прочие известные антиоксиданты (Леонтьева Н.В., 2016).

Дигидрокверцетин встречается в растениях разных семейств, но в больших количествах (до 4,5 %) выделяется только из лиственницы сибирской или даурской (рис. 3). К альтернативным источникам получения ДГК относят – лепестки роз, междольковые перегородки цитрусовых, красный виноград и японскую сакуру (Яковлев Г.П., Блинов К.Ф., 2004; Orlova S.V. et al., 2022).



Рисунок 3 – Слева направо: лиственница сибирская (*Larix sibirica*) и лиственница даурская (*Larix gmelinii*)

<https://www.altzapovednik.ru/info/publikacii/zametki-dendrologa/listvennica.aspx>

Дигидрокверцетин является доминирующим компонентом биофлавоноидного комплекса диквертина. Структурные формулы важнейших представителей ДГК представлены на рисунке 4.

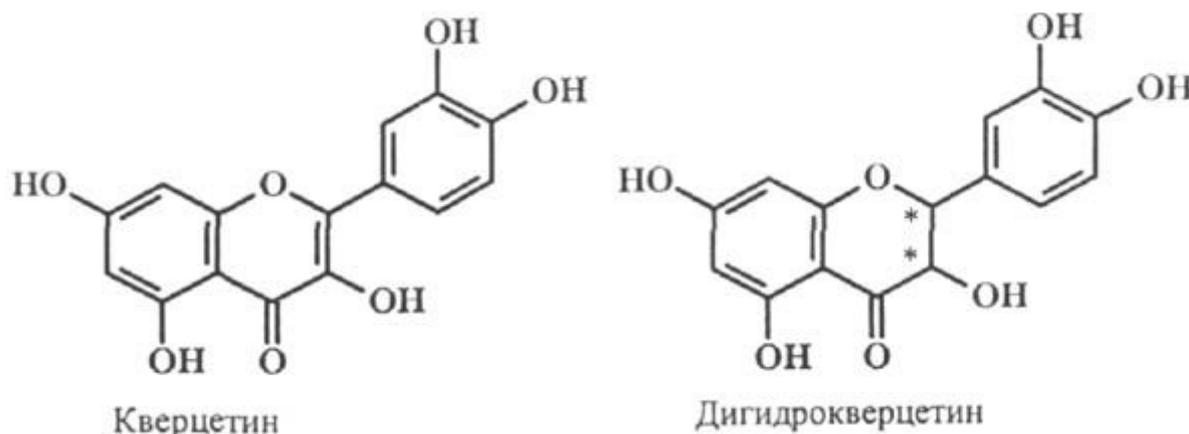


Рисунок 4 – Структурные формулы важнейших представителей ДГК

<https://patents.google.com/patent/RU2629770C1/ru>

Субстанция дигидрокверцетина – аморфный или мелкокристаллический порошок желтого либо светло-желтого цвета, без запаха. Вкус – горьковатый. Вещество умеренно растворимо в холодной воде, хорошо растворимо в горячей воде, спирте, ацетоне, метиловом и этиловом спиртах, пропиленгликоле, 1,2-этилацетате. Нерастворим в хлороформе, диэтиловом эфире, углеводородах. Растворимость ДГК в воде зависит от температуры. При 20 °С раствори-

мость в воде равна около 0,1 масс %, при 90 °С – 5,20 масс %. В кипящей воде растворяется до 20 г в 100 мл (Накусов Т.Т., 2010; Pirgozliev V.R. et al., 2018).

В настоящее время доказано, что ДГК проявляет антиоксидантную, капилляропротекторную, противовоспалительную, гастро- и гепатопротекторную, радиопротекторную, гиполипидемическую и мочегонную активность. Многолетние исследования позволили установить следующие свойства ДГК: тормозит процессы перекисного окисления липидов клеточных мембран и препятствует повреждающему действию свободных радикалов; предотвращает раннее старение клеток и развитие различных заболеваний благодаря оптимизации периферического кровообращения и защиты мембран клеток от разрушения; капилляропротекторное действие связано с продлением жизни капилляров и активизацией их работы за счёт защиты мембраны клеток; улучшение функционального состояния сердечно-сосудистой системы за счет оптимизации магистрального и периферического кровотока, нормализации проницаемости сосудистой стенки, вязкости крови и свертывающей активности; оптимизация липидного обмена и липидного профиля крови; проявляет гепатопротекторные и дезинтоксикационные свойства, которые заключаются в прямом взаимодействии с токсинами, связывании их в стабильную форму с последующим выведением из организма. за счет улучшения капиллярного кровотока ускоряется процесс выведения токсинов из межклеточного пространства; выраженное радиопротекторное свойство – повышает устойчивость организма к радиационному воздействию и может использоваться как профилактическое средство в зонах с радиационным загрязнением окружающей среды (Бабкин В.А., Остроухова Л.А., Трофимова Н.Н., 2012; Леонтьева Н.В., 2016; Егоров И.А. с соавт. 2018; Никанова Л.А., 2020; Kang J.T. et al., 2013; Yang C.L. et al., 2019; Pirgozliev V.R. et al., 2020; Orlova S.V. et al., 2022).

На рынке представлено множество препаратов и кормовых добавок с добавлением дигидрокверцетина (БИОДОН КД, Экостимул-2, ЭкоКор, дигидрокверцетин в таблетках и др.).

1.5 Основные свойства репешка обыкновенного

Репешок обыкновенный (*Agrimonia eupatoria*) представляет собой многолетнее травянистое растение, одно из 14 видов рода Репешок или Репейничек (лат. *Agrimonia*), принадлежащее к семейству Розовые (лат. *Rosaceae*).

Стебли репешка прямые, крепкие, опушенные, высотой от 30 до 100 см. Волоски шершавые и покрывают все растение. Листья имеют двойной цвет: сверху – темно-зеленые, снизу – светло-зеленые, перистые, бархатистые, размещены поочередно (рис. 5).



Рисунок 5 – Листья репешка обыкновенного (*Agrimonia eupatoria*)

<https://herbana.world/plant/repeshok-obyknovennyi.html>

Цветки репешка обыкновенного пятилепестковые, желтого окраса, правильные, собраны в длинные колосовидные кисти (до 40 см в длину). Цветение растения длится с июня по август, при этом сами соцветия удлиняются, появляются новые венчики и одновременно созревают плоды. Интересной особенностью соцветий репешка является запах его цветков: растение источает приятный аромат, в сушеном виде запах не сохраняется. В сентябре образуются не крупные плоды (рис. 6) – цепкие семянки, способные цепляться своими щетинками за шерсть животных и одежду человека и разноситься на значительные расстояния (Васякина К.А., Куркина А.В., 2012; Granica S. et al., 2015).



Рисунок 6 – Соцветие и плоды репешка обыкновенного

<https://7ogorod.ru/prochee/trava-repesok.html>

С лечебной целью используют траву репешка обыкновенного, а также корни растения. *A. eupatoria* содержит большое количество различных биоактивных веществ – флавоноиды (кверцетин, рутин, гиперозид, цианидин кверцетрин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, апигенин-7-глюкозид, астрагалин), гидроксикоричные кислоты (кофеиновая и хлорогеновая), терпеноиды, кумарины, сапонины, углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза, галактоза, арабиноза, рамноза, ксилоза, рибоза), органические кислоты (лимонная, яблочная, щавелевая, винная, хинная и др.), азотсодержащие соединения (холин, никотиновая кислота, никотинамид, витамины К, РР, группы В) и горькие вещества (Лесовая Ж.С., Писарев Д.И., Новиков О.О., 2010; Granica S. et al., 2015; Huzio N.M. et al., 2020; Karlinska E. et al., 2021; Malheiros J. et al., 2022).

Huzio N.M. et al. (2022) экспериментальным путем определили качественный и количественный состав дубильных компонентов, гидроксикоричных кислот и флавоноидов в экстракте травы *A. eupatoria*. Определение проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 3D LC System Technologies (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США). Данные отображены в таблице 1 Приложения А.

Исследования, проведенные Paluch Z. et al. (2020), показали, что *A. eupatoria* содержит не менее 2 % дубильных веществ, из которых 3–21 % составляют конденсированные дубильные вещества, в частности проантоци-

анидины присутствуют в основном в виде лейкоантоцианов, биоконвертируемых кислотным гидролизом в цианидин. Танины растения продемонстрировали антисептические, вяжущие, антиоксидантные, противовоспалительные и антимуtagenные свойства.

Галеновые соединения репешка обыкновенного обладают вяжущим и мочегонным действием, способствуют нормализации обменных процессов, стимулируют появление аппетита, обладают кровоостанавливающими и слабыми желчегонными свойствами. Водные вытяжки из репешка проявляют угнетающее действие на вирус герпеса, спиртовые – на развитие α -гемолитического стрептококка и золотистого стафилококка. Флавоноиды репешка рутин и изокверцитрин стимулируют лимфоток, обеспечивают защиту сосудов. Фитостерол способен активно препятствовать процессу всасывания холестерина в кишечном отделе, что благотворно влияет на функциональность кровеносной системы. Холин в составе растения синтезирует аминокислоту метионин, контролирует уровень инсулина в крови, регулирует транспорт и обмен жирных кислот в печени, репешок обладает гепатопротекторным, сильным бактерицидным, противовоспалительным действием. Кровоостанавливающая активность репешка обусловлена наличием витамина К в составе растения (Самылина И.А., Аносова О.Г., 2007; Paluch Z. et al., 2020).

Yoon S.S., Koh E.G., Zee O.P. (2012) исследовали гепатопротекторный эффект репешка обыкновенного при хроническом повреждении печени у крыс, вызванном этанолом. Установили, что гепатопротекторный эффект *A. eupatoria* связан с торможением процессов перекисного окисления в гепатоцитах.

Подтверждена антиоксидантная активность *A. eupatoria* за счет способности нейтрализовать гидроксил и супероксид-анион-радикалы (Karlinka E. et al., 2021).

Таким образом, широкий спектр действия репешка обыкновенного вызывает значительный интерес к его использованию при разработке инновационных лекарственных средств ветеринарного применения.

1.6 Основные свойства володушки золотистой

Володушка золотистая (*Bupleurum aureum*) – многолетнее травянистое растение с цельными листьями, относится к семейству Зонтичные (*Apiaceae*). Высота растения обычно варьируется от 50 до 120 см, с ползучими малоразветвлёнными корневищами тёмно-коричневого цвета. Стебли прямые, часто одиночные или в числе до трёх, в верхней части бывают малоразветвлённые, имеют фиолетовый оттенок (Джавахан М.А. с соавт., 2012; Курманова Е.Н. с соавт., 2017).



Рисунок 7 – Цветки володушки золотистой

<https://floristics.info/ru/stati/sadovodstvo/5111-volodushka-poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya-foto.html>

Насчитывается более 150 видов растения, произрастающих преимущественно в Европе, Африке, Азии, Северной Америке и на Кавказе. В России произрастает несколько видов, и встречаются они, как правило, на Дальнем Востоке, в европейской части РФ, Кавказе и Сибири. Володушка золотистая отличается большими листьями с голубоватым налетом и весьма крупными зонтиками до десяти см в диаметре (рис. 7). Цветет в июне – июле. Плодоносит с июля до сентября. Предпочитает негустые леса различного состава,

опушки, овраги, берега водоемов и рек (Мирович В.М., Посохина А.А., 2018; Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., 2018).

В результате изучения состава володушки золотистой обнаружено, что в корнях содержатся кумарины (0,08 %), кверцетин, изорамнетин и нарциссин; в плодах – кверцетин, изорамнетин, изокверцитрин, рутин и нарциссин. Трава (стебли и листья) содержит углеводы и родственное соединение рибит, высшие алифатические спирты (нонакозанол, гексакозанол, альфаспинастерин), алкалоиды, витамин С и каротин, а цветы – кверцетин, изорамнетин, изокверцитрин, рутин и нарциссин (Сагарадзе В.А., Сайбель О.Л., Джавахян М.А., 2016; Ферубко Е.В. с соавт., 2022).

Глущенко А.В., Георгиянц В.А., Бевз Н.Ю. (2014) занимались определением количественного содержания флавоноидов и суммы полифенолов в наземной части володушки золотистой. Результаты исследований показали, что в надземной части володушки золотистой в пересчете на рутин содержится до 2,14 % флавоноидов и до 1,41 % полифенольных соединений в пересчете на пирогаллол.

Растения рода *Vipleurum L.* популярны в традиционной и научной медицине. Самое первое упоминание о корнях володушки в Китае было описано в первой Китайской медицинской книге (Sen Nong Ben Cao Jing) с тех пор корни растения широко используются в Китайской традиционной медицине (Канунникова Ю.С., Джавахян М.А., 2014; Мирович В.М., Посохина А.А., 2018).

В России первые данные были получены В.Г. Вограликом в 1941 году, когда был доказан желчегонный эффект володушки. В настоящее время представлены данные о желчегонном, ранозаживляющем, противовоспалительном, жаропонижающем, липолитическом, капилляроукрепляющем эффектах комплекса биологически активных веществ *Vipleurum aureum*. (Баширова Р.М., Мингазов Р.С., Мингажаева А.М., 2003; Канунникова Ю.С., Джавахян М.А., 2014; Коняева Е.А., Алентьева О.Г., 2017).

Уже много лет володушка признана ценным лекарственным растением при лечении различных заболеваний гепатобилиарной системы. Эксперимен-

тальными и клиническими исследованиями установлено, что володушка проявляет выраженное желчегонное действие, усиливает секреторную деятельность поджелудочной железы и печени. Она увеличивает количество выделяемой желчи, изменяет её химический состав, увеличивая количество пигментов, кислот и холестерина (Губергриц Н.Б. с соавт., 2012; Курманова Е.Н. с соавт., 2016; Стрелкова Л.Б. с соавт., 2019).

Так, гепатопротекторный эффект володушки, изученный на модели тетрахоуглеродной интоксикации крыс, проявился снижением интоксикации, активности аминотрансфераз и уровня жировой дистрофии. Клинические испытания показали эффективность препаратов на основе володушки при гепатите и циррозе. Также установлено, что сайкосапонины володушки в малых концентрациях стабилизируют мембраны эритроцитов, делая их более устойчивыми к повреждающим воздействиям. Повышение концентрации этих же веществ оказывает цитолитическое действие, причем в первую очередь лизируются клетки злокачественных опухолей. Доказана эффективность отваров *Vupleurum L.* при неврозах, а также как слабительное и детоксикационное средство при укусах змей (Баширова Р.М., Усманов Ю.И., 2001; Джавахян М.А. с соавт., 2018).

Кривенчук П.Е. с коллегами доказали клиническую эффективность препарата «Пеквокрин» на основе травы володушки при экспериментальном гепатите у кроликов. В серии опытов препарат проявил выраженную желчегонную активность, а также оказал стабилизирующее действие на ферментативную активность печени.

Chang J.S. и его коллеги показали, что смесь сайкосапонинов, полученная из володушки, ингибирует репликацию ДНК вируса гепатита В (HBV) и значительно снижает уровень антигена HBV в трансфицированных клетках.

Ocete M.A. и его коллеги занимались изучением спазмолитической активности эфирных масел, выходящих в состав *B. gibraltarium* и *B. Fruticosum*, на матку в эксперименте на крысах. Эфирные масла проявили выраженный спазмолитический эффект, противодействуя сокращению матки, которое было вызвано окситоцином и ацетилхолином.

Курманова Е.Н. с коллегами (2016) занимались изучением специфической активности травы володушки золотистой, в результате чего установили выраженное достоверное действие на слизистую оболочку желудка крыс при моделировании этаноловой язвы желудка, характеризующееся существенным уменьшением площади язвенных поражений. Также экспериментальным путем установили, что при пятидневном введении растение обладает дозозависимым противовоспалительным эффектом.

Мартынчик И.А. (2016) в эксперименте на модели хлоралгидратного сна описывает, что уменьшение длительности сна у экспериментальных животных при введении экстракта володушки может быть связано с его антитоксическим влиянием на функцию печени.

Стрелкова Л.Б. с коллегами (2019) проводили эксперимент по изучению фармакологической активности сухого экстракта володушки золотистой и подтвердили выраженное гепатопротекторное действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите лабораторных крыс.

Панин В.П. с коллегами (2018) в результате проведенных исследований установили, что экстракт володушки золотистой обладает седативным, обезболивающим, успокаивающим и умеренно выраженным гипотензивным действием.

Ферубко Е.В. (2018) в своих исследованиях описывает, что экстракт травы володушки золотистой помимо гепатопротекторного действия обладает антиагрегационной активностью в условиях АДФ-индуцированной агрегации, поэтому является перспективным для создания новых высокоэффективных растительных препаратов.

Таким образом, анализ научно-технической литературы свидетельствует о том, что все действующие компоненты, используемые при разработке липосомального препарата, обладают разнообразным механизмом действия и могут обеспечить улучшение обмена веществ, антиоксидантного статуса и состояния печени у животных.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа выполнялась в 2020–2023 гг. в отделе фармакологии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии». Клинические испытания выполнены на базе хозяйств Краснодарского края – ООО «Югмельпродукт» (Выселковский район) и КФХ Иванов А.С. (Курганинский район). Все эксперименты проведены с соблюдением правил, предусмотренных Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и научной целью (ETS № 123, Страсбург. 18.03.1986).

При постановке опытов использовались фармацевтические, токсикологические, фармакологические, физиологические, клинические, морфологические, биохимические, гистологические и другие методы исследований. Объект исследований – липосомальный препарат фитосомин, содержащий ди-гидрокверцетин, экстракты расторопши пятнистой, репешка обыкновенного и володушки золотистой, лецитин и бензоат натрия.

Биофармацевтические скрининговые исследования при определении оптимального соотношения фитокомпонентов в разрабатываемом препарате проводили в опытах *in vitro* на модели с *Paramecium caudatum*. Срок годности препарата фитосомин определяли согласно по ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств».

Изучение токсических свойств фитосомина проводили с использованием методик, представленных в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, изданном под общей редакцией Р.У. Хабриева (2005), и Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств, изданном под общей редакцией А.Н. Миронова (2012).

Острую токсичность фитосомина изучали на лабораторных крысах и цыплятах-бройлерах, из которых сформировали по две группы (n=10) –

опытную и контрольную. Для возможности принудительного введения *per os* препарата лабораторным крысам навеску фитосомина 3,0 г (эквивалентно 10300 мг/кг массы тела) разводили дистиллированной водой до объема 5,0 мл. Для цыплят-бройлеров методика была аналогичной – навеску фитосомина 9,0 г (эквивалентно 14400 мг/кг массы тела) разводили дистиллированной водой до объема 15,0 мл. После чего образец препарата крысам и цыплятам вводился принудительно с помощью зонда и шприца однократно натошак (после 12-ти часовой голодной диеты): крысам в желудок – в объеме 5,0 мл; цыплятам в зоб – в объеме 15,0 мл. В контрольных группах в том же объеме вводили растительное масло.

Хроническая токсичность фитосомина в первой серии изучалась на лабораторных крысах, во второй – на цыплятах-бройлерах. В каждом эксперименте было по 4 группы (n=10), где в 1, 2 и 3 опытных группах животные получали препарат в 1/10, 1/20 и 1/50 частях от максимально введенной дозы фитосомина в опыте по определению острой токсичности, а 4 группа была контрольной. Продолжительность опыта составила на крысах – два месяца, на птице – 42 дня. Проводился ежедневный учет сохранности и клинического состояния животных. Взвешивание выполняли в начале опыта, а затем в группах крыс – на 30 и 60 сутки, а в группах цыплят – каждые 7 дней. У пяти особей из каждой группы в середине и конце опыта отбиралась кровь для биохимического и клинического анализа. Эксперимент завершали эвтаназией пяти животных из каждой группы с дальнейшим патологоанатомическим вскрытием и гистологическим исследованием. У цыплят-бройлеров проводили ветеринарно-санитарную экспертизу мяса.

Оценку местнораздражающего действия препарата проводили в опытах на кроликах (методом накожных аппликаций и конъюнктивальной пробой) и на крысах (методом погружения хвоста). Эмбриотоксическое и тератогенное действие фитосомина оценивали согласно «Методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ» (2012).

Фармакологические свойства фитосомина изучали в два этапа: первый – при моделировании различных патологий на лабораторных крысах (при поражении печени гидразином) и цыплятах-бройлерах (при микотоксикозе, аммиачной интоксикации и технологическом стрессе); второй – для оценки фармакодинамического влияния препарата на продуктивные качества и показатели крови цыплят-бройлеров.

При моделировании поражения печени у лабораторных крыс было сформировано 5 групп по 10 голов в каждой (4 – опытных и 1 – контрольная). Животные четырех опытных групп получили разово внутрижелудочно гидразин в дозировке 200 мг/кг массы тела. Затем в течение 21 суток крысам трех опытных групп задавали фитосомин в виде болюсов: 1 группа – 0,25 г/кг массы тела; 2 группа – 0,5 г/кг массы тела; 3 группа – 0,75 г/кг массы тела; 4 группа после интоксикации получала пустые злаковые болюсы; 5 группа состояла из интактных животных.

При моделировании микотоксикоза 30 цыплят-бройлеров разделили на 3 группы по 10 голов в каждой (2 – опытных и 1 – контрольная). Птице 1 и 2 опытных групп в течение двух недель скармливался корм, содержащий микотоксины (Т-2 токсин – 0,06 мг/кг, афлатоксин В1 – 0,009 мг/кг и ДОН – 1,24 мг/кг). В 3 контрольной группе птица была интактной и получала доброкачественный корм. На восьмые сутки при скармливании контаминированного микотоксинами корма у цыплят-бройлеров опытных групп появились первые клинические признаки токсикоза, и с этого момента птице 1 опытной группы стали применять препарат фитосомин (ежедневно в течение двух недель), который смешивали с токсичным кормом и задавали групповым способом в дозировке 10 г/кг корма. Птица 2 опытной группы продолжала получать токсичный корм. На 15 сутки опыта прекратили дачу корма с микотоксинами, после чего 1 опытная группа продолжала получать фитосомин еще 7 суток, а 2 опытная группа содержалась на обычном рационе с использованием доброкачественного корма.

При моделировании аммиачной интоксикации 30 цыплят-бройлеров разделили на 3 группы по 10 голов в каждой (2 – опытных и 1 – контрольная). Птице 1 опытной группы на протяжении 14 дней превентивно задавали фитосомин в дозировке 10 г/кг корма, 2 опытная и 3 контрольная группы содержались на обычном рационе. После чего на 14 день цыплят из опытных групп размещали в установке, куда поступал аммиак в концентрации 300 мг/м³ (ПДУ 10–15 мг/м³). Уровень аммиака, который достигал устойчивого состояния через 3 минуты, контролировали и удерживали в пределах установленного содержания в течение получаса. Измерение концентрации аммиака проводилось с помощью газоанализатора «КОМЕТА» серии ИГС–98.

При моделировании технологического стресса 30 цыплят-бройлеров разделили на 3 группы по 10 голов в каждой: 1 группа – получала фитосомин из расчета 10 г/кг корма в течение 14 суток (7 дней до транспортировки и неделю после); птица 2 и 3 групп содержалась на обычном рационе. Цыплята 1 и 2 групп подвергались стрессирующему воздействию посредством транспортировки поголовья в течение 2 часов со скоростью 60 км/ч на расстояние 120 км (в контейнерах с доступом воздуха, без воды и корма, в скученном состоянии). Дополнительным стрессирующим фактором являлась высокая температура окружающей среды в дневное время августа месяца – около 30 °С. Птица 3 группы служила интактным контролем.

Оценку фармакодинамического влияния препарата на продуктивные качества и показатели крови птицы провели в ООО «Югмельпродукт» (Выселковский район, Краснодарский край). Из цыплят-бройлеров в 14-суточном возрасте сформировали 5 групп по 50 голов в каждой. Птица 1 контрольной группы содержалась на основном рационе (ОР), во 2, 3, и 4 опытных группах в ОР вводили фитосомин в разных дозах (4, 5 и 6 г/кг корма), в 5 группе – лецитин в дозе 6 г/кг корма. Продолжительность опыта составила 28 суток.

Клиническую апробацию фитосомина для подтверждения доказательств эффективности его применения в промышленном птицеводстве проводили в КФХ Иванов А.С. (Курганинский район, Краснодарский край). Из

цыплят-бройлеров в 11-суточном возрасте сформировали 2 группы по 1000 голов в каждой: 1 опытная в составе ОР получала фитосомин в дозе 5 г/кг корма весь ростовой и финишный периоды кормления; 2 контрольная находилась на ОР. Продолжительность опыта составила 31 день – вплоть до убоя птицы в возрасте 42 суток.

Лабораторные исследования крови проводили в динамике опытов при помощи автоматизированных анализаторов – биохимического Vitalab Flexor и гематологического Mythic 18 vet. Концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови (ДК – диеновые конъюгаты, КД – кетодиены и МДА – малоновый диальдегид) изучали в соответствии с методическими рекомендациями ВНИВИПФиТ (2010) на спектрофотометре Ecoview. Содержание общих липидов оценивали при помощи тест-системы DAS-SpectroMed. Уровень в крови молекул средней массы (МСМ) определяли по методу Н.И. Габриеляна и В.И. Липатовой (1984).

Микроструктуру внутренних органов изучали общепринятыми в патогистологии методами. Препараты фиксировали в 10 %-м нейтральном формалине. Парафиновые блоки были микротомированы и окрашены гематоксилином и эозином. Гистологические препараты исследовали и фотографировали при помощи микроскопа «Микромед-3» с видеоокуляром TourCam 10.0 MP.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости крыс проводили на аппарате Chison Qbit 7. Перед проведением УЗИ у крыс забривалась шерсть на брюшной стенке, кожа смачивалась дистиллированной водой и смазывалась специальным гелем.

Расчет экономической эффективности проводили согласно утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий (1997).

Полученные цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с определением достоверности значений по t-критерию Стьюдента и уровня достоверности различий показателей по группам.

3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Фармацевтическая разработка и определение срока годности препарата фитосомин

3.1.1 Выбор и обоснование компонентного состава препарата

Широким спектром фармакологической активности в отношении большого круга заболеваний отличаются лекарственные препараты на основе веществ растительного происхождения. Биологически активные компоненты растений проявляют выраженные фармакологические эффекты *in vitro*. Однако, низкий уровень абсорбции *in vivo* ограничивает широкое применение данных соединений. С учетом этого, использование липосомальных комплексов, состоящих из фосфолипидов и биологически активных компонентов растений, представляет собой перспективный подход к увеличению биодоступности флавоноидов и других лекарственных веществ растительного происхождения при пероральном приеме.

Для разработки липосомального препарата были отобраны и изучены растительные компоненты, обладающие гепатопротекторными, метаболическими и антиоксидантными свойствами. В качестве многофункциональной фосфолипидной основы в липосомальном препарате использовался соевый лецитин компании «АДЛЕК®» (Германия). Лецитин участвует не только в построении липосомы, но и сам обладает фармакологическим эффектом, так как содержит большое количество эссенциальных фосфолипидов, которые влияют на мембранозависимые клеточные функции, обладают антиоксидантными, противовоспалительными, антифиброзными, регенеративными и другими эффектами [2, 41, 72, 74, 111].

Состав биологически активных веществ соевого лецитина, его физико-химические и микробиологические параметры представлены в таблице 1, из которой видно, что соевый лецитин содержит значительное количество фосфолипидов 68,2–70,8 %, а концентрация фосфатидилхолина составляет 21,8–22,6 %.

Таблица 1 – Состав биологически активных веществ соевого лецитина, его физико-химические и микробиологические параметры

Параметры	Значения
Нерастворимые в ацетоне вещества, %	62,0
Кислотное число, mg KOH/g	не более 30,0
Влажность, %	максимально 0,80
Цветное число, 10 % раствор йода	100
Нерастворимые в толуоле вещества, %	0,2
Вязкость, 25°С Па*с	12,5
Перекисное число, ммоль/кг активного кислорода	не более 10,0
Эффективность эмульгирования, HLB	4
Общее микробное число, КОЕ/г	≤ 1 000
Энтеробактерии, КОЕ/г	≤ 10
E. Coli, КОЕ/г	отсутствует
Дрожжи и плесень, КОЕ/г	≤ 100
Сальмонелла в 25 г	отсутствует
Колиформы, КОЕ/г	≤ 50
Полиненасыщенные жирные кислоты, г/100 г:	
линоленовая C18:3 (омега-3)	3,0–3,2
линолевая C18:2 (омега-6)	14,9–15,1
Соотношение жирных кислот: омега-6: омега-3	4:1
Минеральные вещества, г/100 г:	6,74–7,09
Макроэлементы, мг/100 г:	
Калий	569–584
Кальций	406–418
Магний	305–308
Фосфор	617–665
Микроэлементы, мг/100 г:	
железо	12,8–13,5
Фосфолипиды, г/100 г:	68,2–70,8
Дифосфатидилглицерины	2,5–2,8
Фосфатидные кислоты	9,2–9,5
Фосфатидилэаноламины	16,9–17,4
Фосфатидилхолины	21,8–22,6
Фосфатидилсерины	9,1–9,4
Фосфатидилинозитолы	8,7–9,1
Токоферолы (витамин E) мг/100 г, в том числе:	56,2–57,9
α-токоферол	13,7–14,2
β-, γ-токоферолы	40,4–44,5
Провитамин D (β-ситостерол), мг/100 г	236,4–243,7

Наличие в составе лецитина полиненасыщенных жирных кислот благоприятно влияет на обмен веществ животных. Общее количество минеральных веществ регистрируется в концентрации 6,74–7,09 %, витамина Е в диапазоне 56,2–57,9 мг в 100 г, провитамина Д – от 236,4 до 243,7 мг в 100 г.

В разрабатываемый препарат включен сухой экстракт расторопши пятнистой (компании ООО «ТК Престиж», изготовитель «Zhejiang Zhonglong Import&Export Trade Co»), в котором содержание силимарина составляет не менее 80 %. По внешнему виду представляет собой мелкодисперсный сыпучий гигроскопический порошок, желто-коричневого цвета, запах характерный, допускаются комочки, легко рассыпающиеся при нажатии.

Гепатопротекторная и антиоксидантная активность силимарина обусловлена его способностью ингибировать свободные радикалы. В поврежденных гепатоцитах силимарин стимулирует синтез структурных и функциональных белков и фосфолипидов, стабилизирует клеточные мембраны, предотвращает потерю клеточных компонентов и внутриклеточных ферментов (трансаминаз), ускоряет регенерацию клеток печени, тормозит проникновение в клетки некоторых гепатотоксических веществ [56, 63, 130, 122, 163].

Следующим действующим веществом в разрабатываемом препарате является дигидрокверцетин. Использовалась субстанция с содержанием дигидрокверцетина не менее 70 % (предприятие-изготовитель АО «Аметис», Россия). Дигидрокверцетин представляет собой флавоноид, получаемый из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica Ledeb.*) и лиственницы даурской (*Larix dahurica Turcz.*). Обладает мощным гепатопротекторным действием, тормозит процессы перекисного окисления липидов клеточных мембран, препятствует повреждающему действию свободных радикалов, предотвращает ранний апоптоз клеток и развитие различных заболеваний. Способствует замедлению процесса старения на уровне клетки, благодаря оптимизации периферического кровообращения и защиты мембран клеток от разрушения [10, 35, 69, 120, 159, 179].

В состав препарата включен сухой экстракт репешка обыкновенного (*Agrimonia eupatoria*), который содержит в себе большое количество флавоноидов, эфирных масел, сапонинов, витаминов, кахетинов, алкалоидов. Использовался сухой экстракт репешка обыкновенного производства ООО «Казанский Завод Экстрактов» (Россия). Производитель предоставил сертификат качества, согласно которому физико-химические показатели определялись органолептическим методом: цвет – желто-коричневый; запах – характерный; внешний вид – тонкодисперсный порошок. Данные об аналитическом качестве, содержании тяжелых металлов и микробиологическим показателям экстракта репешка обыкновенного представлены в таблице 2 Приложения А.

Сухой экстракт володушки золотистой (*Bupleiurum auréum*) – производитель ООО «Казанский Завод Экстрактов» (Россия). Володушка золотистая содержит следующие активные компоненты: сапонины; аскорбиновая кислота; каротин; рутозид; рутинозид; кверцетин; изокверцитрин; изорамнетин; кумарины; дубильные вещества; фенольные соединения; природные полиацетилены; стероиды; фитостерины; алкалоиды. Установлено, что растение обладает выраженным гепатопротекторным действием, улучшает отток желчи, улучшает обмен веществ, повышает секреторную функцию печени, а также снижает проницаемость капилляров. Проявляет адаптогенное, антибактериальное и противовоспалительное действие [32, 67, 81, 118, 104, 117].

Производитель при покупке экстракта предоставил сертификат качества, согласно которому физико-химические показатели определялись органолептическим методом: цвет – коричневый; запах – характерный; внешний вид – тонкодисперсный порошок. Данные об аналитическом качестве, содержании тяжелых металлов и микробиологическим показателям экстракта володушки золотистой представлены в таблице 3 Приложения А.

Таким образом, при разработке препарата фитосомин отобраны компоненты, обладающие гепатопротекторными, метаболическими, антиоксидантными и другими свойствами.

Оптимальное соотношение компонентов в разрабатываемом препарате определялось посредством изучения мембраностабилизирующей активности используемых растительных компонентов – дигидрокверцетина, экстрактов расторопши пятнистой, репешка обыкновенного и володушки золотистой.

Исследования проводились в отделе фармакологии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института. Объекты исследования – фитопрепараты дигидрокверцетина (ДГК) с содержанием активное действующего вещества – 70 %, экстракт расторопши пятнистой с содержанием не менее 80 % силимарина, сухие экстракты репешка обыкновенного и володушки золотистой – 100 %.

Для определения мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов использовали суточные культуры *Paramecium caudatum*, которых культивировали в контейнерах с плотно прилегающей крышкой. Температурный режим поддерживался в диапазоне от 20 до 26 °С. Эксперимент проводился в 2 этапа: на первом этапе определяли индивидуальную мембраностабилизирующую активность силимарина, ДГК, экстракта репешка обыкновенного и володушки золотистой; на втором этапе оценивали соотношение всех активных компонентов препарата [14].

Результаты оценивали по продолжительности двигательной активности инфузорий, их направленного движения и формы клеток. В качестве токсиканта использовалась 3 %-ный 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 первого этапа опыта 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 тангенциально 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 %-го раствора перекиси водорода. Затем фиксировали время остановки парameций 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.

Таблица 2 – Оценка мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов дигидрокверцетина и силимарина на *Paramecium caudatum*

Дигидрокверцетин		Экстракт расторопши пятнистой	
Концентрация, %	Время остановки движения, мин	Концентрация, %	Время остановки движения, мин
0,1	0,83±0,12	4	1,5±0,2
0,01	1,5±0,20	3	1,8±0,2
10×10^{-4}	2,0±0,20	2	2,5±0,15
10×10^{-5}	2,2±0,17	1	3,0±0,1
10×10^{-6}	2,5±0,20	0,1	1,7±0,10
10×10^{-7}	3,5±0,22	0,01	1,5±0,15
10×10^{-8}	2,5±0,15	10×10^{-4}	1,5±0,15
Контрольная проба	1,5±0,08	Контрольная проба	1,5±0,08

Фитопрепарат ДГК оказался самым активным и проявлял наибольшую мембраностабилизирующую активность уже при концентрации 1×10^{-7} , а силимарин при концентрации в 1 % увеличивал длительность двигательной активности инфузорий в 2 раза по сравнению с контролем (табл. 2).

По результатам оценки фитопрепаратов репешка обыкновенного и володушки золотистой показано, что наибольшую мембраностабилизирующую активность экстракт репешка обыкновенного проявляет при концентрации 0,3 %, а экстракт володушки золотистой – при концентрации 1 % (табл. 3). Таким образом, результатами первого этапа проведенных исследований установлено, что все отобранные компоненты обладают выраженной мембраностабилизирующей активностью.

На втором этапе эксперимента определяли соотношение всех активных компонентов, входящих в состав разрабатываемого препарата. Оценивалась мембраностабилизирующая активность комплекса растительных компонен-

тов, который включал в себя фитопрепараты ДГК, экстрактов расторопши пятнистой, репешка обыкновенного и володушки золотистой (методика выполнения опыта повторялась без изменений).

Таблица 3 – Оценка мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов репешка обыкновенного и володушки золотистой на *Paramecium caudatum*

Экстракт репешка обыкновенного		Экстракт володушки золотистой	
Концентрация, %	Время остановки движения, мин	Концентрация, %	Время остановки движения, мин
3	1,5±0,12	4	1,5±0,2
2	1,5±0,20	3	1,8±0,2
1	1,8±0,20	2	2,0±0,15
0,5	2,0±0,17	1	2,5±0,1
0,3	2,5±0,20	0,1	2,0±0,10
0,01	2,0±0,22	0,01	2,0±0,15
0,001(1×10 ⁻³)	1,5±0,15	10 × 10 ⁻⁴	2,0±0,15
Контрольная проба	1,5±0,08	Контрольная проба	1,5±0,08

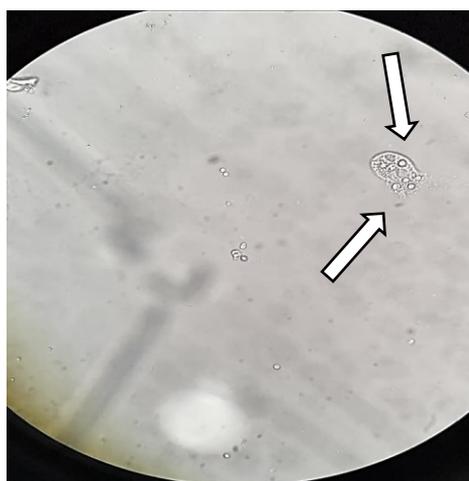
В таблице 4 отображены комбинации фитопрепаратов и их мембраностабилизирующая активность.

Таблица 4 – Соотношение компонентов препарата и их влияние на двигательную активность *Paramecium caudatum*

Соотношение компонентов	Время остановки парамеций, мин
1 (Д-1:Реп.-15:В-15:Раст.-19:Л-50)	2,0±0,07
2 (Д-1:Реп.-9:В-10:Раст.-20:Л-60)	1,9±0,03
3 (Д-1:Реп.-9:В-15:Раст.-30:Л-45)	3,5±0,05
4 (Д-0,2:Реп.-10,8:В-19:Раст.-20:Л-50)	2,5±0,06
5 (Д-0,2:Реп.-10,8:В-19:Раст.-20:Л-50)	1,7±0,01
6 (Д-0,5:Реп.-26:В-23,5:Раст.-20:Л-30)	3,0±0,05
7 (Д-0,2:Реп.-15,8:В-14:Раст.-20:Л-50)	2,2±0,02
8 (Д-0,28:Реп.-20:В-20:Раст.-2:Л-57,72)	3,2±0,03
9 (Д-0,14:Реп.-10:В-10:Раст.-1:Л-78,86)	4,5±0,06
10 (Д-2:Реп.-18:В-10:Раст.-20:Л-50)	1,8±0,04
Контрольная проба	1,5±0,08

В результате проведенных исследований установлено, что время остановки движения инфузорий в контрольной пробе составило 1,5±0,08 минут.

При изучении времени остановки парамеций для каждой модели соотношений компонентов установлено, что в комбинации № 9 сочетание компонентов максимально увеличило время стабилизации подвижности и целостности инфузорий, которые сохраняли активность в течение $4,5 \pm 0,06$ мин, что в 3 раза дольше относительно контрольной пробы [14, 18]. На рисунке 8 показано, что в контрольной пробе наглядно просматривается нарушение целостности мембраны клетки, в то время как в 9 модели целостность инфузории сохранена.



А – Контроль



Б – Комбинация № 9

Рисунок 8 – *Paramecium caudatum* через 1,5 мин после добавления токсиканта

Таким образом, в результате биофармацевтического скрининга на культуре клеток *Paramecium caudatum* экспериментальным путем определили наиболее эффективную комбинацию растительных компонентов, что послужило основой для разработки количественного состава препарата. Соотношение компонентов в 1 г препарата представлено в табл. 5.

Таблица 5 – Соотношение действующих веществ лекарственных растений в разрабатываемом препарате

№ п/п	Компоненты	Содержание в 1 г
1	Субстанция с содержанием дигидрокверцетина не менее 70 %	2,0 мг (1,4 мг ДГК)
2	Сухой экстракт расторопши пятнистой с содержанием силимарина не менее 80 %	12,5 мг (10 мг силимарина)
3	Сухой экстракт репешка обыкновенного	100,0 мг
4	Сухой экстракт володушки золотистой	100,0 мг

3.1.2 Технология изготовления, изучение показателей качества и сроков годности препарата фитосомин

Основная цель использования липосомальных комплексов представляет собой новаторский подход к увеличению биодоступности активных компонентов в разрабатываемых препаратах при пероральном приеме. Изготовление липосомального комплекса требует специфической методики получения липосом.

Для изготовления 100 г препарата, получившего название – фитосомин, брали лецитин в количестве 78,45 г и дигидрокверцетин в количестве 0,2 г, которые растворили в 600 мл 95 % спирта и внесли в круглодонную колбу роторного испарителя. Водный раствор растительных компонентов, полученный растворением 1,25 г экстракт расторопши пятнистой, 10,0 г экстракта репешка обыкновенного и 10,0 г экстракта володушки золотистой в 200 мл воды, внесли при перемешивании в раствор лецитина с дигидрокверцетином. Полученную смесь дважды обработали по 30 сек ультразвуком – 22 кГц и мощностью 500 Вт. Круглодонную колбу с образовавшейся однородной эмульсией присоединили к роторному испарителю и удалили из нее жидкую фазу до мазеобразного состояния. В результате получены мультиламеллярные липосомы, размер которых варьируется в пределах 10–50 мкм, а стенка состоит из десятков или сотен бислоев. Для увеличения сроков хранения препарата использовался консервант – бензоат натрия в концентрации 0,1 %. Препарат расфасовывали по 0,5 и 1 кг в герметично закрытых фольгированных пакетах соответствующей вместимости.

Препарат фитосомин представляет собой концентрированную эмульсию, мазеобразной однородной консистенции, коричневого или темно-коричневого цвета, слабовыраженного вкуса и запаха, свойственные растительному лецитину. Состав и показатели качества фитосомина представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Состав и показатели качества фитосомина

Показатель	Характеристика и значение показателя
Действующие вещества, в 1 г препарата	
Лецитин, мг	784,5
Субстанция с содержанием дигидрохверцетина не менее 70 %	2,0 (1,4 мг ДГК)
Экстракт расторопши пятнистой с содержанием не менее 80 % силимарина, мг	12,5 (10 мг силимарина)
Сухой экстракт репешка обыкновенного, мг	100,0
Сухой экстракт володушки золотистой, мг	100,0
Вспомогательные вещества, в 1 г препарата	
Бензоат натрия, мг	1,0
Аналитические показатели качества:	
Внешний вид	Однородная масса
Цвет	Коричневый или темно-коричневый
Запах	Слабовыраженный, свойственный растительному лецитину
Консистенция	Мазеобразная
Перекисное число, ммоль/кг активного кислорода	≤ 10,0
Кислотное число, мг КОН/г	≤ 30,0
Общее количество бактерий, КОЕ/г	≤ 1000
Дрожжевые и плесневые грибки, КОЕ/г	≤ 100
Кишечная палочка	Отсутствует
Сальмонелла	Отсутствует
Флавоноиды, %	≥ 3,5
Фосфатидилхолин, %	≥ 17,0

Подлинность фосфолипидов, содержащихся в препарате фитосомин, проверяли методом тонкослойной хроматографии. Для этого 0,1 г препарата растворили в 10 мл хлороформа, затем раствор фильтровали через бумажный фильтр. Далее 1 мкл полученного фильтрата нанесли микрошприцем МШ-10 на линию старта ТСХ-пластин фирмы «Сорбфил», размер 10×15 см (алюминиевая основа). В качестве метчика служил 1 % хлороформный раствор соевого фосфатидилхолина (Sigma Aldrich, CAS No.: 97281-47-5), который наносили в количестве 1 мкл на ту же линию старта, на расстоянии 10 мм от «пятна» исследуемого раствора. Для ТСХ использовали систему растворителей: хлороформ – метанол – вода (65:25:4). Камеру заранее насыщали смесью растворителей в течение 1 ч, хроматографирование проводили восходящим методом [73]. Установлено, что линия старта находилась на 10 мм выше линии погру-

жения пластины «Сорбфил» в систему растворителя в камере для ТСХ. Развитие хроматограммы продолжали до подъема фронта растворителя до линии ниже верхнего края пластины на 10 мм. После этого хроматограммы извлекали из ТСХ – камеры и выдерживали в вытяжном шкафу до полного испарения систем растворителя с пластины. Далее хроматограмму опрыскивали 5 % спиртовым раствором фосфорномолибденовой кислоты, после чего нагревали в течение 20 мин при температуре 100 °С в сушильном шкафу до появления темно-синих пятен на бледно-зеленом фоне. На хроматограмме – на уровне вещества метчика с R_F 0,20-0,22 (фосфатидилхолин) обнаружили пятно от исследуемого раствора примерно той же окраски и размером площади, что является подтверждением подлинности содержания фосфолипидов. Денситометрическим анализом установлено, что в препарате фитосомин количественное содержание фосфатидилхолина должно составлять не менее 17 %.

Следующим этапом оценки качества фитосомина являлось количественное определение суммы фенольных соединений (флавоноидов), содержащихся в препарате. Флавоноиды являются основным действующим веществом экстрактов растений, которые входят в состав фитосомина. Методика определения суммы фенольных соединений основывается на реакции комплексообразования флавоноидов с раствором алюминия хлорида. Результатом эксперимента является наличие сдвига длинноволновой полосы флавоноидов, который обнаруживается в УФ-спектре в виде максимума поглощения в области 395 ± 3 нм [21]. Опыт повторяли 5 раз, затем вычисляли среднюю сумму фенольных соединений, на основании чего установлено, что в препарате фитосомин количественное содержание суммы флавоноидов в 100 г должно составлять не менее 3,5 %.

Перекисное число фитосомина определяли по ГОСТ 26593-85 «Масла растительные. Метод измерения перекисного числа», кислотное число – по ГОСТ 31933-2012 «Масла растительные. Методы определения кислотного числа и кислотности», микробиологические показатели согласно ОФС 1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота».

Стабильность и срок хранения препарата фитосомин определяли согласно ОФС.1.1.0009.18 «Сроки годности лекарственных средств» с помощью метода «ускоренного старения». Сущность метода заключается в выдерживании исследуемого образца при повышенных температурах хранения, вследствие чего происходит ускорение химических реакций, которые со временем приводят к нежелательным изменениям, и сокращению временных периодов, в течение которых лекарственное средство теряет свою стабильность. Данный способ позволяет за короткий период установить сроки хранения. Эксперимент проводился в 3 сериях – фитосомин хранился в герметичной таре при температуре 55 °С в течение 120 суток. Срок хранения ограничивался стабильным состоянием препарата, в дальнейшем наблюдалось увеличение показателей перекисного и кислотного чисел, что вызывает так называемую «порчу» лецитиновой составляющей фитосомина. Препарат приобрел запах прогорклого масла. Результаты исследования представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Изучение срока годности препарата фитосомин

Показатели	Время опыта, дни				
	30	60	90	120	150
Внешний вид	+	+	+	+	+
Перекисное число, ммоль/кг активного кислорода	6,8	7,5	8,3	9,6	10,7
Кислотное число, мг КОН/г	15	19	24	27	38
Флавоноиды, %	≥ 3,5	≥ 3,5	≥ 3,5	≥ 3,5	≥ 3,5
Фосфатидилхолин, %	≥ 17,0	≥ 17,0	≥ 17,0	≥ 17,0	≥ 17,0
Микробиологическая чистота, КОЕ/г	≤ 1000	≤ 1000	≤ 1000	≤ 1000	≤ 1000

При расчете срока годности препарата использовали формулу Вант-Гоффа. На основе математического анализа установлено, что коэффициент соответствия равен 15,6, поэтому срок годности фитосомина составляет 780 суток (≈ 2 года).

3.2 Токсикологическая оценка фитосомина

3.2.1 Острая токсичность

Изучение параметров острой токсичности препарата фитосомин проводили в условиях вивария Краснодарского НИВИ на двух видах животных – лабораторных крысах и цыплятах-бройлерах. Токсикологические исследования проведены в соответствии с Методическими рекомендациями по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии» (1998), и согласно Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005).

В первой серии опытов отобрали 20 нелинейных крыс со средней массой тела $292,7 \pm 2,5$ г, из которых сформировали 2 группы (n=10): опытную и контрольную. Во второй серии опытов из 20 цыплят-бройлеров кросса РОСС-308 в возрасте 21 суток сформировали 2 группы (n=10): опытную и контрольную. Вес птицы на начало исследований составлял $928,6 \pm 2,2$ г.

Формирование групп проходило по принципу парных аналогов, при этом учитывались критерии: возраст и пол; различия в средней массе тела не превышали 10 %. Все участвующие в исследованиях лабораторные животные и птица являлись клинически здоровыми и проходили 14-дневный карантин.

Для возможности принудительного введения *per os* препарата лабораторным крысам навеску фитосомина 3,0 г (эквивалентно 10300 мг/кг массы тела) разводили дистиллированной водой до объема 5,0 мл (максимально допустимый объем для внутрижелудочного введения лабораторным крысам). Для цыплят-бройлеров методика была аналогичной – навеску фитосомина 9,0 г (эквивалентно 14400 мг/кг массы тела) разводили дистиллированной водой до объема 15,0 мл. После чего образец препарата крысам и цыплятам вводился принудительно с помощью зонда и шприца однократно натошак (после 12-ти часовой голодной диеты): крысам – в желудок в объеме 5 мл; цыплятам

– в зоб в объеме 15,0 мл. Процесс введения образца лабораторным крысам при определении острой токсичности фитосомина показан на рисунке 9.



Рисунок 9 – Введение образца фитосомина лабораторной крысе
в остром опыте

Так как в препарате фитосомин компонентом, имеющим наибольшую массовую долю, является растительный лецитин, то в контрольных группах вводили растительное масло (рафинированное и дезодорированное) в тех же дозировках и объеме, что и препарат. Схема опыта представлена в таблице 8. На протяжении 14 суток за крысами и птицей велось ежедневное наблюдение с регистрацией времени наступления возможных симптомов токсикоза и гибели. Фиксировались параметры клинического состояния: в день затравки наблюдение велось через каждый час; далее – в течение 3 дней данные регистрировали три раза в сутки; в оставшиеся дни – один раз в сутки. В динамике проводилось взвешивание крыс и цыплят-бройлеров, а также велся учет основных физиологических показателей – температуры и дыхания.

Установлено, что в течение 30 минут после введения как препарата, так и растительного масла отмечалось незначительное угнетение крыс и цыплят,

что связано с проведением манипуляций и принудительным введением значительного объема веществ.

Таблица 8 – Схема опыта по определению острой токсичности фитосомина

Группа	Метод введения	Доза и объем введения
Лабораторные крысы (средняя масса тела 292,7±2,5 г)		
1 опытная	Внутрижелудочно – с помощью зонда и шприца	3 г фитосомина (10 300 мг/кг массы тела) в объеме 5,0 мл на животное
2 контрольная		3 г растительного масла в объеме 5,0 мл на животное
Цыплята-бройлеры (средняя масса тела 928,6±2,2 г)		
1 опытная	В зоб – с помощью зонда и шприца	9 г фитосомина (14 400 мг/кг массы тела) в объеме 15,0 мл на птицу
2 контрольная		9 г растительного масла в объеме 15,0 мл на птицу

Нормализация состояния происходила спустя 40–50 минут после введения образцов, во всех группах отмечали восстановление подвижности и аппетита, отсутствие нарушений сердечного и дыхательного ритма, координации движений и сохранности рефлексов. В первые сутки после введения образцов у крыс и птицы регистрировалось учащение актов дефекации, что является ответной реакцией организма на большие объемы введенных масложировых компонентов, оказывающих в больших дозах слабительный эффект на желудочно-кишечный тракт животных.

Сохранность в двух сериях острых токсикологических опытов за весь период наблюдения составила 100 %, падежа не регистрировали. В период исследований по всем изучаемым показателям крысы и цыплята в опытных группах не имели отличий от контрольных за весь период наблюдений – признаков, характерных для токсикоза, не выявлено.

В динамике проводилась регистрация физиологических показателей крыс и цыплят-бройлеров – температуры тела и количества дыхательных движений. Число дыхательных движений подсчитывалось визуально (за 20 секунд с перерасчетом на минуту), температура измеряли при помощи

электрического термометра. Средние показатели по опытным группам отображены в таблице 9.

Таблица 9 – Физиологические показатели крыс и цыплят-бройлеров при определении острой токсичности препарата фитосомин ($M \pm m$; $n=10$)

Период опыта	Показатель			
	Температура, °С		ЧДД, в минуту	
	Крысы	Цыплята-бройлеры	Крысы	Цыплята-бройлеры
До начала опыта	37,8±0,18	41,5±0,18	93,2±5,3	23,2±4,3
Через 12 часов после введения	38,3±0,31	41,7±0,31	90,6±6,8	25,6±2,5
2 сутки	37,7±0,23	40,9±0,23	96,8±3,4	22,8±3,4
3 сутки	37,9±0,32	40,7±0,32	86,7±4,8	24,7±2,8
7 сутки	37,8±0,12	40,6±0,12	84,1±5,7	22,1±3,7
10 сутки	37,6±0,16	41,3±0,16	87,5±6,3	19,5±2,0
14 сутки	37,7±0,22	41,4±0,22	95,4±6,1	21,4±3,1
Референсные значения	37,5–39,5	40,6–41,7	70–120	10–30

Установлено, что результаты измерения физиологических показателей крыс и цыплят-бройлеров соответствуют параметрам нормы для животных и птицы этого вида и возраста, разница в показателях не существенна.

Взвешивание показало, что на протяжении всего эксперимента наблюдалась положительная динамика массы тела животных и птицы в опытных группах. На 7 сутки опыта средняя масса тела по опытным группам уже превышала контрольную группу: у крыс на 2,2 %, а у цыплят-бройлеров – на 3,4 %. В конце опыта отмечено достоверное увеличение массы тела в опытной группе среди крыс и цыплят. Так, на 14 сутки масса тела крыс в опытной группе превышала контрольный показатель на 4,1 % ($p \leq 0,05$), а масса тела цыплят-бройлеров превышала показатели контрольной группы на 5,9 % ($p \leq 0,05$). Динамика массы тела отображена в таблице (табл. 10).

Таблица 10 – Динамика массы тела крыс и цыплят-бройлеров при определении острой токсичности препарата фитосомин ($M \pm m$; $n=10$)

Период	Показатель			
	Крысы		Цыплята-бройлеры	
	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа
Фон	292,7±0,9	292,5±1,0	927,5±7,4	929,7±8,9
7 сутки	307,1±0,6	300,6±0,8	1611,8±21,7	1559,3±23,1
14 сутки	323,2±0,5*	310,4±0,9	2357,4±33,9*	2226,7±37,6

Примечание: различия достоверны ($*p \leq 0,05$) в сравнении с контрольными группами

Таким образом, в результате проведенных исследований средняя летальная (LD_{50}) и абсолютная летальная (LD_{100}) дозы для препарата фитосомин установлены не были, так как его однократное введение в желудок лабораторным крысам в дозе 10300 мг/кг массы тела и в зоб цыплятам – 14400 мг/кг массы тела – не вызывало клинической картины токсикоза и гибели. Увеличение дозировок было невозможным из-за большой доли масляных и сухих веществ в препарате, что не позволяет получить нужную консистенцию образца для прохождения через пищеводный зонд. Повышение же дозировки способом дробного введения нецелесообразно, так как стандартом классификации по степени воздействия веществ на организм животных при проведении токсикологических исследований объем свыше 5000 мг/кг массы тела относят к 4-му классу опасности – малоопасные вещества. Из чего следует, что фитосомин классифицируется как малотоксичный и по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные) [17].

3.2.2 Хроническая токсичность

3.2.2.1 Изучение хронической токсичности фитосомина на лабораторных крысах

Задачей хронических токсикологических исследований является определение негативных эффектов, которые может вызвать то или иное лекарственное вещество в организме при его длительном применении, выявление наиболее уязвимых органов и органокомплексов.

В первой серии экспериментов изучали хроническую токсичность препарата фитосомин на лабораторных животных. В опыте участвовало 40 нелинейных крыс, разделенных по принципу пар-аналогов на 4 группы по 10 особей в каждой. Возраст крыс на начало опыта составлял около 1,5 месяцев, средний вес – $146,7 \pm 6,1$ г. Перед опытом животные находились на карантине две недели. Изучались следующие дозы фитосомина: в 1, 2 и 3 опытных группах животные получали препарат в 1/10, 1/20 и 1/50 частях от максимально введенной дозы в опыте по определению острой токсичности (10300 мг/кг массы тела), что равнялось 150 мг, 75 и 30 мг на крысу соответственно; 4 группа была контрольной. Фитосомин задавали крысам перорально натошак в виде свежеприготовленных болюсов ежедневно в течение двух месяцев. В качестве формообразующего вещества в болюсах использовали овсяную муку. Контрольная группа получала болюсы с растительным маслом.

При осмотре животных на протяжении всего опыта учитывались следующие параметры: аппетит; активность; поведенческие реакции; состояние слизистых оболочек, шерстного и кожного покровов; возможные клинические признаки интоксикации. Взвешивание лабораторных животных проводили в начале опыта, затем на 30 и 60 сутки. В середине и в конце опыта у 5 крыс из каждой группы отбирались образцы крови для биохимического и клинического анализа, также была проведена эвтаназия с последующим патологоанатомическим вскрытием и гистологическими исследованиями.

В результате проведенных исследований установлено, что сохранность крыс за весь период наблюдения составила 100 %. При ежедневном клиническом осмотре животных ухудшения состояния и признаков интоксикации в течение опыта во всех группах не зарегистрировано. Аппетит сохранен, шерсть гладкая и блестящая, видимые слизистые оболочки розовые, лимфатические узлы не увеличены, дыхание ровное без патологических шумов. В результате повышенного потребления растительного лецитина в 1 опытной группе при дозировке 150 мг препарата на животное зафиксировано незначительное учащение актов дефекации.

Во всех группах зарегистрирована положительная динамика массы тела животных (табл. 11). Наибольший прирост отмечен в 1 группе, составивший 66,8 % по отношению к исходной массе тела животных. У контрольных крыс динамика ростового показателя оказалась минимальной по сравнению с опытными группами, их прирост составил 42,5 % от фоновых значений.

Таблица 11 – Влияние фитосомина на массу тела крыс в хроническом опыте, г ($M \pm m$; $n=10$)

Группа	Период исследования			Прирост, %
	фоновый	30 сутки	60 сутки	
1 опытная	147,1±2,8	198,5±3,1	245,3±1,5**	66,8
2 опытная	145,4±1,9	185,6±1,8*	239,6±2,6	64,8
3 опытная	149,9±2,7	183,9±2,4	225,8±3,2	50,6
4 контрольная	144,4±1,8	178,2±2,5	205,7±2,3	42,5

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Результаты биохимических исследований крови показали, что все определяемые показатели соответствовали параметрам нормы для животных этого вида и возраста (табл. 12). При этом отмечается увеличение показателей общего белка в сыворотке крови во всех опытных группах в сравнении с контролем как в середине опыта, так и в конце. Наибольшая достоверная разница отмечена во 2 группе, в середине опыта – 13,4 % ($p \leq 0,05$), а в конце – 15 % ($p \leq 0,01$). В 1 группе отмечалась минимальная разница показателей с контрольной груп-

пой, которая в середине опыта составила 4,1 %, а в конце – 8,3 %. В 3 группе в середине опыта разница с контролем составила 6,2 %, а в конце – 11,6 %.

Таблица 12 – Влияние фитосомина на биохимические показатели крови крыс в хроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
	30 сутки			
Общий белок, г/л	69,1±1,25	75,3±0,94*	70,5±1,45	66,4±1,01
Мочевина, ммоль/л	5,1±0,26	5,5±0,37	5,3±0,22	4,9±0,31
Холестерин, ммоль/л	2,5±0,07	1,9±0,13	2,2±0,09	2,1±0,11
АсАт, Ед/л	77,1±1,81	73,7±2,45	75,2±1,52	79,6±3,62
АлАт, Ед/л	60,1±2,55	55,4±1,97	53,7±1,52**	67,3±1,98
ЩФ, Ед/л	613,9±14,32	634,5±17,25	625,8±16,28	637,1±14,93
Глюкоза, ммоль/л	7,9±0,24	7,6±0,32	7,3±0,42	7,5±0,37
Кальций, ммоль/л	2,6±0,14	2,3±0,18	2,4±0,21	2,5±0,17
Фосфор, ммоль/л	2,0±0,05	2,4±0,04	1,9±0,06	2,3±0,09
Триглицериды, ммоль/л	0,85±0,09**	0,83±0,13	0,79±0,15	0,74±0,11
	60 сутки			
Общий белок, г/л	73,0±2,57	77,5±1,38**	75,2±1,96	67,4±1,34
Мочевина, ммоль/л	5,3±0,15	5,7 ±0,24	5,5±0,19	5,0±0,22
Холестерин, ммоль/л	2,6±0,09	2,1±0,08	2,4±0,11	1,9±0,06
АсАт, Ед/л	74,5±2,73	70,8±3,01	72,8±1,95	77,3±3,03
АлАт, Ед/л	59,4±2,48	51,7±1,43*	52,3±2,04	65,1±2,37
ЩФ, Ед/л	635,5±10,23	656,7±11,21	644,6±10,36	659,2±12,07
Глюкоза, ммоль/л	7,7±0,17	7,9±0,31	7,5±0,29	7,3±0,18
Кальций, ммоль/л	2,2±0,16	2,5±0,21	2,7±0,19	2,3±0,12
Фосфор, ммоль/л	2,4±0,06	2,2±0,02	2,5±0,04	2,6±0,05
Триглицериды, ммоль/л	0,94±0,13	0,91 ±0,17	0,86±0,08	0,79±0,14

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Применение фитосомина оказало влияние на аланинаминотрансферазу, показатели которой в опытных группах снизились в сравнении с контролем: на 30 сутки в 1 группе на 10,7 %, во 2 группе – на 17,7 % ($p \leq 0,01$), в 3 группе – на 20,2 %; на 60 сутки на 8,8 %, 20,6 % ($p \leq 0,05$) и 19,7 % соответственно по группам. Аналогичная динамика наблюдалась и в активности АсАт, на 30 сутки показатели в опытных группах были ниже контроля: в 1 опытной

группе – на 3,1 %; во 2 опытной – на 7,4 %; в 3 опытной группе – на 5,5 %. В конце опыта продолжалось снижение активности АсАт, поскольку в 1 опытной группе показатели стали ниже контроля – на 3,6 %, во 2 группе – на 8,4 %, в 3 группе – на 5,8 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что разрабатываемый препарат восстанавливает функциональную активность и улучшает ферментообразующую функцию печени. Однако, в связи с максимальной дозировкой в 1 опытной группе, а, следовательно, и большим количеством потребляемого лецитина, нагрузка на печень увеличилась.

Фитосомин стимулировал липидный обмен, на что указывает повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови. Однако, за счет большого потребления растительных жиров в 1 опытной группе показатели триглицеридов были максимальные и превышали контроль в середине опыта – на 14,9 % ($p \leq 0,01$), а в конце – на 19 %. Во 2 опытной группе показатели превышали контроль в середине опыта – на 12,2 %, а в конце – на 15,2 %, а в 3 опытной группе в середине опыта – на 6,8 %, а в конце – на 8,9 %.

Результаты клинического анализа крови показали, что все показатели крыс соответствовали физиологической норме для данного вида животных (табл. 13). При этом эритроциты в опытных группах увеличились относительно показателей контрольной группы. Так, в середине опыта отмечалось достоверное увеличение показателей 1 опытной группы в отношении контроля – на 4,2 % ($p \leq 0,05$), во 2 опытной группе – на 3,1 %, в 3 опытной группе – на 2,1 %, в конце опыта показатели 1 группы были больше контроля на 5,1 %, 2 группы – на 3,1 %, 3 группы – на 1,0 %. Также у животных, получавших препарат, повышалась концентрация гемоглобина в крови при разнице с контрольными аналогами: к 30 суткам исследований в 1 группе – на 3,7 %, во 2 группе – на 2,6 % и в 3 группе – на 1,8 %; к 60 суткам исследований в 1 группе – на 4,8 % ($p \leq 0,05$), во 2 группе – на 3,2 % и в 3 группе – на 3,9 %.

Таким образом, по результатам проведенного опыта определили, что препарат фитосомин при длительном многократном применении в токсических дозах не оказывает отрицательного действия на организм лабораторных

крыс. Было выявлено положительное влияние препарата на эритропоэз, ферментообразующую функцию печени, белковый и липидный обмена.

Таблица 13 – Влияние фитосомина на показатели общего анализа крови крыс в хроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$).

Показатели	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
	30 сутки			
Лейкоформула, %:				
эозинофилы	3,2±0,19	3,3±0,22	3,5±0,31	3,1±0,26
моноциты	3,0±0,27	3,1±0,12	2,9±0,18	3,0±0,23
лимфоциты	66,1±2,81	66,7±3,15	67,7±2,43	67,1±2,62
палочкоядерные	0,5±0,25	0,9±0,25	0,8±0,17	0,6±0,23
сегментоядерные	27,2±1,13	26,0±1,35	25,1±0,96	26,2±1,07
Лейкоциты, 10^9 /л	14,1±1,31	13,4±1,16	12,9±1,28	14,7±0,41
Эритроциты, 10^{12} /л	10,0±0,05*	9,9±0,09	9,8±0,11	9,6±0,08
Гемоглобин, г/л	153,1±4,93	151,5±5,69	150,3±7,16	147,6±6,43
Тромбоциты, 10^9 /л	433,6±11,2	417,0±10,9	426,3±9,7	431,1±12,1
	60 сутки			
Лейкоформула, %:				
эозинофилы	3,4±0,16	3,1±0,15	3,4±0,13	3,2±0,11
моноциты	2,9±0,06	3,2±0,04	3,0±0,08	3,3±0,05
лимфоциты	66,3±0,77	67,2±1,05	66,9±1,55	66,7±0,72
палочкоядерные	0,6±0,26	0,8±0,67	0,7±0,36	0,9±0,47
сегментоядерные	26,8±0,04	25,7±0,03	26,0±0,05	25,9±0,02
Лейкоциты, 10^9 /л	13,6±1,13	12,9±1,46	10,3±0,98	13,5±1,06
Эритроциты, 10^{12} /л	10,3±0,18	10,1±0,07	9,9±0,03	9,8±0,07
Гемоглобин, г/л	156,3±3,57*	153,9±4,95	154,7±5,18	149,2±6,57
Тромбоциты, 10^9 /л	446,2±9,7	414,0±8,2	420,0±5,7	441,4±9,3

Примечание: различия достоверны ($*p \leq 0,05$) в сравнении с контролем

На 60 сутки опыта из каждой группы отобрали по 5 животных, которые в дальнейшем подверглись эвтаназии с последующим патологоанатомическим вскрытием и гистологическим исследованием. В ходе данного исследования проводилось осмотр, взвешивание и определение массы внутренних органов. При патологоанатомическом вскрытии установили, что внутренние органы крыс всех групп соответствуют норме и не имеют патологических изменений, признаки интоксикации отсутствуют (рис. 10). Положение внут-

ренных органов анатомически правильное, изменения в грудной и брюшной полости, а также патологический выпот и экссудат отсутствуют. Подчелюстные лимфатические узлы умеренно плотной консистенции, подвижные, не увеличены в размере. Целостность глаз не нарушена. Сердце не увеличено, кровоизлияния и повреждения отсутствуют, сосуды умеренно кровенаполнены. Легкие имели светло-розовый цвет, структура органа сохранена, целостность не нарушена.



Рисунок 10 – Топографически правильное расположение внутренних органов крысы из 1 опытной группы

В желудочно-кишечном тракте патологических изменений не обнаружено. Пищевод без повреждений, слизистая оболочка розовая, складчатость сохранена, кровоизлияния отсутствуют. Слизистая оболочка желудка без повреждений, кровоизлияния не обнаружены. Тонкий и толстый отделы кишечника также без кровоизлияний, патологические изменения отсутствуют, слизистые оболочки на разрезе розового цвета. В прямой кишке обнаруживались оформленные каловые массы овальной формы. При осмотре печени структура органа не нарушена, цвет коричневато-красный, поверхность органа гладкая и блестящая, консистенция нежная, при разрезе кровоизлияния и очаги некроза не обнаружены, сосуды не расширены. При осмотре селезенки установлено, что орган не увеличен в размере, цвет темно-бардовый, очагов некроза и кровоизлияний не обнаружено, при разрезе консистенция умеренно-плотная. В мочевыделительной системе патологических изменений не выявлено. Почки гладкие, капсула плотная, без повреждений. При разрезе кро-

воизлияний и очагов некроза не установлено, структура сохранена, почечные лоханки не расширены, разграничение коркового и мозгового слоя хорошо выражено. Мочевой пузырь также без патологических изменений, умеренно наполнен или опорожнен, моча прозрачная, светло-желтого цвета, слизистая при разрезе целостная, гладкая, без кровоизлияний [15].

Определение массы внутренних органов проводилось после патолого-анатомического вскрытия путем взвешивания каждого органа по отдельности (табл. 14).

Таблица 14 – Относительная масса внутренних органов крыс при определении хронической токсичности фитосомина, г ($M \pm m$; $n=5$).

Органы	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контрольная
	На 60 сутки			
Желудок	0,76±0,04	0,74±0,02	0,75±0,05	0,77±0,03
Почки	0,84±0,03	0,83±0,05	0,85±0,04	0,81±0,01
Селезенка	0,23±0,02	0,20±0,01	0,24±0,03	0,22±0,02
Сердце	0,35±0,01	0,36±0,03	0,32±0,02	0,33±0,01
Печень	3,42±0,04	3,38±0,02	3,46±0,05	3,39±0,03
Легкие с трахеей	0,80±0,02	0,84±0,05	0,81±0,03	0,82±0,04

Установлено, что разница в относительной массе внутренних органов между группами незначительная и соответствует физиологической норме.

При гистологическом исследовании внутренних органов патологий не выявлено. В ткани легких патологические изменения отсутствуют, целостность альвеолоцитов сохранена, экссудативных и пролиферативных процессов не обнаружено. При исследовании ткани печени установлено, что структура органа не нарушена, целостность гепатоцитов сохранена, цитоплазма без патологических включений, желчные протоки не расширены. В ткани желудка и кишечника целостность ворсинок и складок сохранена, наблюдается четкая дифференциация слоев слизистой оболочки, пролиферативных изменений не обнаружено. В ткани селезенки зоны красной и белой пульпы хорошо дифференцируются, застойные и пролиферативные явления отсутствуют. В ткани почек целостность нефронов не нарушена, патологические изменения отсутствуют.

3.2.2.2 Изучение хронической токсичности фитосомина на цыплятах-бройлерах

Для второй серии хронических токсикологических исследований было отобрано 40 цыплят-бройлеров кросса РОСС-308 суточного возраста, которых разделили по принципу пар аналогов на 4 группы (три опытных и одна контрольная) по 10 голов в каждой. Вес птицы на начало опыта составлял $58,4 \pm 2,13$ г. Птице из трех опытных групп весь период выращивания, начиная с первого дня жизни и до 42 суток, с кормом задавали препарат фитосомин. Четвертая группа являлась контролем и получала обычный рацион. Для каждой опытной группы при токсикометрии рассчитывалась дозировка препарата, составлявшая 1/10, 1/20 и 1/50 часть от максимально введенной дозы в опыте по определению острой токсичности (14400 мг/кг массы тела), что на начало опыта равнялось 84 мг, 42 и 16 мг на цыпленка соответственно. Каждые 7 суток после взвешивания птицы делали перерасчет дозы препарата в соответствии с динамикой массы тела.

Ежедневно проводился осмотр птицы, особое внимание уделялось аппетиту, двигательной активности, состоянию слизистых оболочек, поведенческим реакциям, также отслеживалось возможное клиническое проявление интоксикации. Взвешивание птицы проводили в начале опыта, а затем каждую неделю. Токсикометрия разработанного препарата оценивалась также по биохимическому и общему анализу крови, который проводили в середине (21 сутки) и в конце опыта (42 сутки), для этой цели из каждой группы было отобрано по 5 цыплят, у которых также в конце опыта проводилось патологоанатомическое вскрытие и гистологические исследования органов.

По результатам токсикологического опыта установлено, что клиническое состояние птицы на протяжении всего опыта оставалось стабильным, признаки интоксикации выявлены не были. Аппетит и двигательная активность сохранены, видимые слизистые оболочки розовые, дыхательные функ-

ции не нарушены, патологические шумы отсутствовали, перьевого покрова густой, помет имел характерную жидкую консистенцию без примеси крови.

Таблица 15 – Динамика массы тела цыплят-бройлеров при изучении хронической токсичности фитосомина, г ($M \pm m$; $n=10$)

Период, сутки	Группа			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контрольная
Фоновый	58,4±2,4	58,6±1,8	58,1±2,3	58,5±1,9
7	193,3±2,5*	185,7±2,9	177,4±3,1	170,2±3,3
14	482,1±4,6	469,4±4,2	466,8±3,4	459,3±5,9
21	926,5±8,9	892,9±7,5	885,3±10,3	866,4±11,8
28	1605,3±15,2	1592,6±17,5	1571,9±17,1	1537,5±18,4
35	2378,7±23,8	2351,5±16,7	2327,8±22,7	2258±21,6
42	2983,1±23,1**	2917,8±36,4	2871,6±27,2	2704,3±34,8

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Зарегистрирована положительная динамика массы тела во всех опытных группах (табл. 15). Так, уже в середине опыта в 1 опытной группе разница с контролем составила 6,9 %, во 2 группе – 3,1 %, в 3 группе – 2,2 %. К концу опыта наибольший прирост массы тела отмечен в 1 группе, где достоверная разница с контролем составила 10,3 %, во 2 группе – 7,9 % и в 3 группе – 6,2 %.

Клинический анализ крови показал (табл. 16), что все показатели находятся в пределах референсных значений и соответствуют физиологической норме. В крови цыплят опытных групп увеличилось содержание эритроцитов к середине опыта: в 1 группе – на 8,3 %; во 2 группе – на 4,2 %; в 3 группе – на 12,5 % ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой. В конце опыта показатели в 1 группе превышали контроль на 17,4 %, во 2 группе – на 21,7 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – на 26,1 %. Уровень гемоглобина в опытных группах увеличился при разнице с контрольной группой: к середине опыта в 1 группе на 1,3 %, во 2 группе – на 2,6 %, в 3 группе – на 4,9 %; к концу опыта в 1 группе – на 2,8 %, во 2 группе – на 4,2 %, а в 3 группе – на 5,4 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 16 – Влияние фитосомина на показатели общего анализа крови цыплят-бройлеров в хроническом опыте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
	21 сутки			
Лейкоформула, %:				
эозинофилы	9,84±0,23	9,72±0,17	9,66±0,13	9,79±0,21
моноциты	6,05±0,16	5,94±0,08	6,01±0,11	6,00±0,09
лимфоциты	56,44±0,54	56,85±0,42	55,92±0,68	56,14±0,85
базофилы	4,74±0,27	4,28±0,19	4,46±0,24	4,52±0,13
гетерофилы	22,93±0,38	23,21±0,45	23,95±0,37	23,55±0,41
Лейкоциты, $10^9/л$	23,7±0,43	24,5±0,34	23,8±0,42	24,2±0,55
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,6±0,14	2,5±0,13	2,7±0,11**	2,4±0,15
Гемоглобин, г/л	128,9±2,67	130,6±1,92	133,6±2,13	127,3±2,05
Гематокрит, %	41,4±1,26	39,9±1,41	42,7±1,08	40,4±1,33
	42 сутки			
Лейкоформула, %:				
эозинофилы	9,59±0,11	9,72±0,17	9,22±0,14	9,63±0,19
моноциты	5,82±0,09	6,13±0,06	5,91±0,11	6,05±0,14
лимфоциты	57,04±0,36	56,51±0,51	56,06±0,47	57,33±0,35
базофилы	4,13±0,17	3,93±0,12	4,65±0,21	4,34±0,15
гетерофилы	23,42±0,45	23,71±0,31	24,16±0,39	22,65±0,46
Лейкоциты, $10^9/л$	23,4±0,37	24,0±0,32	23,4±0,48	23,8±0,52
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,7±0,15	2,8±0,11*	2,9±0,19	2,3±0,17
Гемоглобин, г/л	130,5±2,35	132,2±2,42	135,7±1,06*	126,9±2,24
Гематокрит, %	40,8±1,02	41,6±1,23	40,8±1,18	41,2±0,83

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

По результатам биохимического анализа крови установлено, что все определяемые показатели соответствуют параметрам нормы для цыплят-бройлеров (табл. 17). Применение фитосомина способствовало улучшению протеинсинтетической функции печени, что характеризовалось достоверным увеличением общего белка: в 1 группе отмечалось наибольшее увеличение показателей в сравнении с контролем, в середине опыта разница составила 14,7 % ($p \leq 0,05$), в конце – 18,6 % ($p \leq 0,05$); во 2 группе разница с контролем в середине опыта составила 10,2 % и в конце – 14,8 %; в 3 группе – 8,8 % в середине опыта и 14,2 % в конце опыта.

Таблица 17 – Влияние фитосомина на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров в хроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
	21 сутки			
Общий белок, г/л	42,8±0,52*	41,1±0,87	40,6±0,73	37,3±1,02
Мочевина, ммоль/л	4,6±0,23	4,5±0,37	4,7±0,19	4,3±0,36
Холестерин, ммоль/л	5,2±0,13	5,3±0,11	5,2±0,09	5,1±0,12
АсАт, Ед/л	270,9±4,76	275,7±3,46	269,6±5,13	273,4±3,62
АлАт, Ед/л	24,4±0,25**	25,5±0,28**	28,7±0,32*	37,1±0,34
Глюкоза, ммоль/л	19,0±0,16	18,5±0,29	18,3±0,33	17,9±0,4
Кальций, ммоль/л	2,7±0,14	2,9±0,17	3,0±0,11	2,7±0,16
Фосфор, ммоль/л	1,51±0,07	1,44±0,03	1,45±0,06	1,46±0,09
Триглицериды, ммоль/л	1,02±0,18*	0,97±0,15	0,96±0,09	0,91±0,16
	42 сутки			
Общий белок, г/л	43,4±0,27**	42,0±0,35*	41,8±0,87	36,6±0,63
Мочевина, ммоль/л	4,8±0,21	4,7±0,15	4,9±0,24	4,5±0,17
Холестерин, ммоль/л	5,3±0,09	5,4±0,05*	5,1±0,07	4,9±0,11
АсАт, Ед/л	267,2±4,13	271,6±2,76	273,2±3,95	268,9±3,31
АлАт, Ед/л	22,5±0,18**	21,1±0,23*	25,2±0,15**	39,5±0,37
Глюкоза, ммоль/л	20,1±0,12	19,5±0,19	18,6±0,29	18,1±0,2
Кальций, ммоль/л	2,7±0,08	3,0±0,11	2,8±0,06	2,9±0,05
Фосфор, ммоль/л	1,53±0,03	1,46±0,05	1,49±0,07	1,52±0,04
Триглицериды, ммоль/л	1,18±0,09**	1,07±0,17*	1,08±0,18*	0,92±0,08

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Зарегистрировано снижение содержания аланинаминотрансферазы в опытных группах по сравнению с контролем: на 21 сутки в 1 группе – на 34,2 % ($p \leq 0,01$), во 2 группе – на 31,3 % ($p \leq 0,01$) и в 3 группе – на 22,6 % ($p \leq 0,05$): в конце опыта в 1 группе – на 43,0 % ($p \leq 0,01$), во 2 группе – на 46,6 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – на 36,2 % ($p \leq 0,01$).

Отмечено повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови. На 42 сутки разница с контролем составила: в 1 группе – 28,3 % ($p \leq 0,01$); во 2 группе – 16,3 % ($p \leq 0,05$); в 3 группе – 17,4 % ($p \leq 0,05$).

Установлено незначительное повышение холестерина у опытной птицы в сравнении с контролем: в середине опыта в 1 группе – на 2 %, во 2 группе –

на 3,9 %, в 3 группе – на 2 %; к концу опыта в 1 группе – на 8,2 %, во 2 группе – на 10,2 % ($p \leq 0,05$) и в 3 группе – на 4,1 %.

В конце опыта была проведена эвтаназия птицы с последующим патологоанатомическим вскрытием. При осмотре грудной и брюшной полости изменений не выявлено, органы располагаются анатомически правильно, патологический выпот и экссудат отсутствует. При осмотре головы установлено, что целостность глаз не нарушена, слизистые оболочки бледно розового цвета, без повреждений. Сердце не увеличено в размере, кровоизлияния отсутствуют. Легкие не повреждены, не спавшиеся, воздухоносные мешки без кровоизлияний, повреждения не обнаружены. Желудочно-кишечный тракт без патологических изменений. Пищевод не поврежден, складчатость сохранена, кровоизлияния не обнаружены. Желудок без повреждений. Слизистая оболочка тонкого и толстого кишечника розового цвета, без повреждений, целостность не нарушена, кровоизлияния отсутствуют. Печень темно-коричневого цвета, структура органа сохранена, поверхность гладкая, капсула целостная. При разрезе очагов некроза и кровоизлияний не обнаружено, сосуды не расширены. Желчный пузырь не переполнен. При осмотре селезенки капсула гладкая, целостность не нарушена, орган не увеличен в размере, темно-коричневого цвета, консистенция умеренно-плотная при разрезе, очагов некроза не обнаружено. В мочевыделительной системе патологических изменений не обнаружено. Почки не увеличены, капсула гладкая, плотная. При разрезе очагов некроза и кровоизлияний не обнаружено, структура органа сохранена. В целом, по результатам вскрытия цыплят-бройлеров установили, что все внутренние органы соответствуют норме и не имеют патологических изменений, признаки интоксикации отсутствуют.

При гистологическом исследовании легких патологических изменений выявлено не было, застойных явлений не установлено, просветы бронхиол и бронхов без содержимого, полости воздушные, участков некроза, эмфиземы и лимфоидной пролиферации не установлено. В ткани печени целостность гепатоцитов не нарушена, структура органа сохранена. При гистологическом

исследовании ткани селезенки хорошо выражены красная и белая пульпа, застойные явления отсутствуют. При исследовании ткани желудка и кишечника установлено, что целостность ворсинок и складок не нарушена, пролиферативные изменения отсутствуют, слои слизистой оболочки дифференцируются хорошо, признаки гипер- и гипоплазии отсутствуют. В ткани почек застойные явления отсутствуют, нефроны целостные, патологические изменения отсутствуют.

Таким образом, препарат фитосомин при длительном применении в токсических дозах не оказывает отрицательного действия на организм птицы. При этом фитосомин оказывает положительное влияние на ряд показателей крови, стимулируя эритропоэз, белковый и липидный обмены, улучшает ферментообразующую функцию печени, проявляет ростостимулирующее действие. При макро- и микроскопическом исследовании внутренних органов птицы изменений анатомического строения и топографии, свидетельствующих о токсическом влиянии изучаемого препарата, не обнаружено.

3.2.3 Ветеринарно-санитарная оценка мяса цыплят-бройлеров после применения фитосомина

Согласно нормативам, доклинические исследования новых лекарственных средств и кормовых добавок включают обязательную ветеринарно-санитарную оценку мяса с целью изучения их возможного негативного действия на мясо и мясопродукты, которые в дальнейшем планируется использовать в пищу людям. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния нового препарата фитосомин на безопасность и качество мяса птицы.

В исследованиях была задействована птица, участвующая в хроническом опыте: 10 цыплят из опытной группы, которые на протяжении 42 суток получали фитосомин в дозировке 42 мг на голову; 10 цыплят контрольной группы, которые содержались на основном рационе. В конце опыта из каждой группы было отобрано по 5 голов, у которых проведено патологоанато-

мическое вскрытие с последующей ветеринарно-санитарной экспертизой мяса в соответствии: с ГОСТ 9959-2015 «Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки»; ГОСТ 31470-2012 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы органолептических и физико-химических исследований»; ГОСТ 31962-2013 «Мясо кур (тушки кур, цыплят, цыплят-бройлеров и их части)». Перед убоем птица находилась на голодной диете в течение 8 часов для освобождения зоба от кормовых масс.

Для определения качества бульона в колбу объемом 100 мл помещалось 20 г мелко нарезанного мяса, затем добавлялось 60 мл дистиллированной воды. После перемешивания колба накрывалась стеклянной крышкой, помещалась на водяную баню с последующим нагреванием содержимого до 80–85 °С и регистрацией полученных результатов.

Определение свежести мяса птицы по продуктам распада белков проводилось с помощью реактива Несслера, способного образовывать окрашенные соединения при взаимодействии с аммиаком, солями аммония, аминами, сульфидами и альдегидами, накапливающимися в мясе птицы в процессе распада белков. Определение показателя водородных ионов рН мяса осуществлялось потенциометром в водной вытяжке, в соотношении 1 часть мяса – 10 частей дистиллированной воды, которая настаивалась в течение 30 минут и затем фильтровалась через бумажный фильтр. Микроскопический анализ мяса проводился для определения количества бактерий и степени распада мышечной ткани в мазках-отпечатках, окрашенных по Граму.

Оценка внешнего вида тушек цыплят-бройлеров проводилась с помощью визуального осмотра, вследствие чего было установлено: степень обескровливания тушки хорошая; цвет кожи – бледно-желтый; мышечная ткань – розовая; подкожный и внутренний жир – желтый; кровоизлияния не обнаружены. Мышцы развиты хорошо, на разрезе немного влажные, упругие, после легкого надавливания шпателем ямка выравнивалась в течение первых секунд. Форма грудки округлая, киль грудной кости не выделяется. Тушка

имела запах, свойственный свежему мясу данного вида птицы. Водный экстракт из мяса был прозрачным, хорошо фильтровался через бумажный фильтр. В грудной и брюшной полостях патологические изменения не выявлены. Внутренние органы расположены анатомически правильно. Патологический выпот и экссудат не обнаружены. В паренхиматозных органах макроизменения отсутствовали. Согласно ГОСТ 31962-2013 мясо птицы соответствовало 1 категории.

В результате оценки качества бульона при пробе варкой установлено, что бульон из мяса птицы опытной группы имел ароматный запах, был прозрачным, без хлопьев, с каплями жира на поверхности. Вареное мясо светло-серого цвета, сочное, с приятным характерным вкусом и запахом (рис. 11).

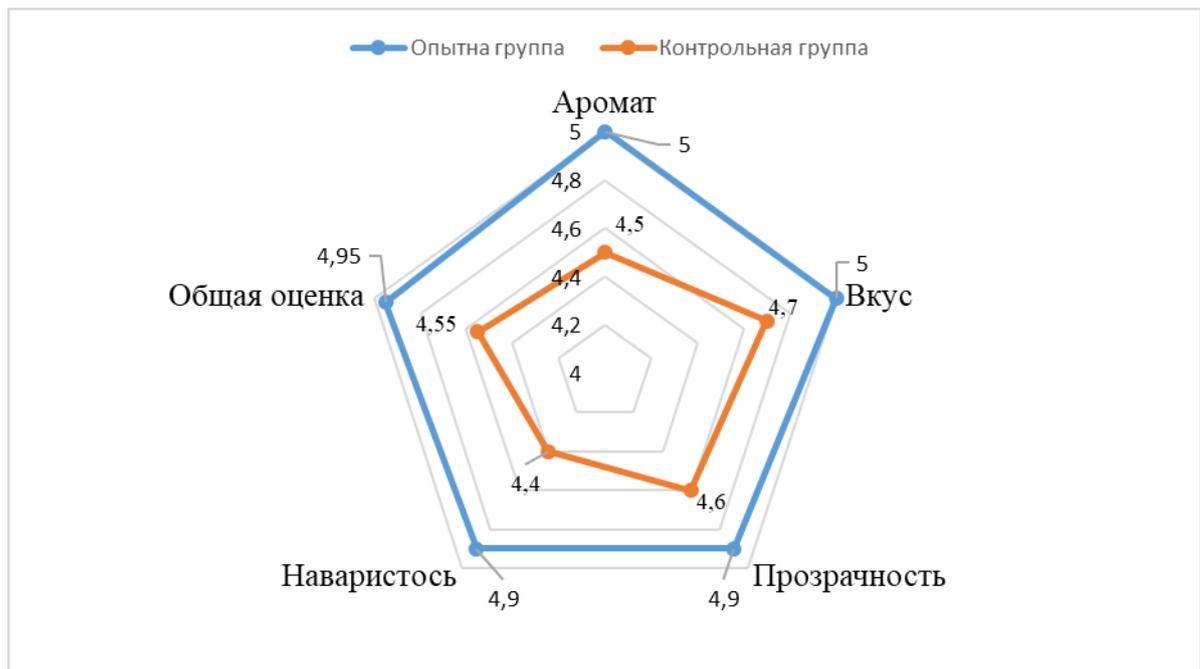


Рисунок 11 – Дегустационная оценка бульона, балл (n=5)

При оценке доброкачественности мяса птицы по продуктам распада белков зарегистрировано, что содержимое пробирки приобрело зеленовато-желтый оттенок, при этом оставалось прозрачным, свидетельствуя о доброкачественности мяса. Концентрация водородных ионов рН в водной вытяжке как опытных, так и контрольных цыплят была в пределах 5,81–5,86 и не выходила за границы показателей мяса здоровой птицы. Микроскопический

анализ мяса в мазках-отпечатках с поверхностных слоев выявил единичные кокки и палочки без следов распада мышечных волокон, а в срезах из глубоких слоев микроорганизмы отсутствовали.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что применение разработанного препарата фитосомин цыплятам-бройлерам не влияет отрицательно на качество и вкусовые показатели мяса, в связи чем мясо птицы можно употреблять в пищу без предварительной выдержки после прекращения применения препарата.

3.2.4 Местнораздражающие свойства

Оценку местнораздражающего действия препарата фитосомин проводили в экспериментах на кроликах и крысах методом накожных аппликаций и конъюнктивальной пробой – в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005).

Для эксперимента отобрали кроликов с массой тела 3–3,2 кг по 3 животных на каждое исследование. В опыте участвовали только здоровые кролики с чистыми кожными покровами. Критерием подбора животных в группы являлась масса тела, индивидуальные значения которой не отклонялись от среднего показателя в группе более чем на 10 %.

В первой серии опыта изучено местнораздражающее действие фитосомина на кожу кроликов. Методика проведения накожной аппликации заключалась в следующем: исследуемый препарат разводили с дистиллированной водой в соотношении 1:1, затем, избегая повреждений кожи, на боковой поверхности туловища животного выбривали участок площадью 5×5 см. Кролику с одной стороны на обезжиренный выстриженный участок наносили 1 мл водного раствора исследуемого препарата (рис. 12). На противоположную сторону также на выстриженный и обезжиренный участок кожи пипеткой наносили 1 мл дистиллированной воды. В ходе опыта за животными вели наблюдение, оценивали общее состояние, проводили осмотр выстриженных

участков кожи, проводили измерение толщины кожи в месте нанесения исследуемых веществ. Учет реакции проводили через 30 минут, 1, 3, 6, 12 часов и 24 часа.



Рисунок 12 – Определение раздражающего действия фитосомина методом накожных аппликаций



Рисунок 13 – Определение раздражающего действия фитосомина конъюнктивальной пробой

При этом учитывали возможное появление на месте аппликации отека, гиперемии, зуда, болезненности при пальпации, появление трещин и корок, повышение местной температуры, утолщение кожной складки. Реакцию кожи на воздействие препарата оценивали в баллах от 0 до 4 по двум критериям: интенсивность эритемы визуально, где 0 баллов – отсутствие эритемы, а 4 балла – резко выраженная эритема; интенсивность отека, толщина кожной складки в мм, где 0 баллов – отсутствие отека, а 4 балла – резко выраженный, толщина кожной складки 2 мм и более. Затем количество баллов суммировались и определялся класс выраженности раздражающего действия исследуемого образца.

Вторая серия опытов была проведена с использованием конъюнктивальной пробы. Для постановки пробы 1 каплю разведенного фитосомина вводили глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко кролика, во второй глаз (контрольный) аналогичным способом вводили 1 каплю физиологического раствора (рис. 13). После инстилляции веки соединяли и держали в таком положении в течение 1–2 секунд.

Реакции учитывали через 15 мин (быстрая реакция), через 24 и 48 часов (замедленного типа) по следующим показателям: гиперемия конъюнктивы и роговицы, отек век и экскреция слезных желез. Оценки степени повреждения

глаза суммировались по всем показателям, после чего вычислялся средний суммарный балл для данной группы экспериментальных животных.

Таблица 18 – Оценка местнораздражающего действия фитосомина на конъюнктиву глаза кролика ($M \pm m$; $n=3$).

Время исследования	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Исходное	0	Отсутствует
Через 30 минут	2	Слабый
Через 1 час	2	Слабый
Через 2 часа	2	Слабый
Через 3 часа	0	Отсутствует
Через 4 часа	0	Отсутствует
Через 5 часов	0	Отсутствует
Через 6 часов	0	Отсутствует

При постановке конъюнктивной пробы зарегистрировано, что после воздействия исследуемого препарата на конъюнктиву кроликов в течение первых 3–5 минут наблюдали кратковременное беспокойство у животных, которое проявлялось попытками почесать глаза передними лапами. При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз кролика установлено, что препарат вызывает слабое раздражение конъюнктивы спустя 30 мин после закапывания, которое самопроизвольно исчезает к 3 часу (табл. 18). Суммарный балл раздражающего действия фитосомина составил до 1 – слабая выраженность раздражающего действия.

При дальнейшем наблюдении за животными установлено, что клиническое состояние кроликов (температура тела, пульс и количество дыхательных движений) остается в пределах показателей здоровых животных.

Третью серию опытов проводили на лабораторных крысах методом погружения хвоста животных в водную взвесь исследуемого препарата. Предварительно изготовили растворы фитосомина в трех различных концентрациях (10 %, 20 % и 30 %). В опыте участвовало 9 крыс, которых разделили на 3 группы по 3 крысы в каждой. Животные фиксировались в фанерных станках для обеспечения доступа к хвосту. Затем хвост каждой крысы погружали

на 1/3 его длины в растворы разных концентраций. Ответную реакцию фиксировали сразу и в течение суток после погружения хвоста.

В результате проведенных исследований установлено, что за весь период наблюдений гиперемии, инфильтрации и отека кожи, десквамации эпителия, а также общей токсической реакции со стороны организма кроликов не выявлено.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об отсутствии у препарата местнораздражающего действия и позволяют отнести фитосомин к классу веществ, не проявляющих раздражающего действия.

3.2.5 Эмбриотоксическое и тератогенное действие

Цель исследования – выявление возможного эмбриотоксического и тератогенного действия препарата фитосомин на организм лабораторных животных. Для опыта были отобраны 30 нелинейных половозрелых крыс-самок, которых разделили на 2 группы – опытную и контрольную по 15 голов в каждой, масса тела животных регистрировалась в диапазоне 200–220 г. Далее к самкам посадили самцов в соотношении 1:3. Ежедневно крысам опытной группы скармливался препарат фитосомин в виде болюсов в дозировке 1,0 г/кг массы тела, что составляет 1/10 часть от максимально введенной дозы в опыте по определению острой токсичности. Контрольная группа состояла из здоровых интактных животных.

На следующий день определялось наличие беременности у крыс при обнаружении сперматозоидов в вагинальных мазках. Мазок брали с помощью тонкослойного ватного тампона на стеклянной глазной палочке. Затем на обезжиренном предметном стекле фиксировали мазок, растирая содержимое тампона в капле дистиллированной воды, сразу же микроскопировали под малым увеличением микроскопа. При обнаружении сперматозоидов крысу отсаживали в другую клетку и фиксировали начало беременности.

На 19 сутки опыта у пяти беременных крыс после эвтаназии при вскрытии фиксировали количество: желтых тел беременности; мест имплантаций и резорбций; живых и мертвых плодов. Методом пальпации проводили

обследование рогов матки для подсчета количества плодов и мест резорбций, затем отделяли правый и левый яичник от жировой ткани для дальнейшего подсчета количества желтых тел с помощью лупы и тонкой иглы. После этого произвели вскрытие рогов матки по наружному краю и освободили плоды от околоплодных оболочек и плаценты, пережимая при этом пуповину на 2–3 секунды пинцетом, что позволило произвести подсчет числа живых, мертвых плодов, а также количества мест имплантаций.

При визуальном осмотре плодов с помощью лупы и микроскопа в направлении от головы к хвосту фиксировали наличие аномалий и уродств. Затем часть плодов фиксировали в растворе Буэна для выявления патологий внутренних органов, а остальную часть фиксировали в 96 % спирте для изучения патологий скелета. Учет показателей эмбриотоксического эффекта проводили, основываясь на результатах патологоанатомического вскрытия, по показателям, рассчитанным по формулам Малашенко А.М., Егоровой М.К. (1967), Lyon M.F. et al (1974): общая эмбриональная смертность (%); гибель эмбрионов до имплантации (%); гибель эмбрионов после имплантации (%); показатель внутриутробной выживаемости (%).

На этих же крысах оценивается тератогенный эффект препарата, для чего у самок после родов подсчитывали количество плодов, фиксировали число живых и мертвых, а также проверяли потомство на наличие аномалий. В течение месяца проводили ежедневный осмотр молодняка, обращая внимание на степень физического развития, что характеризуется прорезыванием глаз, развитием шерстного покрова и временем отлипания ушей. В период окончания лактации часть особей молодого поколения подвергали эвтаназии и проводили патологоанатомическое вскрытие, изучая состояние внутренних органов и скелета. Данные представлены в таблице 19.

По результатам проведенного опыта установили, что фитосомин не влияет на процессы оплодотворения лабораторных крыс, а применение препарата в дозе 1,0 г/кг массы тела беременным самкам не оказывает токсиче-

ского действия на продолжительность, течение беременности и развитие плода в эмбриональном и постнатальном периоде.

Таблица 19 – Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия фитосомина на лабораторных крысах ($M \pm m$; $n=15$)

Показатель	Опыт	Контроль
Эмбриотоксическое действие		
Желтые тела беременности	11,6±0,7	11,3±0,5
Места имплантации	10,8±0,4	10,5±0,6
Живые эмбрионы	10,5±0,09	10,1±0,1
Мертвые эмбрионы	0,3±0,05	0,4±0,1
Эмбриональная смертность, %	9,5±0,1	10,6±0,3
Гибель эмбрионов до имплантации, %	6,9±0,2	7,1±0,4
Гибель эмбрионов после имплантации, %	2,8±0,3	3,8±0,2
Внутриутробная выживаемость, %	90,5±0,1	89,4±0,1
Средняя масса эмбриона, мг	882,5±13,2	880,8±14,6
Средний размер туловища, мм	26,3±0,3	25,9±0,2
Тератогенное действие		
Число новорожденных крысят на одну самку	9,7±0,2	9,5±0,4
Средний вес крысенка при рождении, мг	6053,6±131,5	6044,3±129,8
Средняя длина туловища крысенка, мм	45,4±0,5	44,8±0,7
Аномалии развития внутренних органов и скелета, врожденные уродства	отсутствуют	отсутствуют

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РАЗДЕЛУ

В результате токсикологических исследований установлено, что однократное пероральное введение фитосомина лабораторным крысам в дозе 10300 мг/кг массы тела и цыплятам-бройлерам – 14400 мг/кг массы тела переносится животными без токсических последствий, с учетом этого препарат классифицируется как малотоксичный и по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

Фитосомин при длительном многократном применении в токсических дозах лабораторным крысам и цыплятам-бройлерам не оказывает отрицательного действия на их организм. Мясо птицы можно употреблять в пищу без предварительной выдержки после прекращения применения препарата.

Экспериментально доказано отсутствие у фитосомина местнораздражающего, эмбриотоксического и тератогенного действия.

3.3 Фармакологические свойства фитосомина

3.3.1 Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальном поражении печени лабораторных животных гидразином

Экспериментальное поражение печени моделировали у нелинейных крыс в возрасте 3 месяцев с массой тела $205,5 \pm 5,21$ г, разделенных на 5 групп по 10 голов в каждой (4 – опытных и 1 – контрольная). Исследование проводилось на базе вивария Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института, где температура воздуха в помещениях составляла 18–22 °С, относительная влажность 45–60 %, искусственное освещение с последовательностью 12 часов – свет, 12 часов – темнота, согласно ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Перед началом опыта все животные находились на карантине в течение 2 недель – в опыте участвовали только клинически здоровые крысы.

В доклинических исследованиях для оценки гепатопротективных свойств различных лекарственных средств используются разнообразные модели поражения печени. В данном исследовании в качестве токсиканта применялся гидразин.

При моделировании поражения печени в начале опыта животные четырех опытных групп получили разово внутрижелудочно гидразин в дозировке 200 мг/кг массы тела (для каждого животного произведен индивидуальный расчет дозировки токсиканта). Затем в течение 21 суток трем опытным группам перорально задавали фитосомин (в виде болюсов): 1 группа – 0,25 г/кг массы тела (0,05 г/жив); 2 группа – 0,5 г/кг массы тела (0,1 г/жив); 3 группа – 0,75 г/кг массы тела (0,15 г/жив); 4 группа после интоксикации получала пустые злаковые болюсы; 5 группа являлась интактной.

Ежедневно регистрировали клиническое состояние и сохранность животных, в динамике определяли массу тела (взвешивание проводили на 1 день опыта, 5, 10, 15 и на 21 сутки). Также на 10 и 21 сутки из всех опыт-

ных групп отбирали по 5 крыс, у которых проводили забор крови для биохимических и гематологических исследований. Для оценки морфологической картины печени крыс в середине опыта было проведено ультразвуковое исследование органов брюшной полости при помощи ультразвукового исследования на аппарате Chison Qbit 7. Перед проведением УЗИ у крыс забривалась шерсть на брюшной стенке, кожа смачивалась дистиллированной водой и смазывалась специальным гелем.

В конце опыта проводили патологоанатомическое вскрытие животных с последующим гистологическим исследованием. Кроме того, патологоанатомическому вскрытию подвергались павшие крысы. Весь отобранный материал был отправлен на гистологическое исследование.

По результатам наблюдений за клиническими проявлениями интоксикации было отмечено, что ухудшение состояния животных наблюдалось сразу же после введения гидразина и характеризовалось общим угнетением, бледностью слизистых оболочек, нарушением дыхания, появлением одышки, отсутствием аппетита, животные слабо реагировали на внешние раздражители (свет и шум). Во 2 и 3 опытных группах примерно через 12 часов у крыс наблюдалось ослабление признаков интоксикации – появился аппетит и адекватная реакция на внешние раздражители, угнетение полностью исчезло на 3 день. У животных 1 группы клинические симптомы интоксикации усиливались до третьего дня опыта, затем состояние крыс начало стабилизироваться и на четвертый день стали заметны улучшения. Дольше всего признаки интоксикации отмечались у крыс из 4 опытной группы (без лечения), у которых они регистрировались до 5 дня исследований. С начала второй недели опыта симптомы токсикоза у этих животных стали постепенно ослабевать.

В течение первых суток после введения гидразина была зафиксирована гибель двух крыс из 4 опытной группы (без лечения). В дальнейшем гибель животных в этой группе регистрировалась до 5 дня опыта (за этот период пало еще три животных). В 1 группе с применением лечения в дозировке фитосомина 0,25 г/кг массы тела на второй день опыта зарегистрирована гибель двух

крыс. В целом по результатам проведенных исследований установлено, что сохранность крыс в 4 группе (без лечения) составила 50 %, в группах с применением фитосомина – в 1 опытной – 80 %; во 2 и 3 опытных – 100 %.

Динамика массы тела лабораторных животных на протяжении опыта представлена на графике (рис. 14).

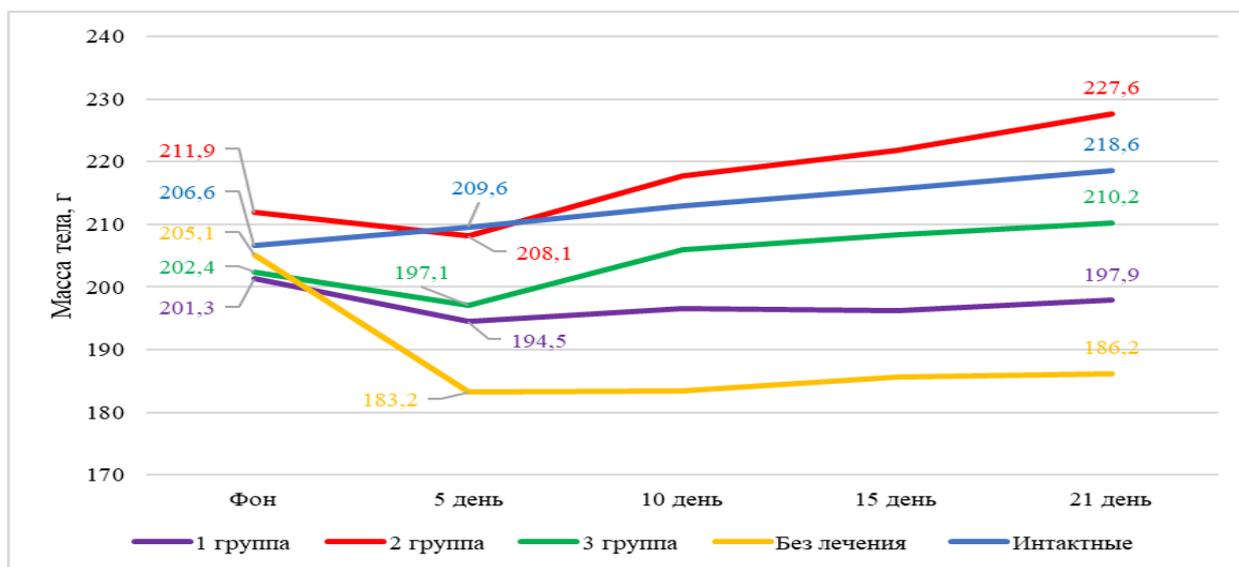


Рисунок 14 – Влияние фитосомина на динамику массы тела крыс при экспериментальном поражении печени гидразином

Из этих данных видно, что во всех опытных группах в начале опыта отмечалась отрицательная динамика массы тела, затем, начиная с 5 дня опыта, животные 2 и 3 опытных групп стали набирать вес, масса их тела увеличилась во 2 группе – на 7 %, в 3 группе – на 6,8 % по отношению к исходным показателям. В группе с применением фитосомина в концентрации 0,25 г/кг массы тела и в 4 группе без лечения была выявлена отрицательная динамика массы, которая в процентном соотношении снизилась примерно на 3,2 %. В интактной группе отмечен набор массы тела крыс с увеличением на 5,8 %. Таким образом, наилучшие показатели прироста массы тела были зафиксированы во 2 группе, которые на 21 сутки опыта составили 7 % по сравнению с фоновыми значениями.

Гематологические показатели крыс в условиях гидразиновой интоксикации и фармакокоррекции фитосоминном представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Влияние фитосомина на гематологические показатели крыс при гидразиновой интоксикации ($M \pm m$; $n=5$).

Показатели	Группы				
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 интактная
	10 сутки				
Лейкоформула, %:					
эозинофилы	2,62±0,21	3,19±0,26	2,69±0,29	2,77±0,19	3,89±0,31
моноциты	2,43±0,04	3,15±0,06	2,53±0,02	2,48±0,01	3,81±0,09
лимфоциты	70,97±2,36	69,32±1,28	68,67±2,41	71,27±1,58	65,11±1,62
палочкоядерные	0,72±0,13	1,0±0,28	1,0±0,51	0,67±0,11	0,85±0,26
сегментоядерные	23,26±0,92	23,34±1,07	25,11±0,64	22,81±1,23	26,34±0,67
Эритроциты, $10^{12}/л$	9,6±2,14	9,8±1,92	9,9±0,56*	9,4±1,81	10,3±0,21
Лейкоциты, $10^9/л$	24,2±1,23	20,3±0,45**	20,1±0,72	26,2±0,39	17,6±0,54
Гематокрит, %	69,6±2,76	63,5±1,67*	63,8±2,03	72,8±2,13	47,6±3,18
Гемоглобин, г/л	132,5±5,61	135,2±3,05*	134,7±5,81	131,9±3,39	148,2±2,12
Тромбоциты, $10^9/л$	749,1±10,6	694,7±13,9	733,5±11,7	715,8±9,3	721,2±13,4
	21 сутки				
Лейкоформула, %:					
эозинофилы	2,65±0,22	3,19±0,25	3,96±0,18	2,37±0,09	3,86±0,12
моноциты	4,16±0,05	4,34±0,08	4,57±0,04	2,33±0,03	3,96±0,16
лимфоциты	67,49±3,81	65,31±3,35	65,87±1,23	72,88±4,97	63,74±3,62
палочкоядерные	1,0±0,24	1,0±0,47	0,52±0,09	0,68±0,35	0,87±0,41
сегментоядерные	24,7±0,75	26,16±0,61	25,08±1,37	21,74±1,86	27,57±1,97
Эритроциты, $10^{12}/л$	9,7±1,78	10,3±2,07	10,2±0,81	9,1±1,44	10,5±0,61
Лейкоциты, $10^9/л$	25,6±1,27	18,3±0,67*	18,9±0,85	30,8±1,13	17,1±1,04
Гематокрит, %	70,8±2,45	52,1±1,59**	52,8±1,27*	74,2±3,41	46,3±2,24
Гемоглобин, г/л	135,8±9,57	149,6±6,23*	147,7±7,03**	130,4±9,88	148,2±7,12
Тромбоциты, $10^9/л$	741,8±21,7	698,1±19,8	740,3±13,6	713,9±13,9	726,2±14,1

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении 4 группой

Анализируя эти данные можно отметить, что наибольшие изменения со стороны белой крови выявлены в группе без лечения, где разница с интактными крысами в увеличении концентрации лейкоцитов составила 80,1%. Применение в 1, 2 и 3 группах фитосомина позволило снизить выраженность воспалительных реакций благодаря его гепатопротекторным и антиоксидантным свойствам. Так, на 10 сутки в 1 группе концентрация лейкоцитов была ниже в сравнении с 4 группой на 7,6 %, во 2 группе – 22,5 % ($p \leq 0,01$), в 3 группе – 14,2 %. В конце опыта в 1 группе отмечалось повышение лейкоцитов относительно данных на 10 сутки опыта, однако во 2 и 3 группах сохранилась тенденция к снижению концентрации и разница с 4 группой составила в 1 группе – 16,9 %, во 2 группе – 40,6 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 38,6 %. На

фоне воспалительных процессов в организме отмечалось увеличение лимфоцитов, однако в группах с применением фитосомина значения были меньше показателей 4 группы: в середине опыта в 1 группе разница составила 0,4 %, во 2 группе – 2,7 %, в 3 группе – 3,6 %; в конце опыта в 1 группе – 7,4 %, во 2 группе – 10,4 %, в 3 группе – 9,6 %.

На протяжении эксперимента отмечалось увеличение гематокрита во всех опытных группах, что связано с обезвоживанием организма на фоне развития интоксикации, однако, наибольшее повышение показателя отмечается в 4 опытной группе, где разница с интактными крысами составила на 10 сутки 52,9 % и на 21 сутки 60,3 %. В середине опыта разница относительно 4 опытной группы по гематокриту составила: в 1 группе – 4,4 %, во 2 группе – 12,8 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 12,4 %. В конце опыта разница составила в 1 группе – 4,6 %, во 2 группе – 29,8 % ($p \leq 0,01$), в 3 группе – 28,8 % ($p \leq 0,05$).

На фоне потери аппетита у крыс отмечалось снижение показателей эритроцитов и гемоглобина в крови, что связано с дефицитом питательных веществ. Так, на 10 сутки эксперимента разница в опытных группах с применением препарата относительно 4 группы по концентрации эритроцитов составила: в 1 группе – 2,1 %; во 2 группе – 4,3 %; в 3 группе – 5,3 % ($p \leq 0,05$). В конце опыта в 4 группе сохранилась тенденция к снижению показателей, а в остальных опытных группах на фоне улучшения общего состояния крыс отмечается повышение значений. Разница относительно 4 группы составила: в 1 группе – 6,6 %, во 2 группе – 13,2 %; в 3 группе – 12,1 %. В 4 группе разница с интактными крысами составила на 10 сутки – 8,7 % и на 21 сутки – 13,3 %.

По гемоглобину также отмечалась общая тенденция к снижению, однако, в опытных группах с применением фитосомина концентрация превышала показатели 4 группы к середине опыта: в 1 группе – на 0,5 %; во 2 группе – на 2,5 % ($p \leq 0,05$); в 3 группе – на 2,1 %. В конце опыта разница составила: в 1 группе – 4,1 %, во 2 группе – 14,7 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 13,3 % ($p \leq 0,01$).

У животных 4 группы разница с интактными крысами составила на 10 сутки – 11 % и на 21 сутки – 12 %.

Биохимические исследования крови крыс показали, что интоксикация гидразином приводила к изменению показателей крови (табл. 21).

Таблица 21 – Влияние фитосомина на биохимические показатели крыс при гидразиновой интоксикации ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы				
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 интактная
	10 сутки				
ЩФ, Ед/л	178,2±11,7	158,7±5,4*	157,5±7,3**	182,1±12,8	109,2±7,1
АсАт, Ед/л	121,9±2,24	116,9±2,16	113,4±1,24*	129,3±3,66	92,8±3,15
АлАт, Ед/л	99,3±5,31	85,6±3,05*	91,8±5,76	107,1±3,24	69,4±2,64
Общий белок, г/л	59,2±3,02	60,8±1,59**	62,3±3,14	57,1±1,75	70,5±0,73
Фосфор, ммоль/л	2,3±0,07	2,0±0,06	2,4±0,05	2,2±0,1	2,1±0,09
Мочевина, ммоль/л	6,4±0,53	6,6±0,32	6,5±0,64	6,3±0,48	6,8±0,35
Глюкоза, ммоль/л	5,53±0,52	5,61±0,49	5,67±0,39	5,39±0,27	6,03±0,54
Триглицериды, ммоль/л	0,87±0,16	0,89±0,07*	0,88±0,12	0,85±0,11	0,91±0,15
Холестерин, ммоль/л	4,43±0,17	3,97±0,06	3,89±0,11**	4,59±0,23	2,69±0,08
	21 сутки				
ЩФ, Ед/л	166,7±14,6	122,6±9,3*	125,8±12,7	185,7±11,6	106,8±10,9
АсАт, Ед/л	114,1±4,32	98,7±5,01	98,3±3,02*	136,8±3,26	91,7±3,42
АлАт, Ед/л	92,9±6,03	73,8±4,23**	79,3±6,1	114,6±4,79	65,1±1,93
Общий белок, г/л	61,4±1,56	66,9±1,04*	64,7±1,18**	54,4±1,56	72,7±1,63
Фосфор, ммоль/л	2,2±0,05	2,3±0,1	2,0±0,08	2,1±0,09	2,3±0,07
Мочевина, ммоль/л	6,6±0,38	6,8±0,26	6,7±0,31	6,2±0,42	7,0±0,23
Глюкоза, ммоль/л	5,89±0,06	6,08±0,47	6,03±0,43	5,43±0,16	6,11±0,43
Триглицериды, ммоль/л	0,88±0,11	0,91±0,09	0,93±0,05*	0,80±0,15	0,89±0,07
Холестерин, ммоль/л	3,94±0,10	3,25±0,06*	3,27±0,22	4,92±0,05	2,78±0,11

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении 4 группой

Введение гидразина вызвало повышение ЩФ у всех опытных животных по сравнению с контрольными крысами, однако, наибольшее увеличение показателей отмечено в 4 группе без применения препарата, где разница с интактными крысами составила на 10 сутки – 66,8 % и на 21 сутки – 73,9 %. У крыс, получавших фитосомин, относительно 4 группы на 10 сутки интоксикации ЩФ увеличилась в 1 группе – на 2,1 %, во 2 группе – на 12,9 %, в 3 группе – на 13,5 %. В конце опыта разница составила в 1 группе – 10,2 %, во 2 группе – 34 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 32,3 %.

К середине исследований в опытных группах отмечались выраженные изменения аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сторону повышения активности. Увеличение показателей связано с разрушением цитоплазматической мембраны гепатоцитов под действием токсиканта и высвобождением аминотрансфераз и их выходом в кровь. В конце опыта в группах с применением препарата разница по сравнению с контролем стала уменьшаться, в то время как в 4 группе показатели еще больше возросли, что свидетельствует о высокой гепатопротекторной активности фитосомина. Так, у животных, получавших препарат, разница относительно 4 группы составила: к середине опыта в 1 группе – 7,3 %, во 2 группе – 20,1 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 14,3 %; на 21 сутки в 1 группе – 18,9 %, во 2 группе – 35,6 % ($p \leq 0,01$), в 3 группе – 30,8 % ($p \leq 0,05$).

При исследовании уровня АсАт отмечалась аналогичная тенденция, разница относительно 4 группы на 10 сутки опыта составила в 1 группе – 5,7 %, во 2 группе – 9,6 %, в 3 группе – 12,3 % ($p \leq 0,05$). В конце опыта на фоне применения препарата было отмечено снижение ферментной активности в 1, 2 и 3 опытных группах, разница относительно 4 группы составила: 1 группа – 16,6 %; 2 группа – 27,9 %; 3 группа – 28,1 % ($p \leq 0,05$). У животных 4 группы разница с интактными крысами составила на 10 сутки – 39,3 % и на 21 сутки – 49,2 %.

Показатели общего белка в середине опыта снизились во всех опытных группах, что в основном связано с нарушением протеинсинтетической функции печени. Применение препарата позволило снизить токсическое влияние гидразина на печень, что подтверждалось повышением концентрации общего белка относительно 4 группы: на 10 сутки разница составила в 1 группе – 3,7 %, во 2 группе – 6,5 %, в 3 группе – 9,1 %; к концу опыта разница составила в 1 группе – 12,9 %, во 2 группе – 23 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 18,9 % ($p \leq 0,01$). У животных 4 группы относительно интактных крыс общий белок был ниже к 10 суткам – на 19 % и к 21 суткам – на 25,2 %.

В середине эксперимента отмечено снижение концентрации мочевины во всех опытных группах в сравнении с контролем, при этом в 4 группе отмечалось наибольшее снижение, это связано с неспособностью поврежденных клеток печени синтезировать мочевину. Так, на 10 сутки опыта разница относительно группы без применения препарата составила в 1 группе – 1,6 %, во 2 группе – 4,8 % ($p \leq 0,05$) и в 3 группе – 3,2 %; в конце опыта в 1 группе – 6,5 %, во 2 группе – 9,7 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 8,1 % ($p \leq 0,01$).

Отрицательная динамика глюкозы в опытных группах связана с сильной интоксикацией организма и снижением аппетита крыс. В 4 группе клинические симптомы интоксикации были наиболее выражены и снижение показателя относительно интактных крыс составило на 10 сутки – 10,6 % и на 21 сутки – 11,1 %. У животных с применением фитосомина относительно 4 группы глюкоза повысилась: к середине опыта в 1 группе – на 2,6 %, во 2 группе – на 4,1 %, в 3 группе – на 5,2 %; в конце опыта в 1 группе – на 8,5 %, во 2 группе – на 12 %, в 3 группе – на 11 %.

На фоне затравки у крыс, получавших фитосомин, уровень триглицеридов хоть и снизился, но был выше относительно 4 группы (без лечения) при разнице: в середине опыта в 1 группе – 2,4 %, во 2 группе – 4,7 %, в 3 группе – 3,5 %; в конце опыта в 1 группе – 10 %, во 2 группе – 13,8 %, в 3 группе – 16,3 % ($p \leq 0,05$). Также было отмечено увеличение уровня холестерина в опытных группах по сравнению с контрольной, наибольшие показатели отмечены в 4 группе, где разница составила на 10 сутки – 70,6 % и на 21 сутки – 77 %. У крыс, получавших фитосомин, в середине опыта разница относительно 4 группы составила в 1 группе – 3,5 %, во 2 группе – 13,5 %, в 3 группе – 15,3 % ($p \leq 0,01$); в конце опыта в 1 группе – 19,9 %, во 2 группе – 33,9 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – 33,5 %.

Таким образом, результатами биохимических исследований установлено, что интоксикация гидразином оказывает выраженное повреждающее действие на печень, что подтверждается повышением в крови аминотрансфераз, ЩФ, триглицеридов и холестерина, а также снижением концентрации обще-

го белка и мочевины. В группах с применением препарата показатели изменились менее значимо, чем в 4 группе. Наиболее выраженный фармакологический эффект фитосомина наблюдался во 2 и 3 группах [13].

Степень фармакологического воздействия фитосомина при гидразиновой интоксикации оценивали по ряду показателей крови крыс, характеризующих интенсивность процессов перекисного окисления липидов (табл. 22).

Таблица 22 – Влияние фитосомина на показатели ПОЛ крови лабораторных крыс при гидразиновой интоксикации ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы				
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 интактная
	10 сутки				
ДК, ед.оп.пл./мг липидов	0,25±0,01	0,22±0,02*	0,23±0,03**	0,28±0,02	0,19±0,01
КД, ед.оп.пл./мг липидов	0,2±0,03	0,18±0,01	0,16±0,02*	0,22±0,04	0,13±0,02
МДА, мкмоль/л	1,57±0,02	1,52±0,02	1,54±0,01	1,61±0,03	1,48±0,12
	21 сутки				
ДК, ед.оп.пл./мг липидов	0,22±0,03	0,19±0,03	0,21±0,01*	0,32±0,01	0,17±0,02
КД, ед.оп.пл./мг липидов	0,18±0,02	0,15±0,01*	0,16±0,03	0,26±0,02	0,15±0,04
МДА, мкмоль/л	1,63±0,03	1,49±0,01*	1,51±0,02**	1,82±0,11	1,45±0,03

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении 4 группой

В середине опыта отмечается активное повышение первичных продуктов липопероксидации во всех опытных группах в сравнении с интактными крысами, причем наибольшие показатели отмечаются в группе без лечения, где разница с контролем составила: на 10 сутки ДК – 47,4 % и КД – 69,2 %; на 21 сутки ДК – 88,2 % и КД – 73,3 %. В группах с применением фитосомина относительно 4 группы разница в середине опыта составила: по ДК в 1 группе – 10,7 %, во 2 группе – 21,4 % ($p \leq 0,05$) и в 3 группе – 17,6 % ($p \leq 0,01$); по КД в 1 группе – 9,1 %, во 2 группе – 18,2 %, в 3 группе – 27,3 % ($p \leq 0,05$). В конце опыта разница составила: по ДК в 1 группе – 31,3 %, во 2 группе – 40,6 % и в 3 группе – 34,4 % ($p \leq 0,05$); по КД в 1 группе – 30,8 %, во 2 группе – 42,3 % ($p \leq 0,05$) и в 3 группе – 38,5 %. Изменения по вторичным продуктам свободно-радикального окисления в середине опыта были незначительные, разница относительно 4 группы составила в 1 группе – 2,5 %, во 2 группе – 5,6 %, в 3 группе – 4,3 %. В конце опыта в 4 группе отмечалось ак-

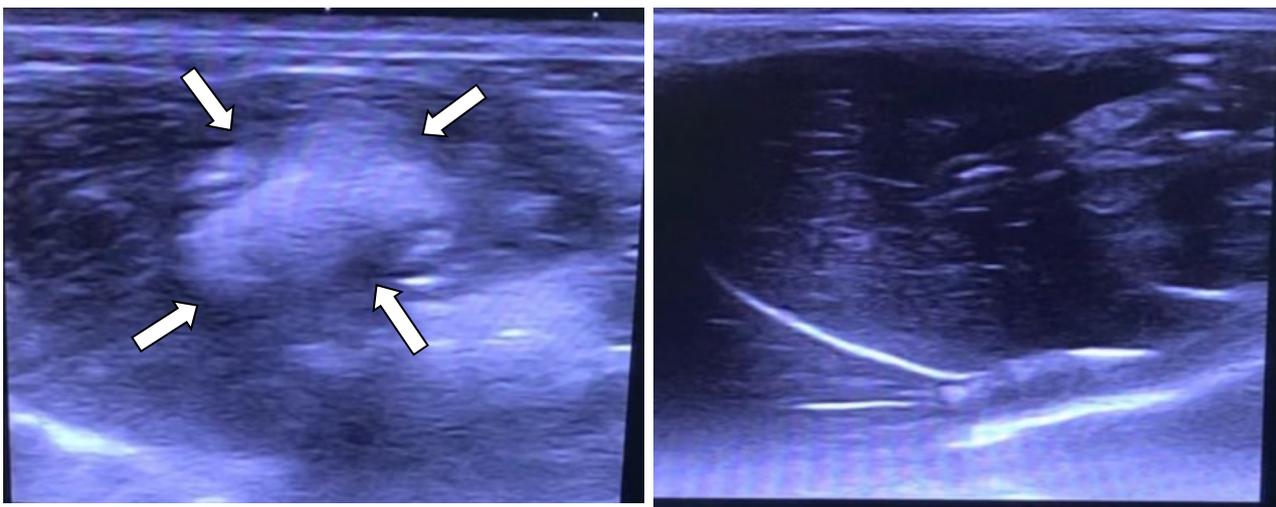
тивное повышение МДА, при разнице с интактными крысами – в 25,5 %. В группах с применением препарата отмечалось снижение концентрации МДА относительно 4 группы: в 1 группе – на 10,4 %; во 2 группе – на 18,1 % ($p \leq 0,05$); в 3 группе – на 17,0 % ($p \leq 0,01$).

Оценку эффективности препарата проводили на основании морфологических изменений в печени, оцененных на 10 сутки опыта при помощи ультразвукографического исследования (рис. 15).



Рисунок 15 – Подготовка лабораторной крысы к УЗИ печени

Установлено, что наиболее выраженные патологические изменения печени крыс относительно интактных здоровых животных на фоне гидразиновой интоксикации наблюдаются в 4 группе, не получавшей лечение: печень визуализируется хорошо, расположение типичное, увеличена, контуры неровные, нечеткие; эхоструктура органа неоднородная; паренхима печени с множественными мелкими гиперэхогенными включениями, в центре правой боковой доли печени визуализируется обширный гиперэхогенный участок паренхимы, свидетельствующий о дистрофическом перерождении печени; сосудистый рисунок выражен умеренно (рис. 16).



А – Патологические изменения печени крыс в 4 группе (без лечения)

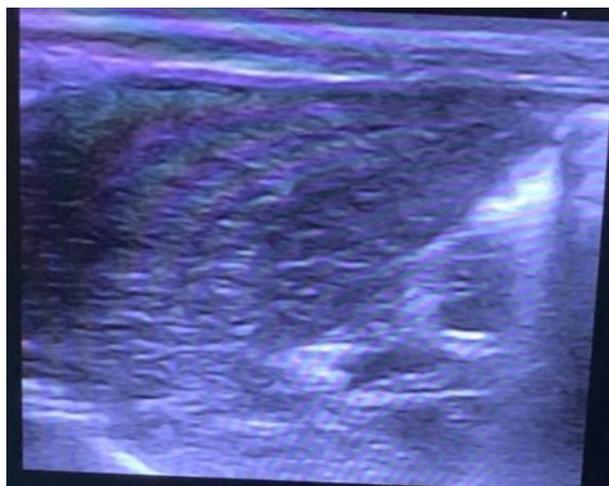
В – Печень крыс интактной группы (норма)

Рисунок 16 – Сравнительная картина печени лабораторных крыс из 4 опытной группы и здоровых животных

Минимальные изменения на фоне индуцированного поражения печени гидразином среди опытных крыс наблюдаются во 2 и 3 группах, получавших фитосомин в дозах 0,5 и 0,75 г/кг массы тела. На рисунке 17 – В представлена печень крысы из 2 группы, которая хорошо визуализируется, расположение типичное, контуры ровные, не увеличена. Отмечается гиперэхогенность органа, что может регистрироваться при гепатите. Эхоструктура неоднородная сосудистый рисунок выражен умеренно. Явных признаков новообразований не выявлено. В 1 опытной группе (рис. 17 – А), получавшей фитосомин в дозе 0,25 г/кг массы тела, на фоне индуцированного поражения печени гидразином морфологическая картина выглядит несколько лучше, чем в 4 группе, но хуже, чем во 2 и 3 группах. Печень хорошо визуализируется, расположение типичное, контуры неровные, незначительно увеличена. Отмечается округлые гиперэхогенные небольшие включения в паренхиме органа, что может говорить о гепатите. Эхоструктура неоднородная изоэхогенная, сосудистый рисунок выражен умеренно. Явных признаков новообразований не выявлено. Визуализируются УЗ признаки небольших участков дистрофических изменений печени.



А – Патологические изменения
печени крысы из 1 группы
(фитосомин 0,25 г/кг массы тела)



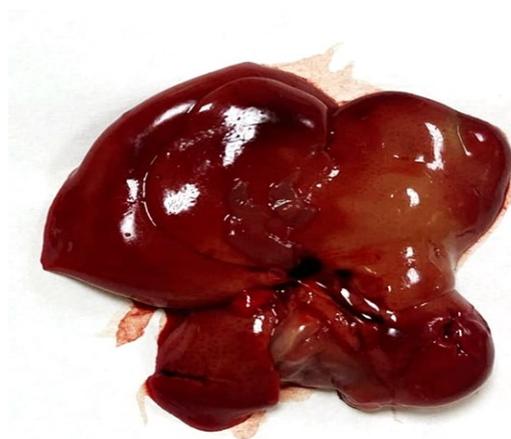
В – Патологические изменения
печени крысы из 2 группы
(фитосомин 0,5 г/кг массы тела)

Рисунок 17 – Сравнительная картина печени лабораторных крыс

На протяжении всего опыта вскрытию подвергались все павшие животные: две крысы – из 4 группы и одна – из 1 группы. Также в конце опыта из каждой группы было отобрано по 5 крыс, у которых после эвтаназии проводилось патологоанатомическое вскрытие и гистологическое исследование.



А – 4 опытная группа



В – 2 опытная группа

Рисунок 18 – Макроскопическая картина печени павших крыс
при патологоанатомическом вскрытии

При патологоанатомическом вскрытии павших крыс выявлены изменения у всех животных, наиболее выраженные в 4 группе без лечения (рис. 18 – А): печень дряблой консистенции, истончение капсулы, дистрофические из-

менения, характеризующиеся песочным цветом печени и участками кровоизлияния на капсуле, а также очаговыми просветлениями паренхимы, характерными для некроза. В 1 опытной группе цвет печени был светло-коричневый, консистенция дряблая, небольшие участки кровоизлияния на капсуле, явных признаков некроза не обнаружено. В печени крыс 2 и 3 опытных групп дистрофические изменения были менее выражены, цвет темно-коричневый с небольшими участками просветлений (рис. 18 – В).

При осмотре поджелудочной железы в 1 опытной группе регистрировались признаки триадита. Во 2 и 3 группе визуализировались незначительные воспалительные реакции двенадцатиперстной кишки. В 4 группе отмечаются выраженные признаки гиперемии и гиперплазии органа, консистенция плотная, местами выявлены точечные кровоизлияния. В желудочно-кишечном тракте в 1 группе отмечены небольшие участки кровоизлияний, гиперемия, а также наличие экссудата в толстом отделе кишечника. В 2 и 3 группах макроскопические изменения в кишечнике не выявлены. Наиболее выражены изменения были в 4 группе, которые характеризовались обширными участками кровоизлияний, выявлена экссудация в просвете кишечника, кишечник гиперемированный и гиперплазированный.

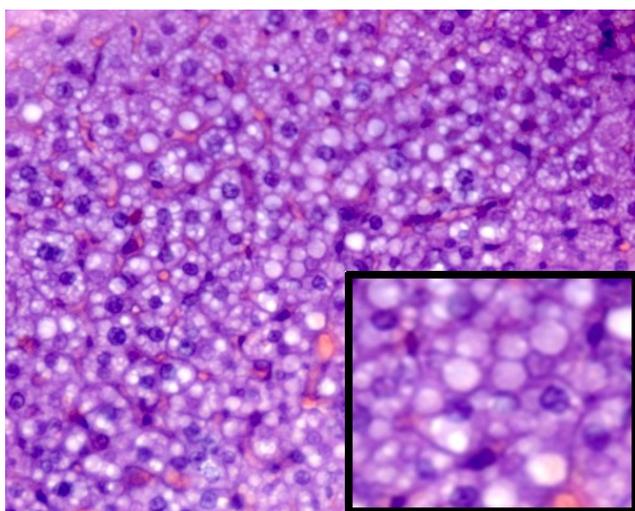
При патологоанатомическом вскрытии, проведенном в конце опыта, после эвтаназии крыс во всех опытных группах отмечалась гиперплазия селезенки, особенно выраженная в 4 группе. Макроскопически кровоизлияний и повреждений не визуализировалось. Со стороны мочевыделительной системы отмечались признаки нефрита и гиперплазии почек в 4 группе, где при разрезе почек корково-мозговое разграничение было слабо выражено. В 1 группе отмечались незначительные признаки гиперплазии и уплотнения капсулы. Во 2 и 3 группе макроскопических изменений не выявлено. Патологических изменений в других органах крыс из опытных групп макроскопически не установлено.

Таким образом, применение фитосомина значительно ослабляет проявление интоксикации. Наиболее выраженный фармакологический эффект был во 2 и 3 опытных группах, где обнаружены макроскопические изменения ор-

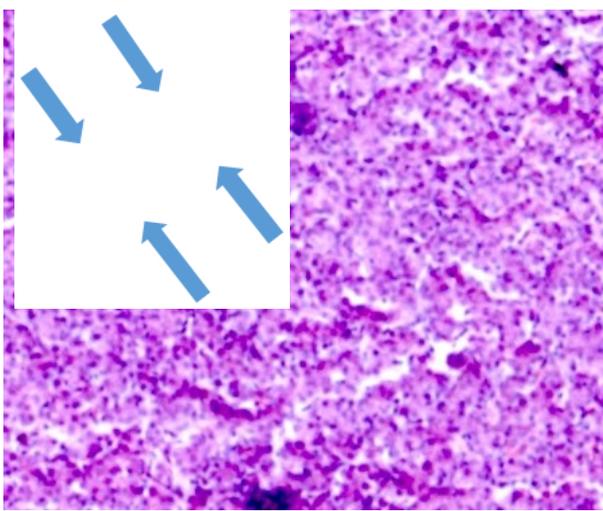
ганов только у 35 % лабораторных животных, а в 1 группе у 45 % крыс и в 4 группе – у всех животных.

Результаты гистологического исследования показали, что патологические изменения тканей зафиксированы во всех опытных группах. В группах с применением фитосомина признаки нарушений были менее выражены и наблюдались только у 60 % вскрытых крыс, в то время как в группах без лечения патологические признаки были ярко выражены и отмечены у всех вскрытых животных из группы.

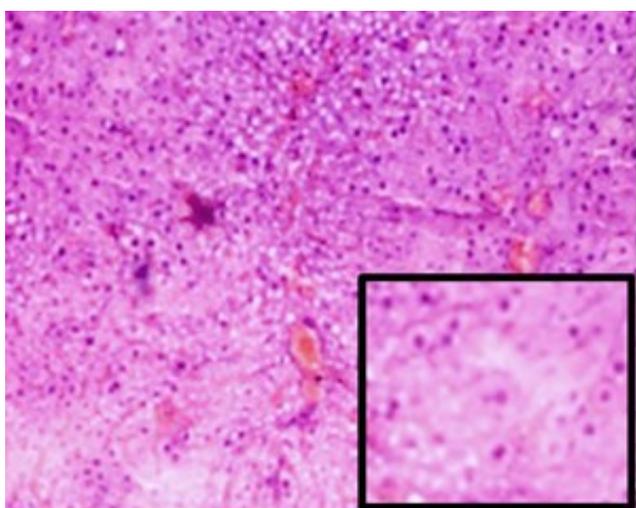
В ткани печени животных 1 группы в некоторых полях зрения отмечаются признаки жировой дистрофии в виде скопления жировых капель внутри цитоплазмы клеток, частично или полностью смещающие ядро к периферии клетки (рис. 19 – А). Во 2 группе структура органа в целом сохранена, отмечаются небольшие участки пролиферации лимфоцитов вокруг сосудов и желчных протоков (рис. 19 – Б). В ткани печени животных 3 группы отмечается лимфоидная пролиферация клеток и небольшие участки зернистой дистрофии, характеризующиеся накоплением амилоида и нечеткой структурой органа в некоторых полях зрения. В группе без лечения в ткани печени отмечаются обширные участки некроза, характеризующиеся безъядерной массой гепатоцитов, вокруг сосудов печени наблюдается лимфоидная пролиферация, а в сохранившейся ткани выявлены признаки зернистой дистрофии. Данная картина наблюдается практически во всех полях зрения (рис. 19 – В). На рисунке 19 – Г представлена морфологическая картина печени интактной крысы без патологических изменений.



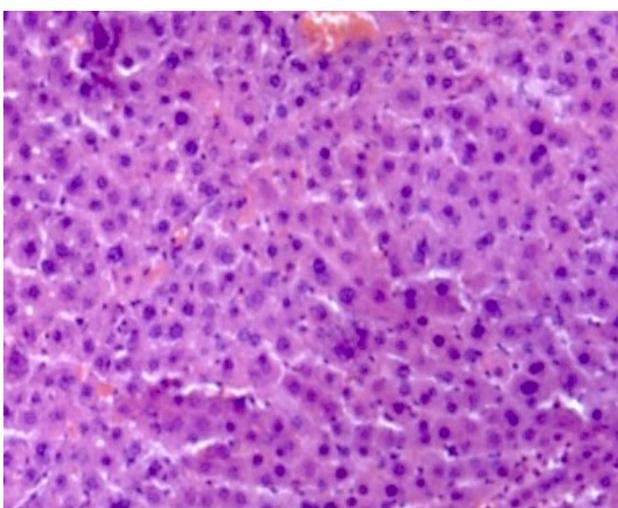
А – Ткань печени крысы 1 группы с признаками жировой дистрофии



Б – Ткань печени крысы 2 группы с небольшими участками пролиферации лимфоцитов



В – Ткань печени крысы 4 группы с признаками субмассивного некроза

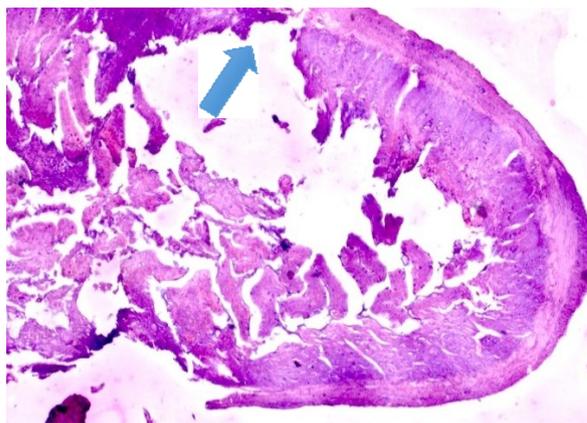


Г – Ткань печени крысы интактной группы без патологий

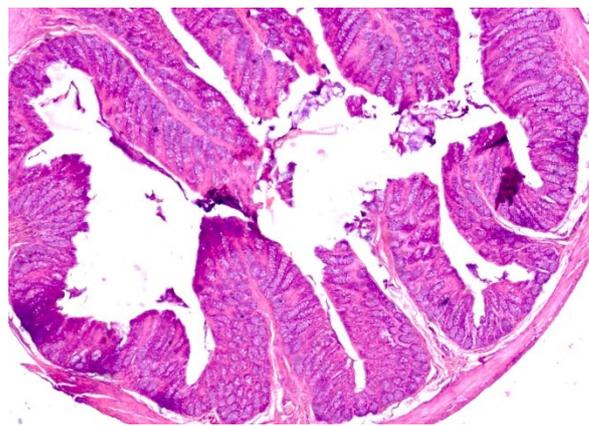
Рисунок 19 – Гистологическая картина печени крыс

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40.

При гистологическом исследовании тонкого отдела кишечника наиболее выраженные изменения отмечались 4 группе (без лечения), характеризующиеся нарушением целостности крипт, множественными участками пролиферации (рис. 20 – А).



А – Стенка тощей кишки крысы
4 группы

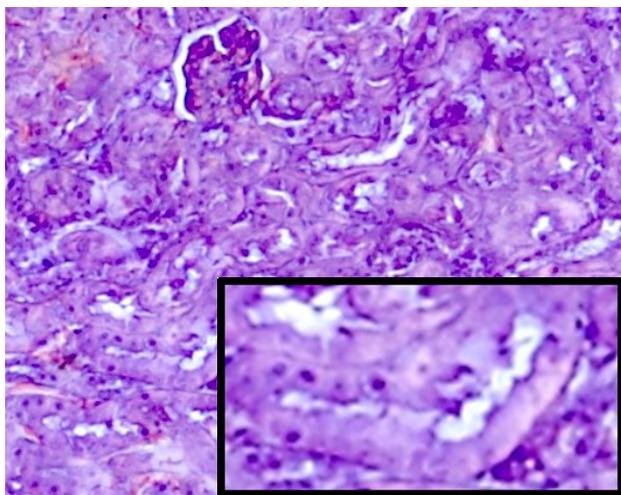


В – Стенка тощей кишки крысы
2 группы

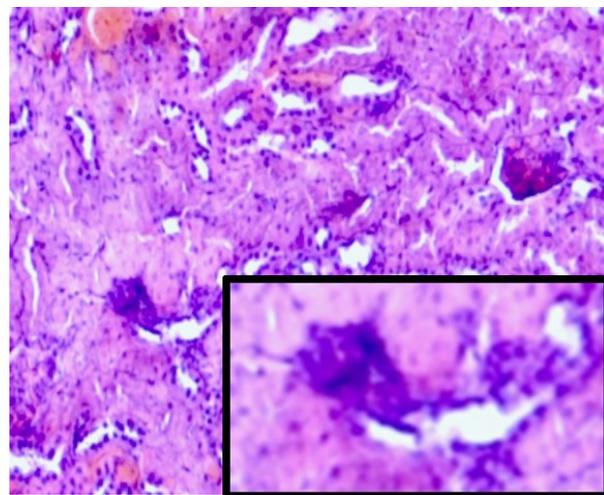
Рисунок 20 – Гистологическая картина крипт тощей кишки крыс

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40.

В группах с применением фитосомина патологические изменения выражены в меньшей степени – целостность крипт сохранена, местами отмечаются небольшие участки кровенаполненности сосудов и пролиферации (рис. 20 – В).



А – Лизис ядер извитых канальцев и гиперплазия почечных клубочков у крысы 4 группы



В – Незначительная гиперплазия и лимфоидная пролиферация почечных клубочков у крысы 2 группы

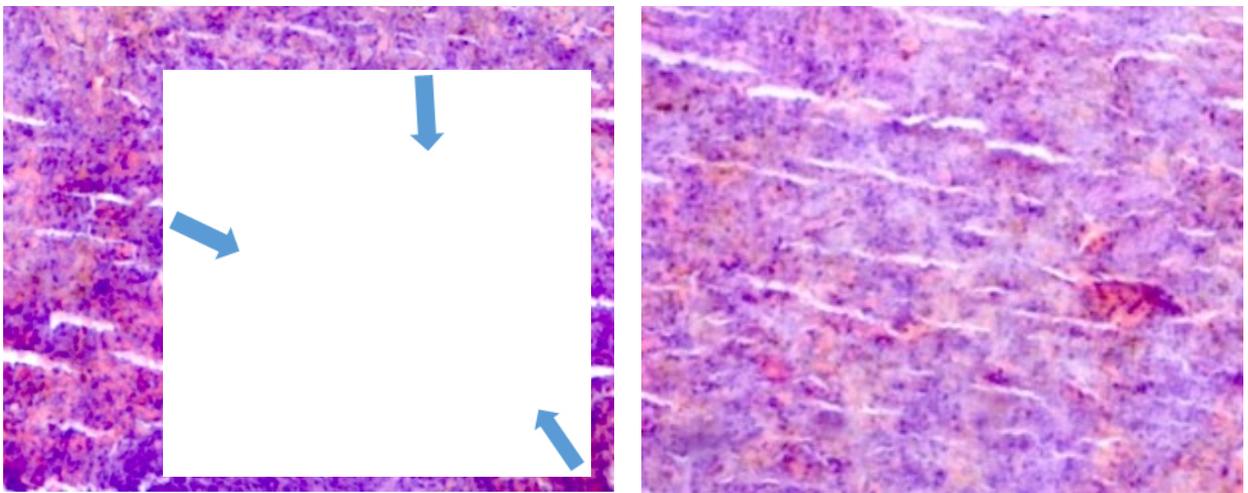
Рисунок 21 – Гистологическая картина структуры почек крыс

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40.

Патологические изменения в почках крыс 4 группы характеризовались участками лизиса ядер в клетках извитых канальцев, гиперплазией почечных

клубочков и нарушением архитектоники органов (рис. 21 – А). В то время как в группах с применением лечения патологические изменения менее выражены и представлены лимфоидной пролиферацией почечных клубочков и кровенаполненностью сосудов почек (рис. 21 – В).

При гистологическом исследовании селезенки в группе без лечения у животных отмечается лимфоидная пролиферация, способствующая гиперплазии органа (рис. 22 – А). В группах с применением препарата фитосомин целостность красной и белой пульпы сохранена, но местами отмечается кровенаполненность сосудов (рис. 22 – В).



А – Лимфоидная пролиферация красной пульпы в селезенке крысы группы без лечения

В – Ткань селезенки крысы из группы с применением фитосомина.

Рисунок 22 – Сравнительная гистологическая картина селезенки крыс

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40.

В результате проведенных исследований установлено, что применение фитосомина лабораторным крысам приводит к ослаблению токсического действия гидразина как на организм в целом, так и на отдельные органы. Применение препарата при экспериментальном поражении печени гидразином улучшает показатели сохранности и динамику клинического состояния животных, стимулирует процессы регенерации гепатоцитов и снижает выраженность патологических изменений в кишечнике, почках и селезенке крыс. Кроме этого, у животных с применением лечения отмечается улучшение

морфо-биохимических показателей крови, оптимизация ПОЛ, а также состояния внутренних органов, что подтверждено результатами лабораторного анализа крови, УЗ-исследованиями, патологоанатомическим вскрытием и гистологическими исследованиями. В результате проведенных исследований было установлено, что эффективная доза фитосомина составила 0,5 г/кг массы тела. Полученные результаты обозначили перспективы применения препарата фитосомин в ветеринарной практике при поражениях печени, а также общих интоксикациях организма животных.

3.3.2 Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальном микотоксикозе цыплят-бройлеров

Для изучения фармакологических свойств фитосомина экспериментально воспроизводили микотоксикоз у цыплят-бройлеров. Предварительно в отделе эпизоотологии, микологии и ВСЭ Краснодарского НИВИ проведены мониторинговые исследования кормов: микологические – согласно «Методическим указаниям по выделению и количественному учету микроскопических грибов в кормах, кормовых добавках и сырье для производства кормов»; микотоксикологические – методом иммуноферментного анализа (по методикам, разработанным ВНИИВСГЭ).

Таблица 23 – Результаты микологического исследования корма

Наименование показателя	Содержание в корме
<i>Aspergillus flavus</i>	20000
<i>Penicillium</i> sp.	-
<i>Aspergillus nidulans</i>	-
<i>Aspergillus niger</i>	10000
<i>Fusarium</i> sp.	12000
<i>Mucor</i> sp.	14000
<i>Alternaria</i> sp.	-
<i>Candida</i> sp.	-
Дрожжеподобные грибы	-

По результатам лабораторных исследований отобран образец корма, содержащий микроскопические грибы *Aspergillus flavus* в количестве $2,0 \times 10^4$, *Aspergillus niger* – $1,0 \times 10^4$, *Fusarium sp.* – $1,2 \times 10^4$, *Mucor sp.* – $1,4 \times 10^4$ (табл. 23).

Данный образец корма был контаминирован микотоксинами с содержанием афлатоксина В1 – 0,009 мг/кг, Т-2 токсина – 0,06 мг/кг и ДОН – 1,24 мг/кг (табл. 24) и в экспресс-тесте на стилонихиях проявил токсичность.

Таблица 24 – Результаты микотоксикологического исследования корма

Наименование показателя	Содержание в корме	МДУ микотоксинов для птицы, мг/кг
Афлатоксин В1, мг/кг	0,009	0,05
Т-2 токсин, мг/кг	0,06	0,1
Зеараленон, мг/кг	-	1,0
ДОН, мг/кг	1,24	2,0
Охратоксин А, мг/кг	-	0,05
Фумонизин В1, мг/кг	-	5,0

Для опыта отобрали 30 цыплят-бройлеров кросса КОББ-500 в месячном возрасте с массой тела $1861,1 \pm 5,8$ г, разделенных по принципу пар-аналогов на 3 группы по 10 голов в каждой: две опытные и одна контрольная. Птицу разместили в условиях вивария Краснодарского НИВИ, предварительно она прошла карантин и не имела внешних признаков заболеваний. Поение цыплят осуществлялось из автоматических поилок – в свободном доступе, содержание – клеточное. При моделировании микотоксикоза цыплятам-бройлерам 1 и 2 опытных групп в течение двух недель скармливался контаминированный микотоксинами корм. В 3 контрольной группе птица была интактной и получала только доброкачественные корма.



Рисунок 23 – Клинические признаки микотоксикоза у цыплят-бройлеров

На 8 день скармливания контаминированного микотоксинами корма у цыплят-бройлеров 1 и 2 опытных групп появились первые клинические признаки заболевания – птица угнетена, оперение взъерошено, сидит нахохлившись, глаза прикрыты (рис. 23).

С этого момента (т.е. с 8 суток эксперимента) птице 1 опытной группы ежедневно в течение двух недель начали применять препарат фитосомин, который смешивали с токсичным кормом и задавали групповым способом в дозировке 10 г/кг корма. Птица 2 опытной группы продолжала получать только токсичный корм. На 15 сутки опыта прекратили кормление токсичным кормом, после чего 1 опытная группа продолжала получать фитосомин еще 7 суток, а 2 опытная группа содержалась на обычном рационе с использованием качественных кормов. Схема опыта представлена в таблице 25. За цыплятами-бройлерами ежедневно на протяжении всего опыта велось клиническое наблюдение и проводился учет массы тела – в начале, затем каждые 7 дней (на 7, 14 и 21 сутки) эксперимента. Кровь цыплят-бройлеров (у 5 из каждой группы) исследовалась на 10 и 21 сутки опыта с оценкой биохимических показателей, включающих содержание продуктов перекисного окисления липидов. По окончании опыта после эвтаназии проводилось патологоанатомическое вскрытие цыплят-бройлеров.

Таблица 25 – Схема опыта по изучению фармакологических свойств фитосомина при микотоксикозе цыплят-бройлеров

Группы (n=10)		Условия эксперимента	
1 опытная	Интоксикация	Птице скармливали токсичный корм в течение 14 дней, содержащий микотоксины: афлатоксин В1 – 0,009 мг/кг; Т-2 токсин – 0,06 мг/кг; ДОН – 1,24 мг/кг	С момента появления первых симптомов интоксикации применялся фитосомин в дозе 10 г/кг корма в течение 14 дней
2 опытная			Основной рацион
3 контрольная		Здоровая птица на основном рационе	

В результате проведенных исследований установлено, что первые симптомы сочетанного микотоксикоза у цыплят-бройлеров зарегистрированы на 8 сутки опыта – птица угнетена, оперение взъерошено, сидит нахохлившись, глаза прикрыты, плохо реагирует на внешние раздражители, у некоторых особей из группы отмечалась диарея на фоне потребления недоброкачественного корма. К 12 суткам у цыплят из 1 группы на фоне применения фитосомина стали заметны улучшения клинического статуса, в то время как во 2 группе продолжали нарастать симптомы интоксикации. К 15 суткам опыта в 1 группе внешние признаки интоксикации у птицы практически отсутствовали (у некоторых особей сохранялось снижение аппетита и угнетение), к концу опыта внешних признаков интоксикации не было. Во 2 группе симптомы продолжали нарастать вплоть до конца опыта – отдельные особи отказались от корма, отмечалось выраженное угнетение, отсутствие реакции на внешние раздражители, наблюдалась повышенная саливация с густой и мутной слюной, практически у всей группы фиксировалась диарея, у некоторых цыплят в ротовой полости отмечалось отложение фибрина, также отмечался цианоз слизистых оболочек и производных кожи, что свидетельствует о значительном поражении организма микотоксинами.

На 12 и 16 сутки опыта во 2 группе зафиксирован падеж 2 цыплят, сохранность в группе за весь период составила 80%, в то время как в 1 группе – 100 %.

Гравиметрические исследования (табл. 26) выявили снижение массы тела цыплят-бройлеров опытных групп при развитии микотоксикоза. Так, в связи с интоксикацией организма птицы достоверное ($p \leq 0,05$) снижение массы тела цыплят-бройлеров на 7 день опыта составило в 1 группе – 12,3 %, а во 2 группе – 12,5 % в сравнении с контролем. Затем на 14 сутки опыта в 1 группе, получавшей фитосомин, показатели массы тела стали увеличиваться, и разница с контролем составила 7,2 %. В то время как во 2 группе разница с интактной птицей стала больше, составив 18,2 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 26 – Влияние фитосомина на динамику массы тела цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе ($M \pm m$; $n=10$)

Группы	Масса тела, г			
	Фон	7 сутки	14 сутки	21 сутки
1 опытная	1847,1±9,3	2434,9±19,1*	3074,7±29,3	3816,5±25,9
2 опытная	1874,6±10,6	2428,6±21,4*	2709,3±23,1*	3378,7±39,2
3 контрольная	1861,6±11,8	2776,4±25,7	3313,5±21,6	3953,9±27,1

Примечание: различия достоверны ($*p \leq 0,05$) относительно контроля

В конце опыта после курса применения фитосомина и отмены применения токсичного корма масса тела цыплят-бройлеров в 1 группе отличалась относительно контроля на 3,4 %, а во 2 группе – на 14,5 % ($p \leq 0,05$). На 21 сутки опыта разница в показателях массы тела цыплят между 1 и 2 группами составила 12,9 % в пользу птицы, получавшей фитосомин.

Применение цыплятам-бройлерам препарата на фоне микотоксикоза сопровождалось положительной динамикой ряда биохимических показателей крови (табл. 27). Установлено, что фитосомин оказал положительное влияние на структурно-функциональное состояние печени.

Так, в опытных группах на 10 сутки опыта отмечено достоверное ($p \leq 0,01$) повышение АлАт при разнице контролем: в 1 группе – 54,2 %; во 2 группе – 56,7 %. Гиперферментемия связана с разрушением цитоплазматической мембраны гепатоцитов и высвобождением АлАт. В дальнейшем на фоне применения препарата активность фермента в 1 группе стала снижаться, и на 21 сутки опыта разница с контролем составила 11,9 % ($p \leq 0,05$), в то время как во 2 груп-

пе без лечения – 81,7 % ($p \leq 0,01$). Таким образом, к концу эксперимента снижение АлАт в 1 группе относительно 2 группы составило в 1,6 раз. При исследовании активности АсАт в крови наблюдалась аналогичная динамика, поскольку на 10 сутки опыта показатели в 1 группе были больше контроля на 15,5 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе – на 17,6 % ($p \leq 0,01$). На 21 сутки опыта уровень в 1 группе стал снижаться, и разница с контрольной группой составила 7,5 %, в то время как во 2 группе отмечалось увеличение показателей АсАт при разнице в 28,6 % ($p \leq 0,05$). Следовательно, применение фитосомина позволило снизить активность АсАт в крови на 16,5 % в сравнении со 2 группой.

Таблица 27 – Влияние фитосомина на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1 опытная (фитосомин)	2 опытная (без лечения)	3 контрольная (интактные)
	14 сутки		
АсАт, Ед/л	315,9±6,3*	321,7±4,7**	273,5±5,1
АлАт, Ед/л	36,7±1,36**	37,3±2,12**	23,8±0,98
Кальций, ммоль/л	2,3±0,17	2,2±0,11	2,6±0,15
Холестерин, ммоль/л	3,7±0,16	3,8±0,15	4,0±0,19
Креатинин, мкмоль/л	19,8±0,45	20,4±0,74	18,4±0,55
Глюкоза, ммоль/л	11,5±0,33*	10,8±0,21*	15,7±0,42
Фосфор, ммоль/л	2,29±0,05	2,39±0,06	2,26±0,08
Общий белок, г/л	40,9±0,19	37,7±0,11*	43,7±0,24
Триглицериды, ммоль/л	0,67±0,09	0,71±0,12	0,69±0,06
Мочевая кислота, ммоль/л	540,3±7,28	531,8±6,32	526,9±4,21
	21 сутки		
АсАт, Ед/л	289,6±9,7	346,7±5,2*	269,5±7,4
АлАт, Ед/л	28,2±1,27*	45,8±1,19**	25,2±1,33
Кальций, ммоль/л	2,5±0,15	1,9±0,09**	2,7±0,11
Холестерин, ммоль/л	3,9±0,09	3,7±0,07	3,8±0,11
Креатинин, мкмоль/л	19,7±0,56	19,9±0,34	18,7±0,53
Глюкоза, ммоль/л	14,6±0,15	9,9±0,11**	15,4±0,21
Фосфор, ммоль/л	2,33±0,07	2,37±0,04	2,32±0,03
Общий белок, г/л	42,7±0,24	37,6±0,16**	43,9±0,35
Триглицериды, ммоль/л	0,7±0,08	0,69±0,11	0,71±0,09
Мочевая кислота, ммоль/л	537,6±5,31	539,5±4,26	532,7±6,32

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) относительно контроля

При интоксикации организма птицы в опытных группах установлено снижение уровня глюкозы в крови. Так, на 10 сутки опыта достоверная ($p \leq 0,05$) разница с контролем в 1 группе составила 26,8 %, а во 2 группе – 31,2 %. Затем на 21 сутки опыта, когда в группе с применением препарата у птицы появился аппетит, разница с контролем в содержании глюкозы в крови уменьшилась и составила 5,2 %. В группе без лечения, наоборот, состояние интоксикации продолжало усугубляться, что сопровождалось отсутствием аппетита у птицы, поэтому разница в уровне глюкозы с интактной группой достоверно возросла и стала равна 35,7 % ($p \leq 0,01$). Применение фитосомина оптимизировало концентрацию глюкозы в крови цыплят при разнице со 2 группой к 21 суткам исследований в 47,5 %.

Показатели кальция в крови также снижались в опытных группах относительно здоровой птицы. Отсутствие аппетита и нарушение всасывания минералов в организме при микотоксикозе приводит к развитию у птицы алиментарной гипокальциемии. К 10 суткам опыта разница с контролем в 1 группе составила 11,5 %, а во 2 группе без применения лечения – 19,2 % ($p \leq 0,05$). На 21 сутки опыта показатели кальция в крови птицы из 1 группы стали восстанавливаться, и разница с контролем составила 7,4 %, а в группе без применения лечения – 29,6 % ($p \leq 0,01$).

На фоне интоксикации, сопровождающейся диареей, нарушением всасывания питательных веществ и снижением протеинсинтетической функции печени, на 10 сутки исследований отмечено снижение показателей общего белка в обеих опытных группах, разница с контролем составила: в 1 группе – 6,4 %, а во 2 группе – 13,7 % ($p \leq 0,05$). На 21 сутки опыта на фоне приема препарата повышение показателей общего белка в крови цыплят-бройлеров 1 группы свидетельствует об улучшении протеинсинтетической функции печени. В 1 группе уровень общего белка стал увеличиваться и был ниже контроля всего лишь на 2,7 %, в то время как во 2 группе разница составила 14,4 % ($p \leq 0,01$). В результате проведенного эксперимента показано, что применение фитосомина позволило улучшить функциональную активность пе-

чени у птицы 1 группы и увеличить содержание общего белка в крови, при разнице со 2 группой в 13,6 %

Влияние фитосомина на концентрацию продуктов ПОЛ в крови цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Влияние фитосомина на концентрацию продуктов ПОЛ в крови цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1 опытная (фитосомин)	2 опытная (без лечения)	3 – контроль (интактные)
	10 сутки		
ДК, ед. оп. пл./мг липидов	0,743±0,08**	0,765±0,05***	0,535±0,09
КД, ед. оп. пл./мг липидов	0,761±0,06*	0,798±0,04*	0,586±0,08
МДА, мкмоль/л	1,141±0,07	1,167±0,11	1,089±0,09
21 сутки			
ДК, ед. оп. пл./мг липидов	0,596±0,05	0,796±0,04***	0,539±0,06
КД, ед. оп. пл./мг липидов	0,674±0,07*	0,824±0,06**	0,601±0,05
МДА, мкмоль/л	1,175±0,12	1,482±0,011*	1,083±0,14

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$) относительно контроля

Установлено, что в середине эксперимента в опытных группах отмечалось выраженное увеличение первичных продуктов ПОЛ, однако, разница между опытными группами была незначительная. При этом разница с контролем составила: в 1 группе ДК – 38,9 % ($p \leq 0,01$), КД – 29,9 % ($p \leq 0,05$) и МДА – 4,8 %; во 2 группе ДК – 43 % ($p \leq 0,001$), КД – 36,2 % ($p \leq 0,05$) и МДА – 7,2 %. На 21 сутки эксперимента значения первичных продуктов ПОЛ в 1 группе снизились, и разница с контролем составила по ДК – 10,6 % и КД – 12,1 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе сохранялась тенденция к повышению ДК – на 47,7 % ($p \leq 0,001$) и КД – на 37,1 % ($p \leq 0,01$).

Концентрация вторичных продуктов ПОЛ, представленных МДА, к концу опыта во 2 группе увеличилась на 36,8 % ($p \leq 0,05$), а в 1 группе – на 8,5 % относительно контроля. На 21 сутки исследований показатели продук-

тов ПОЛ в 1 группе были меньше значений 2 группы: ДЖ – на 25,1 %; КД – на 18,2 %; МДА – на 26,1 %.

При патологоанатомическом вскрытии павшей птицы из 2 опытной группы было установлено – истощение трупов, тусклость и взъерошенность перьевого покрова, цианоз производных кожи и самой кожи. Основные патологоанатомические изменения наблюдались со стороны пищеварительной системы. Так, на слизистой ротовой полости присутствуют некротические поражения и отложения фибрина, слизистая гиперемированна, а местами цианотичная (рис. 24).



Рисунок 24 – Внешние признаки микотоксикоза у цыплят-бройлеров

Сердце увеличено в размере, на поверхности перикарда отмечаются точечные кровоизлияния и наложение фибрина, обнаружены обширные серо-белые участки некроза и полнокровие сосудов сердца. При разрезе сердца видимых макроскопических патологических изменений не выявлено (рис. 25).

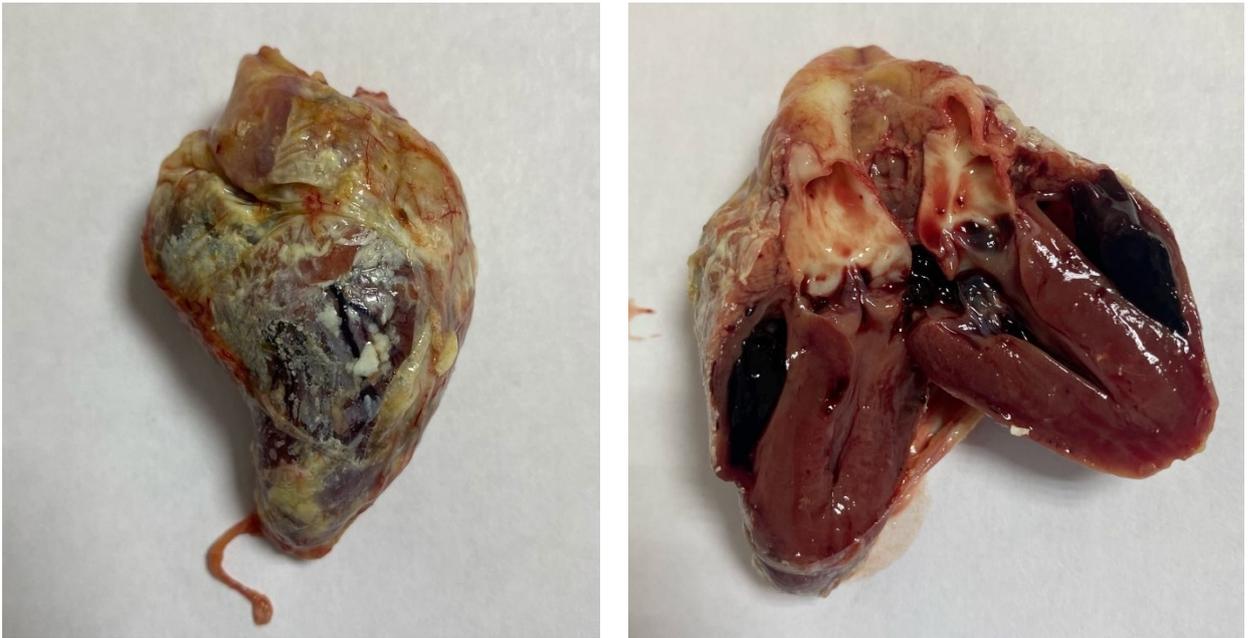


Рисунок 25 – Сердце павшей птицы при микотоксикозе

Печень гладкая, бордово-коричневого цвета, местами имеет белую зернистость, на некоторых участках серо-зеленого окраса с участками некроза, капсула истончена, местами целостность ее нарушена. Желчный пузырь переполнен, содержимое желтовато-зеленого цвета (рис. 26).



Рисунок 26 – Печень павшей птицы при микотоксикозе

В результате патологоанатомического вскрытия, проведенного после эвтаназии цыплят-бройлеров в конце опыта, сравнивали внутренние органы птицы из опытных групп и контрольных аналогов.

При визуальной оценке органов дыхательной системы выраженных патологоанатомических изменений макроскопически не установлено. Сердце птиц во 2 группе аналогично павшим цыплятам-бройлерам было увеличено в размере, коронарные сосуды расширены, однако фибриновых отложений и некроза не установлено. У птиц с применением фитосомина явных изменений не установлено. Во 2 группе отмечались выраженные признаки гиперплазии селезенки – спленомегалия, капсула целостная, кровоизлияния отсутствуют. В группе с применением фитосомина селезенка была значительно меньше по размерам, но все же оставалась больше, чем у контрольной птицы.



А – контрольная группа

Б – 1 группа (фитосомин)

В – 2 группа (без фармакокоррекции)

Рисунок 27 – Печень цыплят-бройлеров в конце опыта

На рисунке 27 наглядно видно влияние фитосомина на печень цыплят-бройлеров в условиях экспериментального микотоксикоза, слева направо расположены органы в следующем порядке: контрольная группа – здоровая

птица; 1 группа, где применяли фитосомин; 2 группа, находящаяся без фармакокоррекции. Печень цыплят в контрольной группе имеет темно-коричневый цвет, гладкая, макроскопических изменений не выявлено.

Печень птицы из 1 группы имеет неравномерный темно-коричневый цвет с присутствием светлых участков, гладкая, в то время как у птицы из 2 группы печень имеет на капсуле небольшие участки кровоизлияний, целостность нарушена, цвет светло-коричневый, консистенция дряблая.

В тонком кишечнике цыплят из 1 группы отмечается гиперплазия органа, небольшие участки кровоизлияний, признаков экссудации не выявлено. Во 2 группе кишечник гиперплазирован, гиперемирован, с множественными участками кровоизлияниями и выраженным расширением сосудов. Содержимое кишечника представлено геморрагическим экссудатом (Рис. 28). В других внутренних органах выраженных макроскопических изменений при патологоанатомическом вскрытии не выявлено.



А – Двенадцатиперстная кишка птицы из 1 группы



Б – Двенадцатиперстная кишка птицы из 2 группы

Рисунок 28 – Сравнительная морфологическая картина тонкого отдела кишечника цыплят из опытных групп

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение фитосомина при экспериментальном сочетанном микотоксикозе у цыплят-бройлеров улучшает клинический статус птицы, оказывает нормализующее влияние на морфо-биохимические показатели крови, снижает концентрацию

продуктов перекисного окисления липидов, минимизирует развитие патологических изменений во внутренних органах, что приводит к повышению показателей приростов массы тела и сохранности птицы.

Полученные результаты подтверждают целесообразность применения препарата фитосомин в качестве гепатопротекторного, метаболического и антиоксидантного средства при токсикозах цыплят-бройлеров, вызванных попаданием метаболитов плесневых грибов в организм птицы.

3.3.3. Изучение фармакологических свойств фитосомина при экспериментальной аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров

Эффективность выращивания цыплят-бройлеров существенно зависит от созданных зоогигиенических условий, в том числе от содержания вредных газов в окружающей среде. К фактору с активным негативным воздействием на организм птицы относится аммиак, повышенные концентрации которого часто наблюдаются в птичниках при напольном способе содержания поголовья. При увеличенной влажности и сниженной температуре воздуха аммиак растворяется в конденсате, адсорбируется стенами, предметами оборудования и подстилкой, а при высокой температуре окружающей среды и пониженном атмосферном давлении происходит обратное выделение аммиака в воздух. Аммиачная интоксикация служит причиной снижения сохранности и резистентности птицы, что в свою очередь, влияет на продуктивность поголовья в целом. Детоксикация аммиака в организме осуществляется преимущественно в митохондриях гепатоцитов за счет связывания в орнитиновом цикле с аминокислотами и образованием нетоксичной мочевины. Таким образом, печень имеет основную роль в обезвреживании аммиака.

С учетом этого в рамках доклинических исследований по оценке фармакологических свойств фитосомина в модельных опытах экспериментально воспроизводили аммиачную интоксикацию у цыплят-бройлеров.

Для опыта отобрали 30 цыплят-бройлеров кросса РОСС 308 со средней массой тела $448,5 \pm 7,31$ г, которых в двухнедельном возрасте разместили в условиях вивария Краснодарского НИВИ, где птица содержалась в одноярусных клеточных батареях с сетчатым полом, желобковыми (наружными) кормушками, вакуумными и ниппельными поилками. Условия содержания и кормления – световой и температурный режим, влажность, плотность посадки, полнорационные комбикорма соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2005). Цыплят-бройлеров разделили на 3 группы по 10 голов в каждой, схема опыта представлена в таблице 29.

Таблица 29 – Схема опыта по изучению фармакологических свойств фитосомина при аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров

Группы (n=10)		Условия эксперимента	
1 опытная	Интоксикация	Птицу помещали в установку и подавали аммиак в концентрации 300 мг/м^3 (ПДУ $10\text{--}15 \text{ мг/м}^3$) в течение 30 минут	Фитосомин в дозе 10 г/кг корма – за 14 дней до интоксикации
2 опытная			Основной рацион
3 контрольная (интактные)		Здоровая птица на основном рационе	

Изучение фармакологических свойств фитосомина на цыплятах-бройлерах проводили следующим образом: птице 1 опытной группы на протяжении 14 дней превентивно задавали фитосомин в дозировке 10 г/кг корма; 2 опытная и 3 интактная группы содержались на обычном рационе. На 14 день цыплят из 1 и 2 групп размещали в установке, куда поступал аммиак в дозировке 300 мг/м^3 (ПДУ $10\text{--}15 \text{ мг/м}^3$) (рис. 29).

Концентрацию аммиака, которая достигла устойчивого состояния в течение 3 минут, контролировали и удерживали в пределах установленной дозы в течение 30 минут. Измерение концентрации аммиака проводилось с помощью газосигнализатора КОМЕТА серии ИГС – 98.



Рисунок 29 – Процесс моделирования аммиачной интоксикации у цыплят-бройлеров

Степень интоксикации оценивали по клиническим признакам и времени их проявления, также проводился учет массы тела птицы сразу после процедуры, а затем на 2 и 3 сутки после интоксикации. Кровь цыплят-бройлеров (по 5 особей из каждой группы) исследовалась в 1 день после аммиачной интоксикации, а также в последующие 2 и 3 сутки. Данные сравнивались со значениями птицы 3 интактной группы. В конце опыта – на 3 день после аммиачной интоксикации – было проведено патологоанатомическое вскрытие птицы с последующим гистологическим исследованием.

По результатам проведенного опыта установлено, что первые клинические признаки интоксикации у цыплят из опытных групп проявлялись уже на 5 минуте и характеризовались частыми морганиями вследствие раздражающего действия паров аммиака на слизистую оболочку глаз, также птица запрокидывала голову вверх и трясла ей. На 14 минуте во 2 группе стали проявляться одышка, кашель и дыхание через открытый клюв, отмечались хрипы при дыхании и частые чихания, веки были гиперемированы. В то время как в 1 группе (с применением фитосомина) только к 21 минуте стали проявляться основные симптомы интоксикации, характеризующиеся одышкой и ды-

ханием через открытый клюв, затем к 27 минуте от начала затравки клинические симптомы интоксикации в 1 группе стали идентичны с птицей 2 группы.

В течение 3 суток наблюдений за птицей после проведения экспериментальной аммиачной интоксикации было установлено, что в 1 группе снижение признаков токсикоза происходило значительно быстрее, чем во 2 группе. Так, уже через сутки у цыплят, которые получали фитосомин, стал проявляться аппетит, птица начала реагировать на внешние раздражители, в то время как у цыплят из 2 группы сохранялись симптомы интоксикации и на 2–3 сутки после эксперимента.

По результатам исследований составлен график динамики массы тела, на основании результатов пяти взвешиваний цыплят-бройлеров: в начале опыта; на 14 сутки при моделировании аммиачной интоксикации проведено два взвешивания – до и после процедуры; на 2 и 3 сутки после интоксикации (рис. 30). По результатам гравиметрических исследований установлено, что в 1 опытной группе зарегистрирован максимальный прирост массы тела цыплят-бройлеров во все периоды эксперимента. Этот фармакологический эффект препарата, вероятно, связан со значительным количеством поступающих в организм птицы растительных жиров, входящих в состав фитосомина, а также его гепатопротекторной и метаболической активностью.

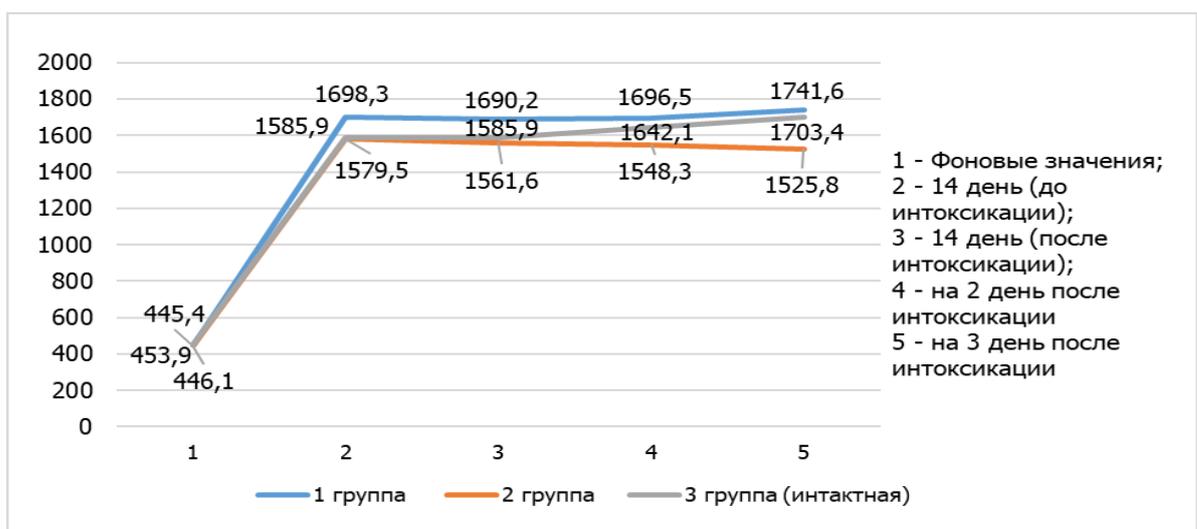


Рисунок 30 – Влияние фитосомина на динамику массы тела цыплят-бройлеров при экспериментальной аммиачной интоксикации (n=10)

После интоксикации аммиаком в этот же день по опытным группам наблюдалось снижение массы тела цыплят: в 1 группе – на 8,1 г (или 0,5 %); во 2 группе – на 17,9 г (или 1,1 %). Затем на 2 сутки после затравки в 1 группе уже регистрировались приросты массы тела, и положительная динамика сохранилась вплоть до конца опыта, в то время как птица из 2 группы характеризовалась отрицательной динамикой показателей массы тела. В конце опыта в 1 группе положительная разница с 3 контрольной группой составила 2,2 %, а во 2 группе в сравнении с интактной птицей масса тела была ниже на 10,4 % ($p \leq 0,05$). Разница между птицей 1 и 2 группами составила 14,1 %.

По результатам, представленным в таблице 30, установлено, что у опытной птицы отмечался умеренный лейкоцитоз, что, по-видимому, связано с воспалительными процессами в организме, вызванными интоксикацией парами аммиака.

В день эксперимента после аммиачной интоксикации показатели 1 группы с применением препарата были больше значений интактного контроля на 23,6 %, а во 2 группе разница составила 35,1 % ($p \leq 0,05$). На 3 сутки показатели лейкоцитов в 1 группе приблизились к значениям контроля (при разнице в 10,3 %), а во 2 группе разница увеличилась до 47,0 % ($p \leq 0,01$).

Также в опытных группах сразу после интоксикации стало увеличиваться количество гетерофилов. Так, в группе без лечения зафиксирован наибольший показатель, и его разница с контролем составила 12,8 % ($p \leq 0,05$), в то время как в 1 группе повышение составило 10,1 % ($p \leq 0,05$). На 2 сутки после интоксикации показатели в 1 группе с применением препарата фитосомин стали снижаться и приблизились к контрольным данным, что связано со снижением медиаторов воспаления на фоне стабилизирующего действия флавоноидов, входящих в состав фитосомина. Таким образом, на 3 сутки после интоксикации показатели в 1 группе практически сравнялись с показателями контрольной группы, в то время как во 2 группе значения ухудшились и были больше контрольной группы на 15,9 % ($p \leq 0,01$).

Таблица 30 – Влияние фитосомина на гематологические показатели цыплят-бройлеров в условиях аммиачной интоксикации ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1 опытная	2 опытная	Контроль
	Сразу после интоксикации		
Лейкоформула, %:			
Эозинофилы	8,98±0,46	9,43±0,51	9,73±0,49
моноциты	6,11±0,52	5,91±0,45	6,02±0,77
лимфоциты	55,82±1,78	54,32±2,09	57,35±2,31
базофилы	4,1±0,26	4,74±0,38	4,21±0,52
гетерофилы	24,99±0,44	25,6±0,32	22,69±0,48
Лейкоциты, 10^9 /л	29,05±0,63	31,76±0,45*	23,5±0,78
Эритроциты, 10^{12} /л	4,8±0,18*	5,1±0,26	2,7±0,21
Гематокрит, %	52,1±1,81	54,4±1,59	43,1±1,79
Гемоглобин, г/л	174,9±2,12**	181,8±1,98*	126,6±2,67
	На 2 сутки		
Лейкоформула, %:			
эозинофилы	9,61±0,54	8,32±0,61	9,90±0,72
моноциты	5,98±0,39	6,06±0,58	6,41±0,65
лимфоциты	56,13±2,49	55,42±1,92	56,78±1,27
базофилы	4,5±0,17	4,2±0,15	3,93±0,19
гетерофилы	23,78±0,35*	26,0±0,41*	22,98±0,56
Лейкоциты, 10^9 /л	27,3±0,39	32,6±0,63	24,1±0,47
Эритроциты, 10^{12} /л	3,9±0,11*	5,7±0,18**	2,5±0,09
Гематокрит, %	49,8±0,72*	55,2±0,47**	42,6±0,65
Гемоглобин, г/л	163,2±3,47*	195,4±1,33***	127,9±2,52
	На 3 сутки		
Лейкоформула, %:			
эозинофилы	9,56±0,39	8,13±0,52	9,92±0,44
моноциты	6,21±0,31	5,84±0,19	6,25±0,28
лимфоциты	57,03±1,82	55,59±0,93	56,96±1,45
базофилы	3,86±0,28	3,43±0,34	3,56±0,26
гетерофилы	23,34±0,73	27,01±0,27**	23,31±0,52
Лейкоциты, 10^9 /л	25,6±0,31	34,1± 0,48**	23,2±0,52
Эритроциты, 10^{12} /л	3,1±0,17	6,0±0,11***	2,6±0,19
Гематокрит, %	47,5±0,56	56,0±0,91**	43,8±1,04
Гемоглобин, г/л	141,8±1,18	194,6±2,29**	132,2±2,22

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$), относительно интактной птицы 3 группы

После интоксикации в крови опытных цыплят увеличилось количество эритроцитов, что связано с активацией красного костного мозга на фоне гипоксемии. Однако, показатели в 1 группе с применением препарата были меньше, чем во второй, разница с контролем составила 77,8 % ($p \leq 0,05$), а во

2 группе – 88,9 % ($p \leq 0,01$). К концу опыта показатели 1 группы практически восстановились и были больше контроля на 19,2 %, в то время как во 2 группе на протяжении 3 дней после интоксикации наблюдалась отрицательная динамика, и разница с контролем составила 130,8 % ($p \leq 0,001$).

Отмечено увеличение гематокрита, что свидетельствует о сгущении крови на фоне интоксикации у цыплят-бройлеров. Показатель гематокрита сразу после интоксикации в сравнении с контрольной группой был повышен в 1 группе – на 20,9 % ($p \leq 0,05$) и во 2 группе – на 26,2 % ($p \leq 0,05$). Однако, на 3 сутки показатели 1 группы стали снижаться и были выше контроля только на 8,4 %, а во 2 группе ситуация была противоположной, и показатели в течение 3 суток продолжали увеличиваться и в итоге разница составила 27,9 % ($p \leq 0,01$).

В опытных группах отмечалось повышение гемоглобина, что связано с реакцией компенсации в условиях снижения кислорода в крови, это еще раз доказывает факт наличия у опытных групп кислородной недостаточности. Так, сразу после интоксикации в 1 и 2 группах показатели гемоглобина были больше контроля на 42,1 % ($p \leq 0,01$) и на 49,2 % ($p \leq 0,05$) соответственно. В конце опыта разница с контролем в 1 и 2 опытных группах составила 12,1 % и 48,5 % ($p \leq 0,01$) соответственно.

Биохимическими исследованиями крови установлено (табл. 31), что сразу после интоксикации концентрация общего белка в крови цыплят 1 группы была ниже относительно контроля на 6 %, а во 2 группе – на 9,9 %. Затем на 2 и 3 сутки в 1 группе, где применялся препарат, показатели протеинового статуса стали оптимизироваться и были ниже, чем в интактном контроле уже на 4,1 % и на 2,2 % соответственно. В то время как во 2 группе значения общего белка на 2 и 3 сутки были достоверно ($p \leq 0,05$) ниже контроля на 12,2 и 13,4 % соответственно. Таким образом, применение фитосомина повышает содержание общего белка на 12,9 % в условиях аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров. Положительная динамика в группе с применением препарата связана с гепатопротекторной активностью входящих в

его состав компонентов. Так, например, флавоноиды расторопши пятнистой стимулируют синтез белков и ферментов в гепатоцитах, стабилизируют их мембрану, предупреждая проникновение токсинов в клетки, ингибируют дистрофические и потенцируют регенеративные процессы в печени.

Таблица 31 – Влияние фитосомина на биохимические показатели цыплят-бройлеров в условиях аммиачной интоксикации ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная
	Сразу после интоксикации		
Общий белок, г/л	34,2±1,19	32,8±0,91	36,4±1,65
Глюкоза, ммоль/л	22,2±0,23*	25,3±0,15***	15,9±0,52
АлАт, Ед/л	16,6±0,18*	17,2±0,21**	13,8±0,24
АсАт, Ед/л	297,1±5,8*	306,2±4,2*	265,1±3,7
Креатинин, мкмоль/л	18,4±1,2	18,6±0,9	18,5±1,3
Мочевая кислота, ммоль/л	486,7±6,21	511,2±3,12**	465,4±5,21
Холестерин, ммоль/л	3,5±0,15	3,7±0,21	3,6±0,17
Триглицериды, ммоль/л	0,88±0,13	0,84±0,15	0,85±0,09
	На 2 сутки		
Общий белок, г/л	35,3±1,17	32,3±0,83*	36,8±1,68
Глюкоза, ммоль/л	13,7±0,22	10,9±0,25*	15,8±0,51
АлАт, Ед/л	15,7±0,85	20,8±0,46**	13,9±0,34
АсАт, Ед/л	288,2±3,4	311,8±4,3*	267,4±5,8
Креатинин, мкмоль/л	18,9±1,3	19,4±0,6	18,3±1,4
Мочевая кислота, ммоль/л	498,3±5,18	536,4±6,23	469,1±5,06
Холестерин, ммоль/л	3,6±0,23	3,9±0,16	3,7±0,19
Триглицериды, ммоль/л	0,85±0,17	0,80±0,09	0,86±0,13
	На 3 сутки		
Общий белок, г/л	35,9±1,23	31,8±0,78*	36,7±1,68
Глюкоза, ммоль/л	14,8±0,31	13,6±0,29*	16,0±0,55
АлАт, Ед/л	15,2±0,66	21,5±0,14***	13,8±0,27
АсАт, Ед/л	275,4±2,9	326,8±3,5**	266,1±3,8
Креатинин, мкмоль/л	18,9±1,5	19,9±0,5	18,4±1,1
Мочевая кислота, ммоль/л	489,5±7,22	561,8±4,15*	463,6±6,79
Холестерин, ммоль/л	3,8±0,12	4,3±0,09*	3,5±0,19
Триглицериды, ммоль/л	0,82±0,08	0,79±0,12	0,84±0,11

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$), относительно интактной птицы 3 группы

Показатели глюкозы после интоксикации резко выросли в опытных группах, что свидетельствует о стрессовой гипергликемии в связи с проведе-

нием экстремальных манипуляций. Так, в 1 группе глюкоза была выше показателей контроля на 39,6 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе – на 59,1 % ($p \leq 0,001$). Через сутки уровень глюкозы резко снизился, что связываем с отсутствием аппетита у птицы, в 1 группе показатели глюкозы регистрировались ниже контроля – на 13,3 %, а во 2 группе – на 31,0 % ($p \leq 0,05$). На 3 сутки показатели углеводного обмена в 1 группе стали восстанавливаться при разнице с контролем в 7,5 %, в то время как во 2 группе снижение составило 15 % ($p \leq 0,05$).

При аммиачной интоксикации установлено изменение активности ферментов АлАт и АсАт. При повреждении клеток ткани печени АлАт является первичным показателем поражения органа и высвобождается в кровоток раньше, чем проявляются первые характерные симптомы. По этой причине повышенные значения данного фермента считаются одним из маркеров повреждения печени. АсАт – это фермент, который находится во всех клетках организма, но главным образом в клетках сердца и печени и в меньшей степени в почках и мышцах. При разрушении клеток внутренних органов или мышц фермент выходит из внутриклеточного пространства в кровоток, и его титр повышается. Показатели АлАт и АсАт считаются двумя наиболее важными биохимическими индикаторами повреждения печени.

Проведенными исследованиями установлено, что после интоксикации аммиаком активность АлАт в опытных группах была выше контроля: в 1 группе – на 20,3 % ($p \leq 0,05$); во 2 группе – на 24,6 % ($p \leq 0,01$). На 2 сутки разница составила в 1 группе – 12,9 %, а во 2 группе прослеживается отрицательная динамика при снижении концентрации на 49,6 % ($p \leq 0,01$). На 3 сутки в 1 группе активность АлАт превышала данные интактного контроля на 10,1 %, что, по-видимому, связано с репарацией тканей печени на фоне применения фитосомина, в то время как во 2 группе (без лечения) поражение печени усугублялось, и разница с контролем составила 55,8 % ($p \leq 0,001$). Аналогичным образом изменялись и значения АсАт: сразу после интоксикации активность увеличились в 1 группе – на 12,1 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе – на 15,5 % ($p \leq 0,05$); на 2 сутки в 1 группе значения были на 7,8 % выше кон-

троля, а во 2 группе – на 16,6 % ($p \leq 0,05$); на 3 сутки показатели в 1 группе отличались от значений контроля всего лишь на 3,5 %, в то время как во 2 группе на 22,8 % ($p \leq 0,01$).

Концентрация креатинина, свидетельствующая о работе почек, сразу после интоксикации в опытных группах оставалась на уровне с показателями контрольной группы, однако, на 2 сутки после интоксикации отмечалось увеличение показателя: в 1 группе разница составила 3,3 %; во 2 группе – 6,0 %. На 3 сутки тенденция повышения концентрации во 2 группе без лечения сохранилась, разница с контролем составила 8,2 %, а в 1 группе с применением препарата концентрация креатинина сохраняла тот же уровень, что и на 2 сутки после интоксикации. Следовательно, эффективность фитосомина в нормализации креатинина составила 5 %.

Концентрация мочевой кислоты в крови птицы значительно увеличилась, что свидетельствует о гипераммониемии на фоне повышенного уровня аммиака во вдыхаемом воздухе, а также в связи с нарушением выделительной функции почек, все это способствует накоплению мочевой кислоты в крови. Так, сразу после интоксикации показатели мочевой кислоты в 1 группе увеличились в сравнении с контролем на 4,6 %, а во 2 группе – на 9,8 % ($p \leq 0,01$). На 2 сутки сохранялась тенденция повышения показателей мочевой кислоты, однако в 1 группе отмечалось менее интенсивное увеличение концентрации, чем во 2 группе. Так, разница с контролем в 1 группе составила 6,2 %, а во 2 группе – 14,3 %. Затем на 3 сутки после интоксикации показатели мочевой кислоты стали снижаться и в 1 группе были уже на 5,6 % больше, чем в контроле, а во 2 группе наоборот достоверно увеличились и были на 21,2 % ($p \leq 0,05$) больше относительно здоровой птицы. Эффективность применения фитосомина в нормализации мочевой кислоты составила 12,9 %.

Повышение холестерина на 3 сутки после интоксикации свидетельствует о нарушении желчевыделительной функции печени, которое возникло на фоне интоксикации организма. Так, отмечена достоверная разница во 2 группе относительно контроля – в 22,9 % ($p \leq 0,05$), в то время как в 1 груп-

пе с применением фитосомина разница составила 8,6 %. Таким образом, препарат способствует снижению токсического влияния паров аммиака на печень, снижая гиперхолестеринемию на 11,6 %.

На 3 сутки после проведения интоксикации отмечено достоверное снижение уровня триглицеридов во 2 группе, что связано с нарушением липидного обмена в печени. Так, разница в сравнении с контролем в 1 группе составила 2,4 %, во 2 группе – 6 % ($p \leq 0,01$).

Процессы, происходящие в организме при интоксикации, приводят к усиленному образованию ПОЛ (табл. 32).

Таблица 32 – Влияние фитосомина на показатели ПОЛ в крови цыплят-бройлеров при интоксикации аммиаком ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	1 опытная	2 опытная	3 контроль
	Сразу после интоксикации		
ДК, ед. оп. пл./мг липидов	0,696±0,04**	0,745±0,03***	0,521±0,02
КД, ед. оп. пл./мг липидов	0,759±0,07*	0,882±0,09*	0,593±0,06
МДА, мкмоль/л	1,152±0,38	1,213±0,42*	1,096±0,25
2 сутки			
ДК, ед. оп. пл./мг липидов	0,651±0,05	0,756±0,05	0,522±0,03
КД, ед. оп. пл./мг липидов	0,734±0,03	0,894±0,03	0,601±0,02
МДА, мкмоль/л	1,151±0,29	1,222±0,14*	1,083±0,06
3 сутки			
ДК, ед. оп. пл./мг липидов	0,598±0,07*	0,769±0,03**	0,520±0,08
КД, ед. оп. пл./мг липидов	0,669±0,04	0,917±0,05***	0,598±0,05
МДА, мкмоль/л	1,108±0,15	1,246±0,27*	1,094±0,22

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$), относительно интактной птицы 3 группы

По результатам проведенного анализа крови видно, что по сравнению с контрольной группой у опытной птицы наблюдается повышение всех определяемых продуктов липопероксидации, при этом наибольшее повышение зарегистрировано во 2 группе. У птицы 1 группы в первые сутки после интоксикации значения ДК, КД и МДА были больше контроля на 33,6 % ($p \leq 0,05$), 28,0 % ($p \leq 0,01$) и 5,1 % соответственно. Во 2 группе разница с контролем была по ДК – 43,0 % ($p \leq 0,001$), КД – 48,7 % ($p \leq 0,05$) и МДА – 10,7 % ($p \leq 0,05$). На 2 сутки после интоксикации показатели в 1 группе стали снижаться, в то время как во 2 группе наоборот увеличились еще больше в срав-

нении с контролем: в 1 группе разница относительно контроля составила по ДК – 24,7 %; КД – 22,1 % и МДА – 6,3 %; во 2 группе ДК – 44,8 %, КД – 48,8 % и МДА – 12,8 % ($p \leq 0,05$). На 3 сутки после интоксикации показатели ПОЛ в 1 группе были незначительно больше контроля: ДК – на 15,0 %; КД – на 11,9 %; МДА – на 1,3 %. А значения во 2 группе превышали контроль: ДК – на 47,9 % ($p \leq 0,01$); КД – на 53,3 % ($p \leq 0,001$); МДА – на 32,2 % ($p \leq 0,05$).

Применение фитосомина позволяет снизить токсическое влияние аммиака на организм птицы, снижая показатели ПОЛ в крови относительно 2 группы: ДК – на 22,2 %, КД – на 27 %, МДА – на 11,1 %.

Для оценки состояния внутренних органов птицы в конце опыта было проведено патологоанатомическое вскрытие 3 особей из каждой группы.

В интактной группе цыплят-бройлеров патологических изменений в состоянии внутренних органов обнаружено не было.

У птицы, подвергнутой интоксикации аммиаком, наиболее выраженные изменения наблюдаются в органах дыхательной и кровеносной систем. Так, в группе с применением фитосомина патологические изменения визуально проявлялись небольшими участками гиперемии в каудальных частях легких, орган при этом не увеличен в размере, однако, на разрезе из легких при надавливании выделялся прозрачный экссудат (рис. 31).



Рисунок 31 – Легкие птицы
1 опытной группы



Рисунок 32 – Легкие птицы
2 опытной группы

Во 2 опытной группе (рис. 32) отмечалась гиперплазия органа, легкие имели дряблую консистенцию, обширные участки кровоизлияния на фоне выраженной гиперемии, местами отмечались очаговые затемнения в виде черно-коричневых масс на поверхности и внутри тканей легких, на разрезе из легких выделялся кровянистый экссудат.

При патологоанатомическом исследовании сердца установлено, что в 2 группе отмечалась кардиомегалия, верхушка органа имела округлую форму, коронарные артерии расширены и полнокровны, на разрезе мышечная ткань инфильтрирована, отмечаются признаки перикардита в виде скопления розоватой прозрачной жидкости под перикардом. В группе с применением фитосомина зарегистрированы незначительные признаки перикардита.

При макроскопическом исследовании остальных органов видимых изменений не обнаружено, что не исключает патологии на клеточном уровне.

По результатам гистологического исследования внутренних органов установлено, что в 1 группе патологические изменения в легких выражены в меньшей степени и характеризуются лимфоидной пролиферацией вокруг сосудов, а некоторые бронхи содержали небольшое количество экссудата. Структура органа в целом сохранена (рис. 33).

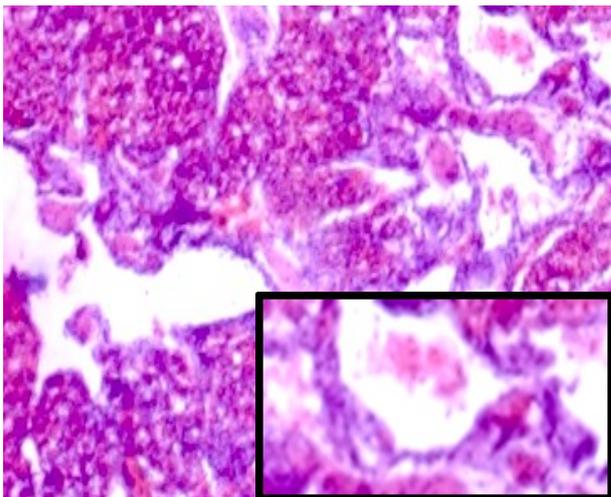


Рисунок 33 – Срез ткани легкого птицы 1 группы

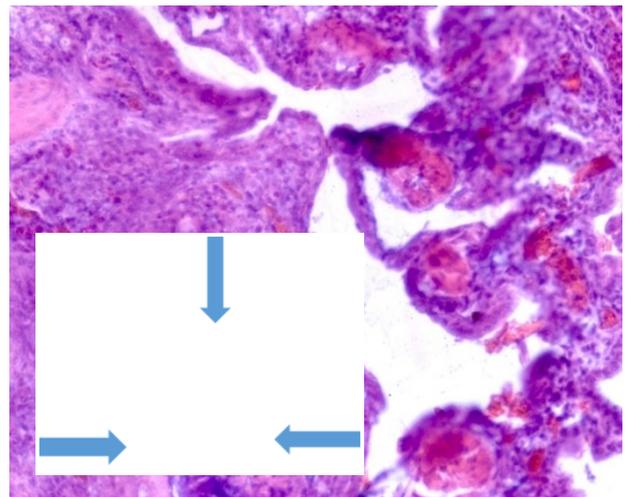


Рисунок 34 – Срез ткани легкого птицы 2 группы

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40

Во 2 группе без применения препарата в ткани легких отмечались пролиферативные изменения в виде множественных скоплений лимфоцитов вокруг бронхиол и сосудов, отмечались небольшие участки безъядерной массы легочной ткани, характерные для некроза. В просвете некоторых бронхов находился геморрагический экссудат (рис. 34).

При гистологическом исследовании сердца в группе с применением фитосомина участки пролифератов наблюдались в небольшом количестве и не во всех полях зрения, структура органа в обеих группах сохранена (рис. 35). Во 2 группе отмечались признаки полнокровия сосудов сердца и обширных участков лимфоидной пролиферации (рис. 36).

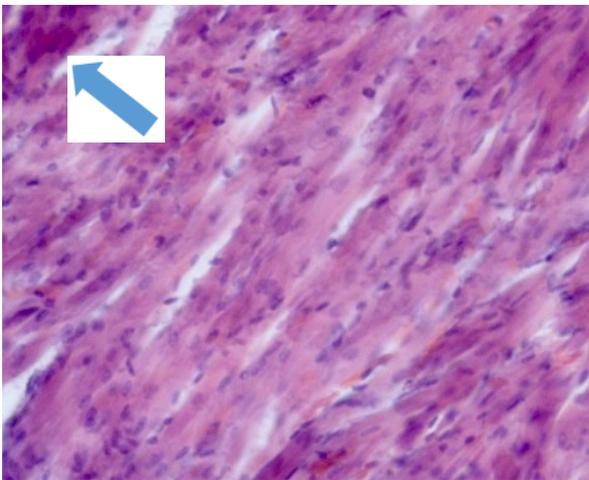


Рисунок 35 – Срез ткани сердца
птицы 1 группы

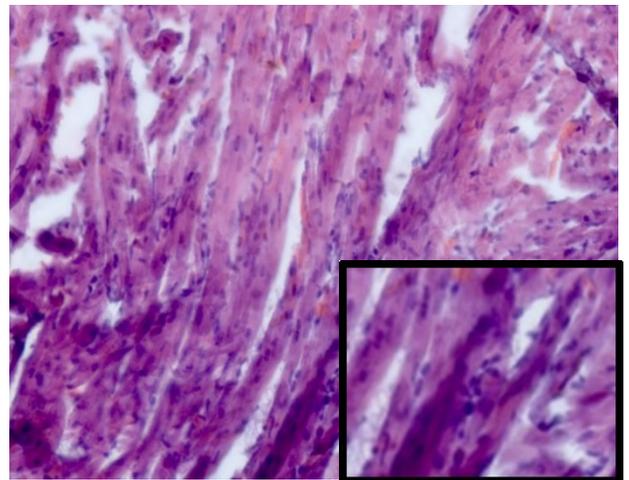


Рисунок 36 – Срез ткани сердца
птицы 2 группы

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40

В ткани печени птицы 1 группы установлены признаки гепатита, сопровождающиеся небольшими участками лимфоидной пролиферации вокруг сосудов (рис. 37). Во 2 группе зарегистрированы более выраженные признаки гепатита, характеризующиеся множественными пролифератами лимфоцитов в паренхиме печени, особенно вокруг сосудов и желчных протоков. Также отмечалась кровенаполненность сосудов печени (рис. 38). В обеих группах отмечалось отложение гемосидерина.

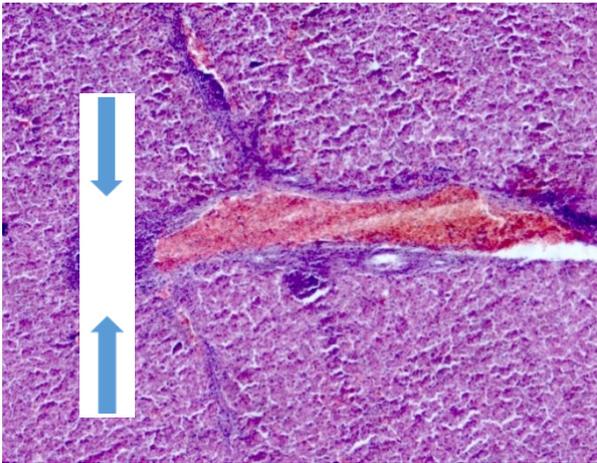


Рисунок 37 – Гистологическая картина печени птицы 1 группы

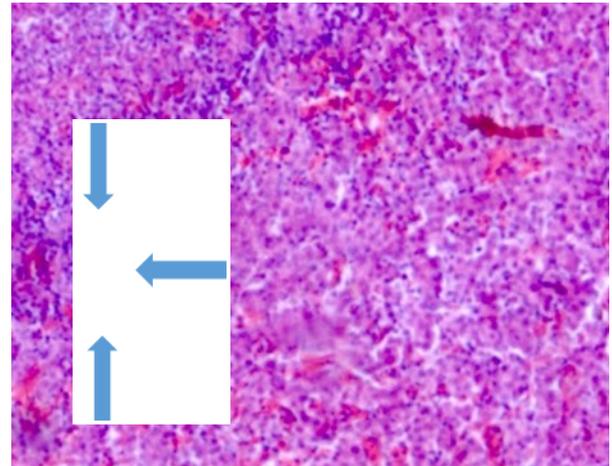


Рисунок 38 – Гистологическая картина печени птицы 2 группы

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40

В ткани селезенки у птиц 1 группы лимфоидная пролиферация выражена в меньшей степени относительно 2 группы, где отмечались обширные участки инфильтрации красной и белой пульпы, характеризующиеся скоплением дегенерированных лимфоцитов и нейтрофилов (рис. 39 и 40).

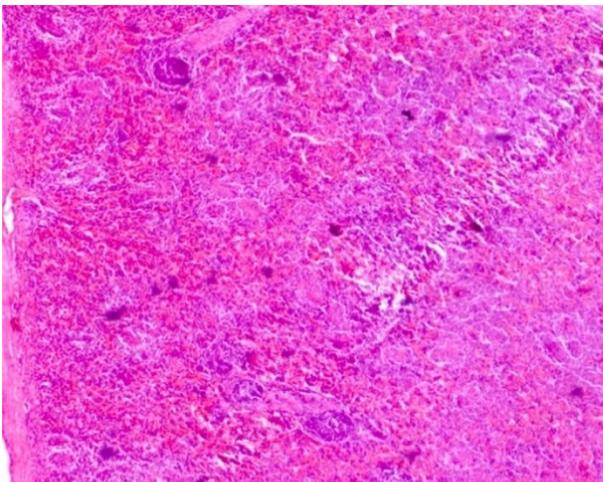


Рисунок 39 – Гистологическая картина селезенки птицы 1 группы

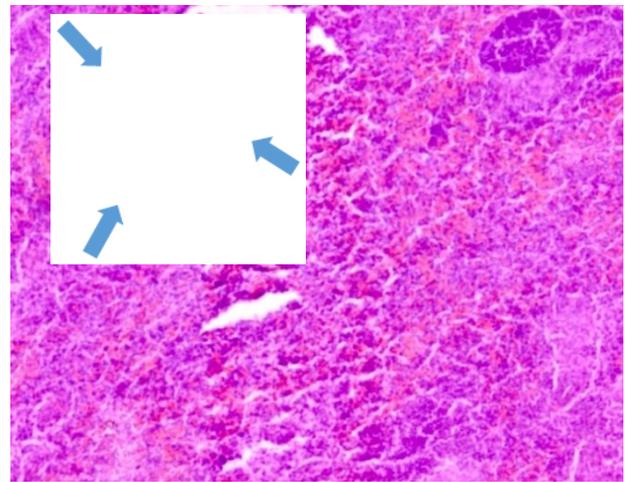


Рисунок 40 – Гистологическая картина селезенки птицы 2 группы

Окраска гематоксилин-эозином, окуляр x 10, объектив x 40.

При гистологическом исследовании остальных органов опытных групп явных патологических изменений не выявлено, однако в слизистой оболочке мышечного желудка, железистого желудка и тонкого отдела кишечника отмечались небольшие участки пролиферации лимфоидной ткани, свидетельствующие о воспалительной реакции.

Таким образом, установлено выраженное фармакологическое действие фитосомина при экспериментальной аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров. Его превентивное применение позволяет увеличить период проявления клинических признаков интоксикации и их выраженность, снизить патологические изменения в морфо-биохимических показателях крови птицы. Подтверждена эффективность фитосомина как средства коррекции свободно-радикального окисления липидов при отравлении цыплят аммиаком. Доказано, что применение препарата при интоксикации обуславливает снижение у птицы альтеративных и экссудативных процессов в органах и тканях [16].

3.3.4 Изучение фармакологических свойств фитосомина при технологическом стрессе цыплят-бройлеров

Промышленное выращивание сельскохозяйственной птицы сопровождается воздействием на организм неизбежных стресс-факторов, и к достаточно распространенному относится стресс при транспортировке. Известно, что стрессовая нагрузка способна вызывать широкий спектр морфофункциональных изменений в организме. Многочисленными исследованиями показано, что одним из главных органов-мишеней стресс-реакции является печень. Стресс может способствовать развитию дегенеративных и деструктивных изменений, застойных явлений, холестаза в печеночной ткани, нарушению репаративных процессов в гепатоцитах и др. В связи с этим возникает необходимость в разработке препаратов, способных уменьшить стрессорную альтерацию и стимулировать восстановительные процессы в печени, а также оказывать многофакторное действие на патогенез стресс-индуцированных нарушений. Для изучения фармакологических свойств препарата фитосомин был проведен опыт, в котором моделировали технологический стресс у цыплят-бройлеров.

Исследования проводились на базе Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии в августе 2021 года. Для опыта методом парных

аналогов было отобрано 30 цыплят-бройлеров кросса РОСС 308, в возрасте 23 суток, которых разделили на 3 группы по 10 голов в каждой: 1 группа – получала фитосомин из расчета 10 г/кг корма в течение 14 суток (7 дней до транспортировки и неделю после), препарат вводили в корм используя технологию многоступенчатого смешивания; птица 2 и 3 групп содержалась на обычном рационе. Цыплята 1 и 2 группы подвергались стрессирующему воздействию посредством транспортировки поголовья в течение 2 часов со скоростью 60 км/ч на расстояние 120 км (в контейнерах с доступом воздуха, без воды и корма, в скученном состоянии). Дополнительным стрессирующим фактором являлась высокая температура окружающей среды в дневное время августа месяца – около 30 °С. Птица 3 группы служила интактным контролем и не участвовала в моделировании технологического стресса. Схема опыта представлена в таблице 33.

Таблица 33 – Схема опыта по изучению фармакологических свойств препарата фитосомин при технологическом стрессе у цыплят-бройлеров

Группы (n=10)	Условия эксперимента	
1 опытная	Транспортировка птицы в течение 2 часов со скоростью 60 км/ч на расстояние 120 км (в контейнерах с доступом воздуха, без воды и корма, в скученном состоянии). Дополнительным стрессирующим фактором являлась высокая температура окружающей среды	Фитосомин в дозе 10 г на кг корма в течение 7 дней до транспортировки и неделю после
2 опытная		Основной рацион
3 контрольная	Интактная птица	

Перед транспортировкой и сразу после нее измеряли физиологические показатели цыплят (температура и дыхание), а также определяли массу тела. Для проведения биохимического и общего анализа крови, включающего определение показателей эндогенной интоксикации и перекисного окисления

липидов, отобрали кровь у 5 голов из каждой группы – через два часа, на третий и на седьмой день после транспортировки.

В результате проведенных исследований установлено, что при транспортировке птица подвергалась воздействию шума, вибрации, высокой температуры окружающей среды, перевозка осуществлялась в клетках при скудном состоянии, без воды и корма, что клинически проявлялось сильным угнетением цыплят-бройлеров. Сразу после транспортировки у птицы 2 группы (без применения препаратов) были зафиксированы наиболее выраженные признаки стрессового состояния: угнетение; бледность гребешка; анемичность слизистых оболочек; учащенное дыхание через открытый клюв; мышечная дрожь. У цыплят из 1 группы отмечалось только учащенное дыхание через открытый клюв, угнетение и незначительная бледность гребешка.

Измерением физиологических показателей установлено, что птица 1 группы, превентивно получавшая фитосомин, была лучше приспособлена к стрессовым нагрузкам. Результаты представлены в таблице 34.

Таблица 34 – Влияние фитосомина на физиологические показатели цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель	Группы		
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная
	До транспортировки		
Температура, °С	41,2±0,08	41,1±0,06	41,2±0,16
Дыхание, чдд	44,7±1,2	45,1±2,1	42,6±1,8
	Сразу после транспортировки		
Температура, °С	41,7±0,11	42,1±0,24	41,3±0,09
Дыхание, чдд	62,2±1,5*	71,5±2,5	43,1±2,3

Примечание: различия достоверны ($*p \leq 0,05$) по отношению ко 2 группе

Температура тела у этих цыплят после транспортировки практически не увеличилась (разница с интактной группой составила 1 %), а во 2 группе показатели повысились на 1,9 %. Частота дыхательных движений в 1 группе увеличилась в сравнении с 3 группой на 44,3 %, а во 2 группе – на 65,9 %. Достоверная разница между 1 и 2 группами составляет 14,9 %.

Анализ данных динамики массы тела цыплят показал, что в 1 группе от начала эксперимента и после 7-дневного применения фитосомина на момент транспортировки был зафиксирован наибольший показатель привесов, составивший 27,2 %, в то время как во 2 группе масса тела бройлеров увеличилась на 15,3 %, а в контроле – на 17,8 %. Данный фармакологический эффект препарата связан не столько с входящими в его состав липидными компонентами, сколько с положительным влиянием на функцию печени, что улучшает метаболизм организма птицы в целом и способствует эффективному набору массы тела. Сразу после моделирования транспортного стресса у опытной птицы отмечалась потеря массы тела: в 1 группе – на 2,3 %; во 2 группе – на 3,8 %. Затем в течение 7 суток во всех группах зарегистрирован положительный прирост массы тела поголовья: на 14 сутки опыта привес по 1 группе за весь период исследований составил 74,3 %; по 2 группе – 56,2 %; в контрольной группе – 68,9 %. Результаты представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Влияние фитосомина на массу тела цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=10$)

Группа	Масса тела, кг					
	Фоновые значения	До транспортировки	Сразу после транспортировки	Через 3 суток	Через 7 суток	Прирост, %
1	1,36±0,07	1,73±0,02**	1,69±0,02	1,98±0,06	2,37±0,04*	74,3
2	1,37±0,05	1,58±0,06	1,52±0,03	1,73±0,07	2,14±0,08	56,2
3	1,35±0,09	1,59±0,05	1,59±0,04	1,86±0,08	2,28±0,06	68,9

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

При воздействии стресс-факторов организм проявляет ответную адаптационную реакцию, которая влечет за собой сдвиги в клеточном составе крови, что нашло подтверждение в результатах исследований (табл. 36).

Таблица 36 – Влияние фитосомина на гематологические показатели цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1	2	3 (контроль)
Через 2 часа после транспортировки			
Лейкоформула, %:			
Эозинофилы	3,73±0,53	2,85±0,64*	4,56±0,42
Моноциты	6,78±0,49	7,04±0,32	6,25±0,28
Лимфоциты	49,76±1,59*	43,78±2,03**	61,35±1,75
Базофилы	5,54±0,32	6,81±0,28*	4,49±0,54
Гетерофилы	34,19±0,47*	39,52±0,55**	23,35±0,42
Лейкоциты, 10^9 /л	25,32±0,73	26,09±0,38	23,73±0,59
Эритроциты, 10^{12} /л	2,71±0,18	2,53±0,31	2,62±0,26
Гематокрит, %	51,16±2,01	55,73±1,74*	43,52±1,15
Гемоглобин, г/л	124,8±2,38	131,1±2,62	127,8±3,72
На 3 сутки			
Лейкоформула, %:			
Эозинофилы	4,56±0,47	4,04±0,54	4,61±0,69
Моноциты	6,23±0,51	6,32±0,63	6,28±0,73
Лимфоциты	55,04±2,12	51,35±1,98*	60,85±1,57
Базофилы	4,61±0,09	4,53±0,17	4,37±0,22
Гетерофилы	29,56±0,35	33,76±0,63*	23,89±0,30
Лейкоциты, 10^9 /л	24,16±0,28	25,52±0,71	23,59±0,67
Эритроциты, 10^{12} /л	2,64±0,17	2,48±0,25	2,73±0,13
Гематокрит, %	45,7±0,61	47,73±0,58	42,91±0,77
Гемоглобин, г/л	126,5±3,49	129,7±1,72	125,6±2,54
На 7 сутки			
Лейкоформула, %:			
Эозинофилы	4,53±0,42	4,08±0,61	4,43±0,37
Моноциты	6,38±0,28	6,56±0,32	6,31±0,18
Лимфоциты	62,26±2,05	58,88±1,88	61,18±1,58
Базофилы	4,07±0,09	4,47±0,16	4,62±0,19
Гетерофилы	22,76±0,68	26,01±0,54	23,46±0,47
Лейкоциты, 10^9 /л	23,03±0,28	23,76±0,35	23,42±0,39
Эритроциты, 10^{12} /л	2,7±0,16	2,6±0,24	2,5±0,08
Гематокрит, %	43,56±0,67	42,81±0,89	43,75±1,12
Гемоглобин, г/л	131,5±3,15	126,9±3,22	129,4±2,37

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Так, через 2 часа после транспортировки в опытных группах отмечалось снижение эозинофилов и лимфоцитов на фоне увеличения моноцитов,

базофилов и гетерофилов в сравнении с интактным контролем. В 1 группе разница составила в уровне эозинофилов – 18,2 % и лимфоцитов – 18,9 % ($p \leq 0,05$). Во 2 группе эозинофилы снизились – на 37,5 % ($p \leq 0,05$) и лимфоциты – на 28,6 % ($p \leq 0,01$). Моноциты увеличились в 1 группе – на 8,5 %, а во 2 группе – на 12,6 %. Уровень базофилов повысился в 1 группе – на 23,4 %, во 2 группе – на 51,7 % ($p \leq 0,05$), а гетерофилов – на 46,4 % ($p \leq 0,05$) и 69,3 % ($p \leq 0,01$) соответственно. При этом максимальные изменения в крови у опытной птицы отмечались в первые 2 часа после транспортировки. К 3 суткам наблюдений направленность лейкоцитарных сдвигов изменилась в противоположную сторону – зарегистрировано снижение общего количества моноцитов, базофилов, гетерофилов на фоне увеличения количества эозинофилов и лимфоцитов. На 7 сутки наблюдений показатели в 1 группе с применением препарата максимально приблизились к значениям контроля, в то время как во 2 группе все еще были отмечены изменения.

Установлено, что во всех опытных группах наблюдалось увеличение показателей гематокрита, что свидетельствовало о сгущении крови. Данные изменения могут быть связаны с обезвоживанием организма на фоне стрессовой реакции, так как птица перевозилась в скученном состоянии в условиях отсутствия воды и еды, при высокой температуре окружающей среды. Так, в 1 группе гематокрит сразу после транспортировки был больше интактного контроля на 17,6 %, а во 2 группе – на 28,1 %. В дальнейшем показатели гематокрита в обеих опытных группах снижались и приближались к значениям контроля, что связано с нормализацией общего состояния цыплят.

Для выявления стресса было просчитано соотношение гетерофилов и лимфоцитов (Г/Л) [1]. В результате анализа данных было установлено, что соотношение Г/Л через 2 часа после транспортировки в 1 группе было равно 0,68, во 2 группе – 0,90, а в 3 контрольной группе – 0,38. Таким образом, наибольшее соотношение Г/Л было выявлено во 2 группе, где значения превысили показатели контроля в 2,4 раза. В группе с применением препарата соотношение увеличилось в 1,8 раза в сравнении с контрольной группой. Ос-

новываясь на полученных данных, мы можем утверждать, что у птиц всех опытных групп, подвергавшихся транспортировке, развивался стресс, наибольшее проявление которого установлено во 2 группе, без применения препарата фитосомин.

В результате биохимического анализа крови у птицы после транспортировки было зарегистрировано увеличение уровня АсАт, АлАт, глюкозы, при этом отмечено снижение концентрации общего белка. Результаты исследования представлены в таблице 37.

Таблица 37 – Влияние фитосомина на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1	2	3
	Через 2 часа после транспортировки		
АсАт, Ед/л	231,8±9,5	245,9±18,3	226,3±11,8
АлАт, Ед/л	15,3±0,19	25,4±0,21*	12,6±0,14
Глюкоза, ммоль/л	16,8±0,14*	21,2±0,23**	11,7±0,12
Общий белок, г/л	36,7±0,58	35,1±0,36	37,3±0,54
На 3 сутки			
АсАт, Ед/л	264,7±11,1	272,5±9,2*	220,6±8,6
АлАт, Ед/л	22,3±1,56*	29,4±1,23**	13,3±1,22
Глюкоза, ммоль/л	13,3±0,35	15,8±0,17*	12,2±0,43
Общий белок, г/л	34,9±1,39	29,7±1,56*	36,3±0,97
На 7 сутки			
АсАт, Ед/л	227,6±9,9	256,9±7,5**	224,4±13,8
АлАт, Ед/л	13,2±1,05	19,8±0,6*	12,5±0,95
Глюкоза, ммоль/л	12,1±0,17	13,4±0,26	11,9±0,39
Общий белок, г/л	36,3±1,68	33,5±0,87*	36,8±1,12

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Установлено, что показатели АсАт и АлАт увеличились на 3 сутки после транспортировки, и соответствующая разница с контролем составила: в 1 группе 20,0 % и 67,7 % ($p \leq 0,05$); во 2 группе – 23,5 % ($p \leq 0,05$) и 121,1 % ($p \leq 0,01$). К концу опыта активность ферментов стала снижаться, и в 1 опытной группе она практически приблизилась к показателям контроля. Разница с интактной птицей на 7 сутки составила: по АсАт в 1 группе – 1,4 %, во 2 группе – 14,5 % ($p \leq 0,01$); по АлАт в 1 группе 5,6 %, во 2 группе – 58,4 %. Изменения в

показателях между опытными группами можно объяснить тем, что цыплята-бройлеры в группе без применения препарата имели более низкий адаптационный потенциал и были больше подвержены воздействию стресса.

Отмечено значительное повышение глюкозы в сыворотке крови сразу после транспортировки, что свидетельствует о воздействии стрессовой реакции на организм птицы и активации фазы тревоги или мобилизации, вследствие чего повышается уровень адренокортикотропного гормона и кортикоидов, увеличивающих уровень глюкозы. В 1 группе через 2 часа после транспортировки достоверная разница с контролем составила 43,6 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе – 81,2 % ($p \leq 0,01$). Через 3 суток наступила фаза резистентности, характеризующаяся восстановлением биохимических показателей до пределов физиологической нормы, тем не менее показатели глюкозы в 1 группе были больше контроля на 9,0 %, а во 2 группе – на 29,5 % ($p \leq 0,05$). В конце опыта разница относительно контрольной группы составила в 1 группе – 1,7 %, во 2 группе – 12,6 %.

Анализируя данные по содержанию общего белка в сыворотке крови цыплят-бройлеров, было зафиксировано снижение показателя на 3 сутки после транспортировки, что, по-видимому, связано с уменьшением аппетита на фоне стрессового состояния птицы и нарушением протеинсинтетической функции печени. Так, показатели общего белка в 1 группе на 3 сутки после стрессовой нагрузки были ниже данных контрольной группы – на 3,7 %, а во 2 группе – на 18,2 % ($p \leq 0,05$). В дальнейшем его концентрация в 1 опытной группе увеличилась и приблизилась к показателям контроля, а во 2 группе разница составила 9,0 % ($p \leq 0,05$).

Для изучения фармакологической активности препарата оценивали уровень эндогенной интоксикации по концентрации молекул средней массы в крови при длине волны $\lambda = 254$ нм (МСМ 254). Изучалась фракция МСМ 254, которая является маркером патологических и токсических реакций в организме. Результаты представлены в таблице 38.

Таблица 38 – Влияние фитосомина на концентрацию МСМ в крови цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы		
	1	2	3
	До транспортировки		
МСМ 254, ед. опт. плотности	0,28±0,005	0,35±0,007	0,32±0,004
Через 2 часа после транспортировки			
МСМ 254, ед. опт. плотности	0,56±0,008*	0,65±0,003**	0,33±0,010
На 3 сутки			
МСМ 254, ед. опт. плотности	0,43±0,004*	0,54±0,006**	0,31±0,009
На 7 сутки			
МСМ 254, ед. опт. плотности	0,31±0,01	0,47±0,012*	0,30±0,007

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

При анализе данных таблицы видно, что в 1 и во 2 опытных группах показатели МСМ 254 после транспортировки увеличились и стали больше значений интактной группы, однако в 1 группе были меньше, чем во 2 группе. Разница значений по опытным группам с интактной птицей сразу после транспортировки составила в 1 группе – 69,7 % ($p \leq 0,05$), а во 2 группе – 97 % ($p \leq 0,01$). В дальнейшем показатели стали снижаться в обеих опытных группах и приближаться к значениям интактной птицы, и на 7 сутки наблюдений разница составила в 1 группе – 3,3 %, а во 2 группе – 56,7 % ($p \leq 0,05$). Эти результаты позволяют оценить антитоксическую эффективность препарата фитосомин, способствующего снижению уровня эндогенной интоксикации в организме птицы на фоне стрессовой нагрузки.

При изучении фармакологических свойств фитосомина при моделировании технологического стресса у цыплят-бройлеров проведена оценка содержания первичных и вторичных продуктов липопероксидации в крови птицы (рис. 41).

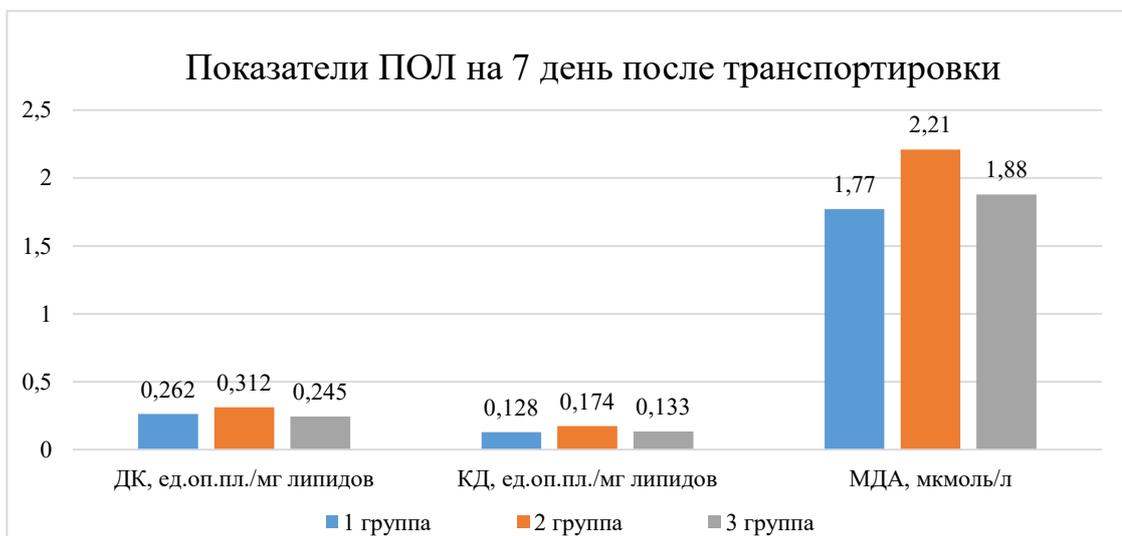
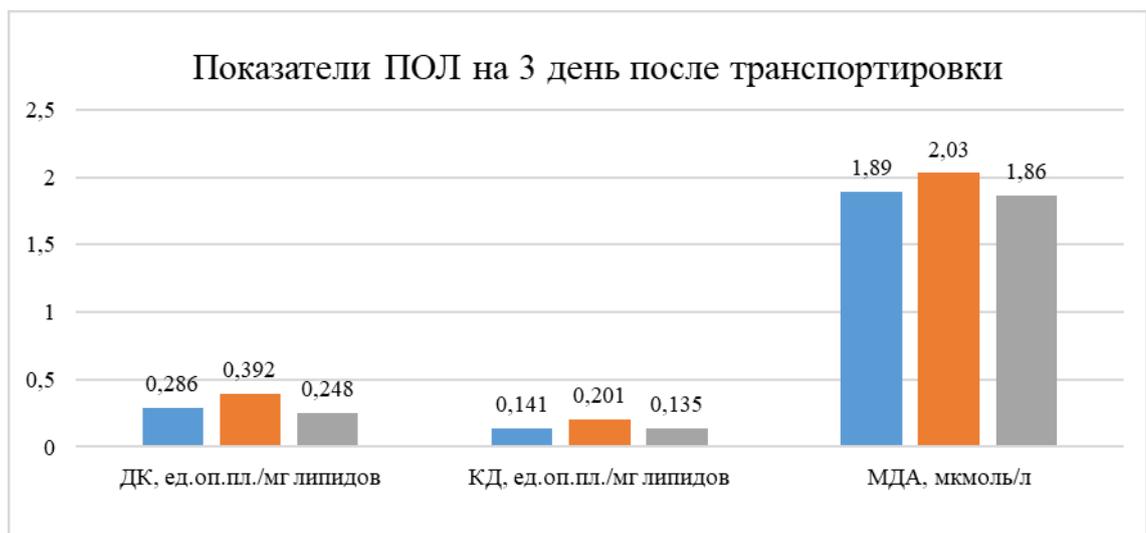
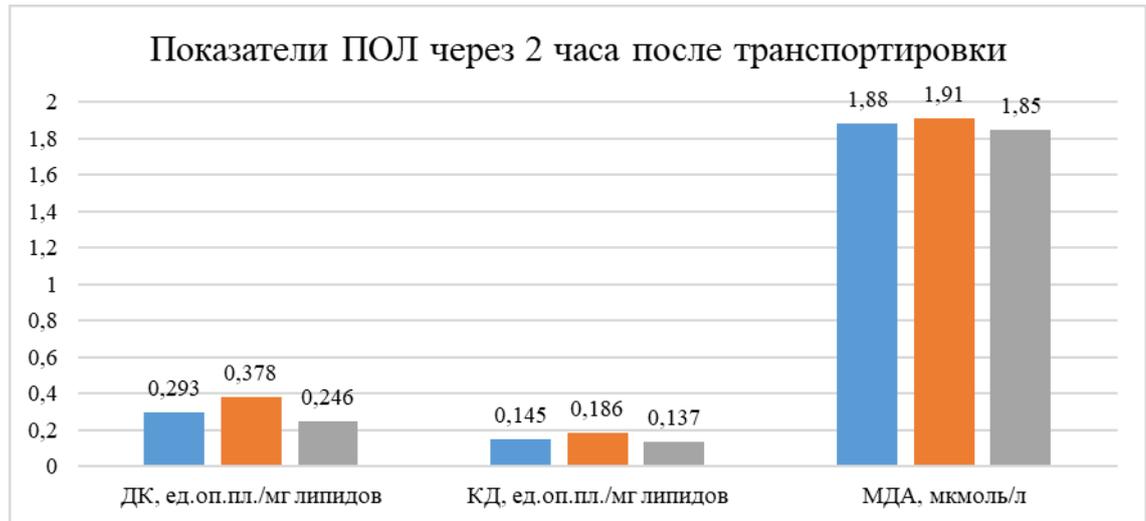


Рисунок 41 – Влияние фитосомина на показатели ПОЛ крови цыплят-бройлеров при технологическом стрессе ($M \pm m$; $n=5$)

Установлено, что после транспортировки наибольший уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ отмечается во 2 группе, в то время как в 1 группе с применением препарата повышение показателей значительно ниже. Через 2 часа после транспортировки уровень продуктов ПОЛ в опытных группах повысился относительно контроля: в 1 группе: ДК – 19,1 %, КД – 5,8 %, МДА – 1,6 %; во 2 группе: ДК – 53,7 % ($p \leq 0,01$), КД – 35,8 % ($p \leq 0,05$), МДА – 3,2 %. Через 3 дня после транспортировки содержание продуктов ПОЛ в 1 группе стало снижаться, в то время как во 2 группе отмечалась обратная тенденция, разница относительно контроля составила: в 1 группе по ДК – 15,3 %, КД – 4,4 %, МДА – 1,6 %; во 2 группе по ДК – 58,1 % ($p \leq 0,05$), КД – 48,9 %, МДА – 9,1 % ($p \leq 0,01$). На 7 сутки опыта уровень ПОЛ в 1 группе по некоторым показателям стал ниже контрольной группы. Например, КД снизились на 3,8 % в сравнении с контрольной группой, МДА – на 5,9 %, а ДК превышали контроль всего лишь на 6,9 %, что свидетельствует о эффективности антиоксидантных свойств препарата, которые позволили снизить концентрацию продуктов ПОЛ в крови. Во 2 группе по первичным продуктам ПОЛ отмечено снижение концентрации, а уровень МДА продолжал увеличиваться, разница с контролем составила: ДК – 27,3 % ($p \leq 0,01$); КД – 30,8 % ($p \leq 0,05$); МДА – 17,6 %. Таким образом, установлена выраженная антиоксидантная активность препарата фитосомин, обуславливающая разницу между опытными группами по ДК – 16 %, КД – 26,4 % и МДА – 19,9 %.

Таким образом, по результатам проведенного исследования установлено, что препарат фитосомин проявляет значительную фармакологическую активность при технологическом стрессе у цыплят-бройлеров. Его применение птице обуславливало снижение клинических проявлений стрессовой реакции, улучшение динамики массы тела, а также оптимизацию показателей крови и состояния печени. Фитосомин снижает накопление продуктов перекисного окисления липидов и токсической фракции молекул средней массы в крови, что благоприятно влияет на весь организм в целом.

3.3.5 Влияние препарата на продуктивные качества и показатели крови цыплят-бройлеров

Внедрение современных препаратов в клиническую практику возможно только при условии детального изучения их фармакологической активности на этапе доклинических исследований. Фармакодинамические исследования необходимы для оценки нежелательных эффектов препаратов, определения диапазона доз, при которых достигается желательный эффект препарата на организм. Наряду с установлением основных фармакодинамических эффектов, обеспечивающих терапевтическую и профилактическую эффективность лекарственных средств, большое значение придается оценке влияния разрабатываемого препарата на жизненно важные функции, выявлению дополнительных фармакодинамических эффектов, то есть проведению общефармакологических исследований.

Для оценки фармакодинамических эффектов фитосомина провели исследования в ООО «Югмельпродукт» на цыплятах-бройлерах кросса «РОСС-308», из которых в 14-суточном возрасте (при переходе с режима кормления «Старт» на «Рост») отобрали 250 голов со средней массой тела $492,5 \pm 7,4$ г. Содержание птицы в хозяйстве – клеточное, при плотности посадки 25 гол/м². Кормление – сбалансированные по энергии питательным и биологически активным веществам (ОР), непосредственно приготовленными в хозяйстве по периодам выращивания цыплят-бройлеров («Старт», «Рост» и «Финиш»). Для исследований цыплят-бройлеров разделили на 5 групп, по 50 голов в каждой. Птица контрольной группы содержалась на основном рационе (ОР), в опытных группах – в ОР вводили фитосомин в разных дозах и препарат сравнения вплоть до убоя. В качестве препарата сравнения использовался соевый лецитин. Схема опыта представлена в таблице 39.

Продолжительность опыта составила 28 суток, в этот период за птицей велось наблюдение, фиксировались сохранность поголовья и динамика массы тела (в начале, середине и конце опыта – то есть на 14, 28 и 42 сутки вы-

ращивания), рассчитывались валовый и среднесуточный прирост массы тела. Для оценки влияния фитосомина на обменные процессы, состояние печени и процессы липопероксидации у 10 цыплят-бройлеров из каждой группы брали кровь в середине и в конце опыта.

Таблица 39 – Схема опыта по изучению фармакодинамики фитосомина на цыплятах-бройлерах

Группы (n=50)	Условия эксперимента
1 контрольная	ОР
2 опытная	ОР с добавлением фитосомина в дозировке 4 г/кг корма
3 опытная	ОР с добавлением фитосомина в дозировке 5 г/кг корма
4 опытная	ОР с добавлением фитосомина в дозировке 6 г/кг корма
5 опытная	ОР с добавлением лецитина в дозировке 6 г/кг корма

По результатам проведенных исследований установлено, что применение фитосомина увеличивает привесы цыплят-бройлеров (табл. 40). Так, в середине опыта разница между опытными группами и контрольной составила: 2 группа – 5,5 %; 3 группа – 8,3 % ($p \leq 0,05$); 4 группа – 8 %; 5 группа – 6 %. В конце опыта: 2 группа – 9,3 %; 3 группа – 15,5 % ($p \leq 0,05$); 4 группа – 16,2 % ($p \leq 0,05$); 5 группа – 11,1 %. Таким образом, наибольшее увеличение массы тела у цыплят с применением фитосомина отмечалось в 3 и 4 опытных группах, с разницей относительно 5 опытной группы, получавшей препарат сравнения в 3,9–4,6 %.

Таблица 40 – Динамика массы тела цыплят-бройлеров при изучении фармакодинамики фитосомина, г ($M \pm m$; n=50)

Группа	Возраст, сутки		
	Фон (14)	28	42
	Масса тела, г		
1 контрольная	493,9±5,2	1508,3±19,5	2664,8±20,5
2 опытная	491,6±7,5	1591,6±21,2	2912,7±28,3
3 опытная	492,3±8,3	1633,4±15,4*	3076,9±16,9*
4 опытная	490,4±6,7	1628,7±22,1	3095,2±21,1*
5 опытная	494,2±9,1	1598,8±20,5	2959,4±27,8

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$) относительно 1 контрольной группы

Произведен расчет показателей валовых и среднесуточных приростов цыплят-бройлеров, данные представлены в таблице 41, из которых видно, что наибольший среднесуточный привес отмечался в 4 группе, где разница с контролем составила 18,3 %, а с группой, где применялся лецитин – 5,3 %.

Таблица 41 – Валовые и среднесуточные приросты массы тела цыплят-бройлеров по периодам при изучении фармакодинамики фитосомина, г

Группа	Возраст, сутки		
	14–28	28–42	14–42
	Валовый прирост, г		
1 контрольная	1014,4	1356,5	2370,9
2 опытная	1100,0	1521,1	2621,1
3 опытная	1141,1	1643,5	2784,6
4 опытная	1138,3	1666,5	2804,8
5 опытная	1104,6	1560,6	2665,2
Среднесуточный привес, г			
1 контрольная	72,5	96,9	84,7
2 опытная	78,6	108,7	93,6
3 опытная	81,5	117,4	99,5
4 опытная	81,3	119,0	100,2
5 опытная	78,9	111,5	95,2

Таблица 42 – Показатели общего анализа крови цыплят-бройлеров при изучении фармакодинамики фитосомина ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы				
	1 контроль	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 опытная
28 сутки					
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	22,7±0,36	20,4±0,29	22,2±0,43	23,8±0,25	21,5±0,31
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	2,6±0,11	2,7±0,14	2,9±0,09*	2,8±0,12	2,7±0,15
Гемоглобин, г/л	117,9±2,06	124,8±1,84	126,9±2,13	127,4±1,15*	121,5±1,58
Гематокрит, %	39,8±1,18	41,2±1,41	40,4±1,27	38,6±1,41	39,3±1,03
42 сутки					
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	22,4±0,32	21,0±0,27	22,8±0,37	23,5±0,34	21,9±0,22
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	2,4±0,19	2,8±0,15	3,2±0,11*	3,1±0,17**	2,6±0,14
Гемоглобин, г/л	123,8±1,95	128,4±2,37	134,7±1,06*	133,5±2,24	127,3±1,76
Гематокрит, %	40,3±1,11	40,7±1,06	38,9±1,25	39,6±0,96	40,8±1,15

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой

По результатам общего анализа крови выявлено, что все определяемые показатели находятся в пределах референсных значений и соответствуют физиологической норме (табл. 42). При этом зарегистрировано положительное влияние фитосомина на показатели красной крови цыплят-бройлеров, что подтверждалось увеличением концентрации эритроцитов и гемоглобина.

Так, к середине опыта уровень эритроцитов увеличился в опытных группах по отношению к контролю: 2 группа – на 3,8 %; 3 группа – на 11,5 % ($p \leq 0,05$); 4 группа – на 7,8 %, 5 группа – на 3,8 %. К концу эксперимента максимальная разница зафиксирована между 3 опытной группой и контролем, составившая 33,3 % ($p \leq 0,05$). В остальных опытных группах повышение равнялось: 2 группа – 16,7 %; 4 группа – 29,2 % ($p \leq 0,01$); 5 группа – 8,3 %. Разница между группами с применением фитосомина относительно 5 группы, получавшей препарат сравнения, составила: 2 группа – 7,7 %; 3 группа – 23,1 %; 4 группа – 19,2 %.

Аналогичная ситуация наблюдалась и в концентрации гемоглобина: в середине опыта разница с контролем во 2 группе составила 5,9 %; в 3 группе – 7,6 %; в 4 группе – 8,1 % ($p \leq 0,05$); в 5 группе – 3,1 %. К концу опыта у птицы с применением фитосомина в дозировке 5 г/кг корма (3 группа) наблюдалось наибольшее увеличение гемоглобина, и достоверная разница с контролем составила 8,8 % ($p \leq 0,05$). В остальных опытных группах показатель повысился: 2 группа – на 3,7 %; 4 группа – на 7,8 %; 5 группа – на 2,8 %. Таким образом, относительно 5 группы с применением препарата сравнения максимальное увеличение гемоглобина зарегистрировано в 3 группе при разнице в 5,8 %, а во 2 и 4 группах повышение составило 0,9 и 4,9 % соответственно.

Биохимические исследования крови выявили положительное влияние фитосомина на обмен веществ и функцию печени цыплят-бройлеров (табл. 43).

Таблица 43 – Биохимические показатели крови цыплят-бройлеров при изучении фармакодинамики фитосомина ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы				
	1 контроль	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 опытная
	28 сутки				
Общий белок, г/л	38,6±0,83	39,4±0,68	41,5±0,49	41,9±0,53	40,8±1,03
Мочевая к-та, ммоль/л	448,2±4,19	451,6±6,29	442,9±5,17	467,2±7,34	453,7±5,22
Холестерин, ммоль/л	5,0 ±0,13	5,1±0,11	5,2±0,09	5,3±0,13	5,1±0,08
АсАт, Ед/л	281,5±5,47	275,2±4,28	264,6±3,61*	261,1±5,35	273,4±6,04
АлАт, Ед/л	46,7±0,24	37,5±0,31*	33,2±0,28**	32,8±0,19**	39,1±0,42*
Глюкоза, ммоль/л	15,7±0,25	16,4±0,22	16,9±0,41	15,9±0,36	16,7±0,27
Кальций, ммоль/л	2,6±0,11	2,4±0,14	2,7±0,12	2,5±0,15	2,6±0,17
Фосфор, ммоль/л	1,47±0,05	1,52±0,08	1,49±0,06	1,50±0,04	1,55±0,09
Триглицериды, ммоль/л	0,37±0,13	0,39±0,16	0,42±0,18	0,43±0,08*	0,41±0,11
42 сутки					
Общий белок, г/л	37,5±0,61	41,3±0,72	43,8±0,38**	43,2±0,57*	42,1±0,96
Мочевая к-та, ммоль/л	466,3±4,17	478,7±7,15	460,4±5,21	474,7±4,19	467,6±6,18
Холестерин, ммоль/л	4,8±0,09	5,0±0,11	5,5±0,06*	5,3±0,13	5,2±0,14
АсАт, Ед/л	278,7±5,62	273,2±4,06	261,2±4,45*	262,6±3,31	269,8±5,29
АлАт, Ед/л	48,9±0,31	35,6±0,38*	29,2±0,16**	30,1±0,27*	36,4±0,34*
Глюкоза, ммоль/л	16,1 ±0,19	16,0±0,23	17,1±0,41	16,3±0,34	16,9±0,46
Кальций, ммоль/л	2,8±0,13	2,6±0,16	2,5±0,09	2,7±0,11	2,4±0,15
Фосфор, ммоль/л	1,49±0,04	1,50±0,07	1,48±0,09	1,52±0,05	1,51±0,06
Триглицериды, ммоль/л	0,38±0,15	0,41±0,19	0,45±0,06*	0,44±0,17	0,42±0,13

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

В середине опыта в 3 и 4 группах отмечалось увеличение общего белка, при разнице с контролем в 7,5 и 8,5 % соответственно. Во 2 группе разница составила 2,1 %, а в 5 группе – 5,7 %. К концу опыта общий белок повысился относительно контроля: во 2 группе – на 10,1 %; в 3 группе – на 16,8 % ($p \leq 0,01$); в 4 группе – на 15,2 % ($p \leq 0,05$); в 5 группе – на 12,3 %. Изменения уровня общего белка во 2, 3 и 4 группах относительно 5 группы составили: 2 группа – ниже на 1,9 %; 3 группа – выше на 4 %; 4 группа – выше на 2,6 %.

Установлено, что фитосомин способствует улучшению состояния печени цыплят-бройлеров, что подтверждается достоверным снижением гепатоиндикаторных энзимов – АсАт и АлАт в крови птицы 3 и 4 опытных

групп. В остальных группах также фиксировалось снижение активности данных ферментов, однако, изменения были менее значительными. Активность АсАт в середине опыта в опытных группах была меньше контроля: 2 группа – на 2,2 %; 3 группа – на 6 %; 4 группа – на 7,2 %; 5 группа – на 2,9 %. В конце опыта разница с контролем составила: во 2 опытной группе – 1,9 %; в 3 группе – 6,3 % ($p \leq 0,05$); в 4 группе – 5,8 %; в 5 группе – 3,2 %. Разница в концентрации АсАт во 2, 3 и 4 опытных группах относительно 5 группы составила: 2 группа – выше на 1,3 %; 3 и 4 группа – ниже на 3,2 и 2,7 %.

Применение препаратов способствовало снижению активности АлАт относительно контрольной группы: в середине опыта во 2 группе – на 19,7 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – на 28,9 % ($p \leq 0,01$), в 4 группе – на 29,8 % ($p \leq 0,01$), в 5 группе – на 16,2 % ($p \leq 0,05$); в конце опыта во 2 группе – на 27,2 % ($p \leq 0,05$), в 3 группе – на 40,3 % ($p \leq 0,01$), в 4 группе – на 38,4 % ($p \leq 0,05$), в 5 группе – на 25,6 % ($p \leq 0,05$). Таким образом, относительно 5 группы (применение препарата сравнения) максимальное снижение концентрации АлАт зарегистрировано в 3 группе при разнице в 19,8 %, а во 2 группе – 2,2 % и в 4 группе – 17,3 %.

Наблюдалось влияние препарата на липидный обмен, что подтверждалось увеличением показателей холестерина и триглицеридов в крови. К середине опыта холестерин увеличился в сравнении с контролем: 2 группа – на 2 %; 3 группа – на 4 %; 4 группа – на 6 %; 5 группа – на 2 %. В конце опыта зарегистрировано достоверное увеличение холестерина в 3 группе, при разнице с контролем в 14,6 % ($p \leq 0,05$). В остальных группах изменения составили: 2 группа – 4,2 %; 4 группа – 10,4 %; 5 группа – 8,3 %. Таким образом, относительно 5 группы с применением препарата сравнения максимальное увеличение холестерина зарегистрировано в 3 группе при разнице в 5,8 %, во 2 группе показатель был ниже на 3,8 %, а в 4 группе преимущество составило всего лишь 1,9 %.

Достоверное увеличение триглицеридов отмечено к середине опыта в 4 группе, разница с контролем составила 16,2 % ($p \leq 0,05$), в остальных группах показатели превышали контрольные значения во 2 группе – на 5,4 %, в 3 группе – на 13,5 %, в 5 группе – на 10,8 %. К концу опыта достоверная раз-

ница с контролем составила: в 3 группе 18,4 % ($p \leq 0,05$); во 2 группе – 7,9 %; в 4 группе – 15,8 %; в 5 группе – 10,5 %. Разница в триглицеридах во 2, 3 и 4 опытных группах относительно 5 группы составила: 2 группа – ниже на 2,4 %; 3 и 4 группа – выше на 7,1 и 4,8 %.

С целью оценки антиоксидантной активности фитосомина проведено исследование уровня продуктов ПОЛ в крови цыплят-бройлеров (табл. 44).

Таблица 44 – Влияние фитосомина и лецитина на показатели ПОЛ в крови цыплят-бройлеров ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы				
	1 контроль	2 опытная	3 опытная	4 опытная	5 опытная
	28 сутки				
ДК, ед.оп.пл./мг липидов	0,268±0,07	0,262±0,06	0,249±0,04**	0,252±0,03*	0,265±0,06
КД, ед.оп.пл./мг липидов	0,141±0,05	0,138±0,04	0,135±0,03	0,133±0,02*	0,140±0,04
МДА, мкмоль/л	1,975±0,06	1,949±0,04	1,932±0,05	1,938±0,07	1,971±0,08
42 сутки					
ДК, ед.оп.пл./мг липидов	0,274±0,03	0,258±0,05	0,244±0,02*	0,246±0,04*	0,271±0,06
КД, ед.оп.пл./мг липидов	0,138±0,05	0,135±0,04	0,129±0,07	0,125±0,03*	0,136±0,05
МДА, мкмоль/л	1,952±0,08	1,896±0,06	1,823±0,05*	1,845±0,04	1,932±0,09

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Зарегистрировано, что в середине опыта отмечалось снижение показателей первичных продуктов ПОЛ в группах с применением фитосомина, в то время как вторичные продукты ПОЛ стали активно снижаться в конце опыта. При этом в группе с применением лецитина снижение продуктов липопероксидации было незначительным.

В середине опыта ДК в опытных группах снизились в сравнении с показателями контроля: во 2 группе – на 2,2 %; в 3 группе – на 7,1 % ($p \leq 0,01$); в 4 группе – на 6 % ($p \leq 0,05$); в 5 группе – на 2,5 %. При измерении уровня КД в 4 опытной группе отмечено достоверное снижение показателей в сравнении с контролем на 5,7 % ($p \leq 0,05$). В остальных группах разница составила: 2 группа – 2,1 %; 3 группа – 4,3 %; 5 группа – 3 %.

Снижение вторичных продуктов ПОЛ к середине опыта происходило незначительно, разница с контролем по МДА во 2 группе составила 1,3 %, в 3 группе – 2,2 %, в 4 группе – 1,9 %, в 5 группе – 0,2 %. К концу опыта у цыплят-бройлеров 3 группы отмечено достоверное снижение ДК в сравнении с показателями контрольной группы, составившее 10,9 % ($p \leq 0,05$), во 2 группе уровень был ниже – на 5,8 %, в 4 группе – на 10,2 % ($p \leq 0,05$), в 5 группе – на 1,1 %. Разница в ДК во 2, 3 и 4 группах относительно 5 группы составляет: 2 группа – 4,8 %; 3 группа – 10 %; 4 группа – 9,2 %. По КД разница в сравнении с контролем составила: во 2 группе – 2,2 %; в 3 группе – 6,5 %; в 4 группе – 9,4 % ($p \leq 0,05$); в 5 группе – 1,4 %. Разница во 2, 3 и 4 опытных группах относительно 5 опытной группы по КД составила: 2 группа – 0,7 %; 3 группа – 5,1 %; 4 группа – 8 %. К концу опыта зарегистрировано более интенсивное снижение концентрации вторичных продуктов ПОЛ в крови опытных цыплят-бройлеров. Так, в 3 группе отмечается достоверное снижение МДА, где разница с контрольными показателями составила 6,6 % ($p \leq 0,05$). В остальных группах уровень МДА в сравнении с контролем снизился: во 2 группе – на 2,9 %; в 4 группе – на 5,5 %; в 5 группе – на 1 %. Таким образом, относительно 5 группы с применением препарата сравнения максимальное снижение концентрации МДА зарегистрировано в 3 группе при разнице в 5,6 %, а во 2 группе – 1,9 % и в 4 группе – 4,5 %.

В целом спектр фармакодинамических эффектов фитосомина при его включении в рацион цыплят-бройлеров проявляется оптимизирующим влиянием на морфо-биохимическую картину крови птицы – повышение уровня гемоглобина и эритроцитов, показателей белкового и липидного обменов, улучшение состояния печени, снижение продуктов липопероксидации. Препарат проявляет выраженное ростостимулирующее действие при его включении в рационы сельскохозяйственной птицы в период выращивания. Экспериментально доказано, что эффективная доза фитосомина составила 5 г/кг корма.

3.4 Клиническая апробация фитосомина на цыплятах-бройлерах в производственных условиях

Клиническая апробация представляет собой практическое применение разработанных и ранее не применявшихся методов и средств профилактики, диагностики и лечения в условиях производства для подтверждения доказательств их эффективности.

Клиническую апробацию фитосомина для подтверждения доказательств эффективности его применения в промышленном птицеводстве осуществляли на базе КФХ Иванов А.С. (Курганинский район, Краснодарский край). Исследования проводили на цыплятах-бройлерах кросса «КОББ 500», из которых в 11-суточном возрасте (при переходе с режима кормления «Старт» на «Рост») отобрали 2000 голов со средней массой тела $356,6 \pm 6,9$ г. Содержание птицы в хозяйстве – напольное на глубокой подстилке. Кормление – сбалансированными рассыпными полнорационными комбикормами (ПК), непосредственно приготовленными в хозяйстве по периодам выращивания цыплят-бройлеров. Условия содержания и кормления – световой и температурный режим, влажность, плотность посадки, полнорационные комбикорма соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2005).

При постановке опыта цыплят-бройлеров разделили на 2 группы по 1000 голов в каждой: опытная в составе ПК получала препарат фитосомин в дозе 5 г/кг корма весь ростовой и финишный периоды кормления; контрольная – основной рацион. Продолжительность опыта составила 31 день – до убоя птицы в возрасте 42 суток. Схема опыта представлена в таблице 45.

Таблица 45 – Схема опыта по клинической апробации фитосомина на цыплятах-бройлерах в производственных условиях

Группы (n=1000)	Условия эксперимента
Опытная	Фитосомин – в составе ОР в дозе 5 г/кг корма весь ростовой и финишный периоды кормления (31 день)
Контрольная	Основной рацион

На протяжении всего опыта за птицей вели клиническое наблюдение и учитывали сохранность поголовья. Для возможности определения динамики массы тела по 50 цыплят-бройлеров из каждой группы поместили накрытыми метками, затем эту птицу взвешивали в начале, в середине и в конце опыта. При плановом убое птицы на 42 сутки по каждой группе определяли массу тела, валовой прирост и среднесуточный привес. В середине опыта и в конце из каждой группы у 10 цыплят отбирали кровь для гематологических и биохимических исследований. На 42 сутки при плановом убое поголовья в каждой группе проведена визуальная оценка состояния печени.

По результатам клинической апробации препарата установили, что применение фитосомина положительно влияет на привесы цыплят-бройлеров (табл. 46). Так, в опытной группе прирост за период опыта был больше контроля на 12,6 %, а среднесуточный привес за период применения препарата составил 81,0 г, что на 14,6 % выше значений контрольной птицы.

Таблица 46 – Влияние фитосомина на прирост массы тела цыплят-бройлеров в производственном опыте, г ($M \pm m$; $n=50$)

Возраст, суток	Группа	
	Опытная	Контрольная
Масса тела, г		
Фон (11 суток)	353,4±6,2	359,8±7,5
26 суток	1446,3±19,5	1278,6±23,4
42 суток	2864,8±24,8*	2545,2±28,9
Валовой прирост, г		
11-26	1092,9	924,8
27-42	1418,5	1266,6
11-42	2511,4	2191,4
Среднесуточный привес, г		
11-26	71,1	61,7
27-42	94,6	84,4
11-42	81,0	70,7

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$) в сравнении с контролем

Зоотехнические показатели цыплят-бройлеров при клинической апробации фитосомина представлены в таблице 47. Из этих данных видно, что

средний вес цыплят на момент убоя в опытной группе был больше контроля на 12,6 %. Сохранность поголовья за период эксперимента в опытной группе составила 98,8 %, что на 1,6 % больше относительно контрольной группы. Среди павшей птицы патологии печени регистрировались в опытной группе в 8,3 % случаев, в контрольной группе – в 32,1 %. Следовательно, применение фитосомина снижает развитие гепатопатий при выращивании цыплят-бройлеров на 23,8 %.

Таблица 47 – Зоотехнические показатели цыплят-бройлеров при клинической апробации фитосомина

Показатель	Группа (n=1000)	
	Опытная	Контрольная
Цикл выращивания	42	
Затраты корма на гол. в день, г	150	
Средний вес на момент убоя, кг	2864,8±24,8	2545,2±28,9
Падеж, гол.	12	28
Падеж с патологией печени, гол	1	9
Сохранность, %	98,8	97,2

По результатам общего анализа крови цыплят-бройлеров установили, что все показатели находятся в пределах референсных значений и соответствуют физиологической норме (табл. 48).

Таблица 48 – Гематологические показатели цыплят-бройлеров при клинической апробации фитосомина (M±m; n=10)

Показатели	Группы	
	Опытная	Контрольная
	В середине опыта	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	24,1±0,36	23,7±0,41
Эритроциты, 10 ¹² /л	2,8±0,11	2,5±0,09
Гемоглобин, г/л	127,3±0,94*	123,5±1,65
	В конце опыта	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	27,4±0,28	26,9±0,37
Эритроциты, 10 ¹² /л	3,1±0,06*	2,7±0,12
Гемоглобин, г/л	133,7±1,03*	126,1±1,98

Примечание: различия достоверны (*p≤0,05) в сравнении с контролем

Поскольку клетки красной крови цыплят-бройлеров высокофункциональны ввиду необходимости обеспечения очень высоких темпов роста, для нормального функционирования организма необходима стабильная концентрация данных клеток в крови. В наших исследованиях установлено положительное влияние фитосомина на гемопоэз цыплят-бройлеров, характеризующееся увеличением в опытной группе относительно контроля содержания: эритроцитов в середине опыта – на 12 % и в конце – на 14,8 %; гемоглобина в середине опыта – на 3,1 % и в конце – на 6 %.

По результатам биохимического анализа крови зарегистрировано, что фитосомин способствует улучшению протеинсинтетической и ферментообразующей функций печени (табл. 49).

Таблица 49 – Биохимические показатели цыплят-бройлеров при клинической апробации фитосомина ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы	
	Опытная	Контрольная
	В середине опыта	
Общий белок, г/л	40,6±0,93*	37,2±0,74
Мочевая кислота, ммоль/л	433,9±6,36	427,4±5,28
Холестерин, ммоль/л	5,6±0,17	5,1±0,21
АсАт, Ед/л	262,8±6,23	278,4±5,06
АлАт, Ед/л	31,5±0,89**	37,2±1,36
Глюкоза, ммоль/л	16,4±1,35	15,3±1,41
Кальций, ммоль/л	2,8±0,16	2,6±0,27
Фосфор, ммоль/л	1,61±0,21	1,63±0,18
Триглицериды, ммоль/л	0,95±0,11*	0,82±0,09
	В конце опыта	
Общий белок, г/л	42,5±0,34**	36,9±0,67
Мочевая кислота, ммоль/л	438,4±5,32	431,7±4,21
Холестерин, ммоль/л	5,9±0,15**	4,9±0,17
АсАт, Ед/л	271,6±7,63	282,6±8,19
АлАт, Ед/л	30,7±1,22*	39,1±1,47
Глюкоза, ммоль/л	16,9±1,17	14,5±1,34
Кальций, ммоль/л	2,5±0,13	2,7±0,21
Фосфор, ммоль/л	1,55±0,19	1,49±0,25
Триглицериды, ммоль/л	1,04±0,13**	0,73±0,11

Примечание: различия достоверны (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) в сравнении с контролем

Так, концентрация общего белка в опытной группе достоверно превышала данные контроля в середине опыта – на 9,1 % ($p \leq 0,05$), а в конце – на 15,2 % ($p \leq 0,01$). Активность АлАт в опытной группе в середине опыта по сравнению с контрольной птицей была ниже – на 15,3 % ($p \leq 0,01$), а в конце опыта – на 21,5 % ($p \leq 0,05$).

Повышение уровня глюкозы в опытной группе связано со стимуляцией углеводного обмена, и разница с контролем в середине опыта составила 7,2 %, а в конце опыта – 16,6 %. Наличие значительного количества фосфолипидов в составе препарата, скорее всего, обусловило повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови цыплят – в середине опыта показатели опытной группы превышали контроль на 15,8 % ($p \leq 0,05$), а в конце опыта – на 20,9 % ($p \leq 0,01$). Также отмечалось увеличение другого показателя липидного обмена – холестерина, который в опытной группе был выше контроля: к середине опыта – на 9,8 %; в конце опыта – на 20,4 % ($p \leq 0,01$).



Рисунок 42 – Печень павшего цыпленка-бройлера при патологоанатомическом вскрытии

При патологоанатомической оценке состояния печени у павшей птицы контрольной группы зарегистрировано поражение печени в 32,1 % случаев, а в опытной группе – в 8,3 %. При вскрытии и осмотре установлено изменение

границ печени, орган имеет дряблую консистенцию, желто-коричневого цвета, в ряде случаев – с точечными кровоизлияниями (рис. 42).

На 42 сутки при плановом убое всего поголовья птицы, участвующей в опыте, в каждой группе проведена визуальная оценка состояния печени, которая показала, что в группе с применением фитосомина поражение печени регистрировали у 36 голов, что составило 3,6 %, а в контрольной группе у 102 голов, что соответствует 10,5 % от общего поголовья данной группы. Печень с патологическими изменениями в контрольной группе имела более выраженные признаки поражений, чем у опытной птицы.

Контрольная группа: печень дряблая, увеличена в размере, желтовато-серого цвета и небольшими очагами темно-зеленого цвета. На разрезе рисунок не выражен. Опытная группа: печень не увеличена, консистенция дряблая, цвет неоднородный, местами пестрый. Зернистость слабо выражена, при разрезе рисунок дольчатого строения сглажен. У здоровых цыплят-бройлеров печень имела темно-коричневый цвет, упругая, влажная, блестящая, капсула целостная. При разрезе органа структура сохранена, очагов некроза и кровоизлияний не обнаружено. Желчный пузырь не переполнен.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение цыплятам-бройлерам препарата фитосомин в дозе 5 г/кг корма обуславливает повышение уровня реализации биоресурсного потенциала сельскохозяйственной птицы – усиливается функциональная активность кроветворной системы и интенсивность обменных процессов, улучшается структурное и функциональное состояние печени, повышаются показатели сохранности и приростов поголовья.

4 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФИТОСОМИНА

Определение экономической эффективности проводилось по результатам клинической апробации фитосомина на цыплятах-бройлерах в производственных условиях – на базе КФХ Иванов А.С. (Курганинский район, Краснодарский край). Расчет экономической эффективности проводили согласно утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий (1997).

В расчете показателей экономической эффективности учитывали данные по двум группам цыплят-бройлеров: опытной и контрольной. Фитосомин применяли в опытной группе 31 день при дозировке 10 г/кг корма. Количество голов в опытной группе – 1000, объем потребляемого корма на весь период составил 3,3 т, а количество препарата – 33,17 кг. Контрольная группа являлась интактной при равном с опытной группой количестве птицы на начало исследований. Данные для расчетов экономической эффективности применения фитосомина представлены в таблице 50.

Таблица 50 – Данные для расчета экономической эффективности применения фитосомина в птицеводстве

Показатель	Опытная группа	Контрольная группа
Стоимость препарата, руб/кг	190	-
Количество препарата на гол. за 31 день, кг	3,3	-
Затраты корма на гол. в день, г	107	
Стоимость 1 кг корма, руб	26,4	
Закупочная стоимость 1 цыпленка, руб	54,0	
Падеж, гол.	12	28
Цена реализации мяса бройлера за 1 кг, руб.	153,0	
Средняя живая масса 1 цыпленка, кг	2,86	2,54

Экономическая эффективность (Эр) применения препарата цыплятам-бройлерам является отношением экономического эффекта (Ээ) к ветеринарным затратам (Зв).

Экономический эффект (Ээ) показывает разность между стоимостью продукции (Дс) – мясо, субпродукты, и расходами на ветеринарные мероприятия (Зв).

Расчёт вели согласно формуле:

$$\text{Ээ} = \text{Дс} - \text{Зв}, \text{ где:}$$

Дс – стоимость продукции, полученной дополнительно в результате применения фитосомина, руб.;

Зв – затраты на ветеринарные мероприятия, способствующие получению этой продукции, руб.

Стоимость продукции, полученной дополнительно, рассчитывали с помощью формулы:

$$\text{Дс} = (\text{Ао} \times \text{Ц} \times \text{Впо}) - (\text{Ак} \times \text{Ц} \times \text{Впб}), \text{ где:}$$

Впо – количество продукции, полученной от цыплят опытной группы (расчет на одну голову), кг.;

Впб – количество продукции, полученной от цыплят контрольной группы (расчет на одну голову), кг.;

Ао – количество цыплят-бройлеров в опытной группе, голов;

Ак – количество цыплят-бройлеров в контрольной группе, голов;

Ц – цена реализации единицы продукции, руб.

Ветеринарные затраты (Зв) представляют собой совокупность всех расходов, связанных с проведением ветеринарных мероприятий, и определяются по формуле:

$$\text{Зв} = \text{Зм} + \text{Зот} + \text{Оот}, \text{ где:}$$

Зм – материальные затраты (стоимость применяемых препаратов), руб.;

Зот – затраты на оплату труда, руб.;

Оот – отчисления от оплаты труда, руб.

За период проведения исследования в опытной группе израсходовали 3317 кг корма, при этом стоимость препарата составила 190 руб. на кг корма. Таким образом, стоимость препарата на весь курс применения составила:

$$190 \text{ руб.} \times 33,17 \text{ кг} = 6302,3 \text{ руб.}$$

В соответствии с этим, стоимость материальных затрат (Зв) составляет:

$$\text{Зв (опытная)} = 6302,3 + (0,107 \times 1\,000 \times 31 \times 26,4) + (54,0 \times 1000) = 147871,1 \text{ руб.}$$

$$\text{Зв (контрольная)} = (0,107 \times 1000 \times 31 \times 26,4) + (54,0 \times 1000) = 141568,8 \text{ руб.}$$

$$\text{Зв} = 147\,871,1 - 141\,568,8 = 6\,302,3 \text{ руб.}$$

Стоимость продукции, полученной дополнительно в результате применения фитосомина (Дс):

$$\text{Дс} = (988 \times 153 \times 2,86) - (972 \times 153 \times 2,54) = 54591 \text{ руб.}$$

Согласно полученным данным, экономический эффект от применения препарата фитосомин составил:

$$\text{Ээ} = 54\,591 - 6\,302,3 = 48289 \text{ руб.}$$

Экономическая эффективность на 1 рубль затрат составила:

$$\text{Эр} = 48\,289 : 6\,302,3 = 7,7 \text{ руб.}$$

По результатам проведенных расчетов установлено, что экономическая эффективность от применения препарата фитосомин в птицеводстве составила 7,7 рублей на 1 рубль затрат.

5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка инновационных лекарственных средств отечественного производства является одной из приоритетных задач, положенных в основу стратегии развития современной фармакологии и фармации РФ. В настоящее время создание лекарственных форм адресной доставки, к числу которых относятся липосомы, является актуальным направлением медицины. Преимущество липосомальных препаратов заключается в повышении биодоступности, продолжительности и эффективности действия лекарства при снижении побочных эффектов (Торчилин В.П. с соавт., 1980–2020; Оробец В.А. с соавт., 2015–2019; Шахова В.Н. 2016–2022; Третьякова Д.С. 2016–2022).

В связи с этим научный и практический интерес представляют исследования по созданию ветеринарного липосомального препарата, обладающего полифункциональным фармакологическим эффектом – способного улучшать метаболизм, антиоксидантный статус и состояние печени, увеличивать продуктивность и сохранность животных.

Биофармацевтическими скрининговыми исследованиями, проведенными *in vitro* на модели с *Paramecium caudatum*, определено оптимальное соотношение фитоконпонентов в разрабатываемом препарате. На основании полученных данных разработан липосомальный препарат – фитосомин, содержащий в 1 г: 2 мг дигидрокверцетина; 12,5 мг экстракта расторопши пятнистой; 100 мг экстракта репешка обыкновенного; 100 мг экстракта володушки золотистой; 784,5 мг лецитина. Для увеличения сроков хранения в препарат введен бензоат натрия – 0,1 %. Фитосомин представляет собой концентрированную эмульсию, мазеобразной однородной консистенции, коричневого или темно-коричневого цвета, слабовыраженного вкуса и запаха, свойственные растительному лецитину. Установленный согласно ОФС.1.1.0009.18 «Сроки годности лекарственных средств» срок годности фитосомина составляет 2 года.

Механизм действия фитосомина обусловлен эффектами основных компонентов, входящих в его состав.

Лецитин участвует не только в построении липосомы, но и сам обладает выраженной фармакологической активностью, так как содержит большое количество эссенциальных фосфолипидов, являющихся важной частью клеточных мембран, обеспечивающей их текучие и пластические свойства. Фосфолипиды также участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина. Их эффективность в лечении заболеваний печени обеспечивается способностью фосфатидилхолина включаться в поврежденные участки мембран и тем самым улучшать регенерацию печени (Малявина В.В., Томилина С.А., Сампиев А.М., 2007; Манджиголадзе Т.Ю., 2011; Степанов Ю.М., 2016; Калоев Б.С., Ибрагимов М.О., 2020; Husch J. et al., 2011).

Соединения расторопши пятнистой обладают разносторонней биологической активностью при доминанте гепатопротекторного действия, которое обусловлено способностью флавоноидов ингибировать свободные радикалы, стимулировать синтез структурных и функциональных белков и фосфолипидов, стабилизировать клеточные мембраны, предотвращать потерю клеточных компонентов и внутриклеточных ферментов (трансаминаз), ускорять регенерацию клеток печени и тормозить проникновение в клетки некоторых гепатотоксических веществ (Куркин В.А. с соавт., 2001-2016; Цаприлова С.В., Родионова Р.А., 2008; Губергриц Н.Б. с соавт., 2012; Kidd P.M., Head K., 2005; Abenavoli L. et al., 2018).

Дигидрокверцетин обладает мощным антиоксидантным действием, предотвращает ранний апоптоз клеток и развитие различных заболеваний, оптимизирует периферическое кровообращение, проявляет капилляропротекторную, противовоспалительную, гастро- и гепатопротекторную, радиопротекторную и гиполипидемическую активность (Накусов Т.Т., 2010; Бабкин В.А., Остроухова Л.А. Трофимова Н.Н., 2012; Леонтьева Н.В., 2016; Егоров И.А. с соавт., 2018–2022; Никанова Л.А., 2020; Kang J.T. et al., 2013; Orlova S.V. et al., 2022).

Репешок обыкновенный содержит большое количество различных биологически активных веществ, которые обладают метаболическим, гепатопротекторным, бактерицидным, противовоспалительным, вяжущим, кровооста-

навливающим и желчегонным действием (Васякина К.А., Куркина А.В., 2012; Гагиева Л.Ч., Созанов Ц.У., Караев К.Г., 2017; Granica S. et al., 2015; Huzio N.M. et al., 2020; Karlinska E. et al., 2021).

Володушка золотистая содержит компоненты, которые проявляют гепатопротекторное, адаптогенное, антибактериальное и противовоспалительное действие, улучшают обмен веществ и снижают проницаемость капилляров (Канунникова Ю.С. с соавт., 2013-2014; Коняева Е.А., Алентьева О.Г., 2017; Панин В.П. с соавт., 2018; Стрелкова Л.Б. с соавт., 2019).

При определении острой токсичности фитосомина на лабораторных крысах и цыплятах-бройлерах установлено, что однократное пероральное его введение переносится животными без токсических последствий, из чего следует, что препарат классифицируется как малотоксичный и по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

Хронические токсикологические исследования на лабораторных крысах и цыплятах-бройлерах показали, что длительное применение фитосомина в токсических дозах не оказывает отрицательного действия на организм животных. При этом фитосомин положительно влияет на ряд показателей крови, стимулируя пределы нормы эритропоза, белковый и липидный обмены, улучшая ферментообразующую функцию печени. При макро- и микроскопическом исследовании внутренних органов изменений анатомического строения и топографии, свидетельствующих о токсическом влиянии фитосомина, не обнаружено.

Ветеринарно-санитарной экспертизой установлено, что применение препарата цыплятам-бройлерам не влияет отрицательно на качество и вкусовые показатели мяса. Доклиническими исследованиями доказано, что фитосомин не проявляет местнораздражающего, эмбриотоксического и тератогенного действия.

Таким образом, разработанный липосомальный препарат как при кратковременном, так и при длительном применении безвреден для теплокровных животных.

Фитосомин при экспериментальном поражении печени лабораторных животных гидразином улучшает показатели сохранности и динамику клинического состояния крыс, стимулирует процессы регенерации гепатоцитов и снижает выраженность патологических изменений в кишечнике, печени, почках и селезенке. Фармакологические свойства препарата проявляются снижением в крови концентрации АлАт – на 18,9–30,8 %, АсАт – на 16,6–28,1%, ЩФ – на 10,2–32,3 % и холестерина – на 19,9–33,5 %, при повышении уровня общего белка – на 12,9–18,9 % и триглицеридов – на 10–16,3 %. Эффективная доза фитосомина составила 0,5 г/кг массы тела. Полученные результаты обозначили перспективы применения препарата фитосомин в ветеринарной практике при поражениях печени, а также общих интоксикациях организма животных.

Фармакологические свойства фитосомина при экспериментальном сочетании микотоксикозе у цыплят-бройлеров проявляются улучшением клинического статуса птицы, нормализацией морфо-биохимических показателей крови, снижением концентрации продуктов перекисного окисления липидов, что минимизирует развитие патологических изменений во внутренних органах и приводит к повышению приростов массы тела и сохранности птицы. Гепатопротекторные свойства фитосомина характеризуются стабилизацией состояния печени, приводящей к снижению в крови концентрации АлАт – на 38,4 % и АсАт – на 16,5 %, при улучшении ее протеинообразующей функции (повышение общего белка на 13,6 %). Антиоксидантные свойства фитосомина подтверждаются снижением в крови уровня ДК – на 25,1 %, КД – на 18,2 % и МДА – на 20,7 %, что связано с входящими в состав препарата биофлаваноидами (силимарином и дигидрокверцетином), которые способствуют стабилизации мембраны клетки в условиях окислительных процессов и являются природными антиоксидантами.

Превентивное применение фитосомина при экспериментальной аммиачной интоксикации цыплят-бройлеров позволяет увеличить период проявления клинических признаков болезни и их выраженность, снизить патоло-

гические изменения в морфо-биохимических показателях крови птицы. Относительно контрольной группы у опытных цыплят были ниже показатели АлАт – на 29,3 %, АсАт – на 15,7 %, креатинина – на 5 %, мочевой кислоты – на 12,9 % и холестерина – на 11,6 %. В данном опыте подтверждена эффективность фитосомина, как средства коррекции свободно-радикального окисления липидов при отравлении цыплят аммиаком (концентрация ДК снизилась на 22,2 %, КД – на 27 %, МДА – на 11,1 %). Установлено, что применение препарата при аммиачной интоксикации обуславливает снижение у птицы альтеративных и экссудативных процессов в органах и тканях.

Фитосомин проявляет значительную фармакологическую активность при технологическом стрессе у цыплят-бройлеров. Его применение птице обуславливает снижение клинических проявлений стрессовой реакции и улучшение динамики массы тела на 18,1 %, а также оптимизацию показателей крови и состояния печени (снижение АлАт – на 33,3 % и АсАт на – 11,4 %, при повышении общего белка – на 8,4 %). Препарат снижает накопление в крови продуктов перекисного окисления липидов (ДК – на 16 %, КД – на 26,4 % и МДА – на 19,9 %) и уменьшает выраженность эндогенной интоксикации в организме птицы (снижение токсической фракции молекул средней массы на 34 %). В состав препарата фитосомин входит множество биофлаваноидов, которые проявляют антиоксидантные свойства за счет нейтрализации активных форм кислорода с прерыванием цепных свободно-радикальных реакций, что благоприятно влияет на весь организм в целом (Забудский Ю.И., 2002; Гаркави Л.Х., 2006; Ковалева О.Л., 2008; Литвиненко А.Н., 2018; Сайфутдинова Л.В., 2019; Козлова С.В., 2021).

Для оценки влияния фитосомина на жизненно важные функции организма и выявления его дополнительных фармакодинамических эффектов проведены общепармакологические исследования на цыплятах-бройлерах. Установлено, что спектр фармакодинамических свойств фитосомина при его включении в рацион цыплят-бройлеров проявляется оптимизирующим влиянием на морфо-биохимическую картину крови птицы – при повышении

уровня гемоглобина на 3,7–8,8 % и эритроцитов 16,7–33,3 %, показателей белкового на 10,1–15,2 % и липидного обменов на 7,9–18,4 %, улучшении состояния печени, снижении продуктов липопероксидации. Препарат проявляет ростостимулирующее действие при его включении в рационы сельскохозяйственной птицы в период выращивания, при разнице в 8,7–15 % относительно контроля. Эффективная доза фитосомина составила 5 г/кг корма.

Для подтверждения доказательств эффективности фитосомина в промышленном птицеводстве проведена клиническая апробация препарата. В результате проведенных исследований зарегистрировано, что применение цыплятам-бройлерам фитосомина в дозе 5 г/кг корма обуславливает повышение уровня реализации биоресурсного потенциала сельскохозяйственной птицы – усиливается функциональная активность кроветворной системы и интенсивность обменных процессов, улучшается структурное и функциональное состояние печени, повышаются показатели сохранности на 1,6 % и приростов поголовья на 12,6 %. При убое птицы в конце опыта установлено, что применение фитосомина на 6,9 % снижает развитие гепатопатий у цыплят-бройлеров. Печень с патологическими изменениями в контрольной группе имела более выраженные признаки поражений, чем у опытной птицы.

Экономическая эффективность применения фитосомина в птицеводстве составляет 7,7 руб на 1 рубль затрат.

По результатам диссертационной работы для практического применения в ветеринарии и птицеводстве предложен эффективный и безопасный липосомальный препарат на основе веществ растительного происхождения, обладающий полифункциональным фармакологическим эффектом, способный улучшать метаболизм и морфофункциональное состояние печени, увеличивать продуктивность и сохранность птицы.

Разработана инструкция по применению препарата фитосомин, рассмотренная и одобренная Ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол № 13 от 16 декабря 2022 года).

Выводы

1. Разработан липосомальный препарат – фитосомин, который в 1 г содержит: 2 мг дигидрокверцетина; 12,5 мг экстракта расторопши пятнистой; 100 мг экстракта репешка обыкновенного; 100 мг экстракта володушки золотистой; 784,5 мг лецитина; 1 мг бензоата натрия. По внешнему виду представляет собой концентрированную эмульсию мажеобразной однородной консистенции, коричневого или темно-коричневого цвета. Установленный срок годности фитосомина составляет два года.
2. Токсикологическими исследованиями выявлено, что однократное пероральное введение фитосомина лабораторным крысам в дозе 10300 мг/кг массы тела и цыплятам-бройлерам – 14400 мг/кг массы тела переносится животными без токсических последствий, с учетом этого препарат классифицируется как малотоксичный и по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные). Фитосомин при длительном многократном применении в токсических дозах лабораторным крысам и цыплятам-бройлерам не проявляет негативного воздействия на их организм. Препарат не влияет отрицательно на безопасность и качество мяса птицы, не обладает местнораздражающим, эмбриотоксическим и тератогенным действием.
3. При экспериментальном поражении печени лабораторных крыс гидразином применение фитосомина снижает клинические проявления интоксикации и патологические изменения во внутренних органах, повышает приросты массы тела и сохранность животных. Фармакологические свойства препарата проявляются снижением в крови концентрации АлАт – на 18,9–30,8 %, АсАт – на 16,6–28,1%, ЩФ – на 10,2–32,3 % и холестерина – на 19,9–33,5 %, при повышении уровня общего белка – на 12,9–18,9 % и триглицеридов – на 10–16,3 %.
4. В модельных опытах на цыплятах-бройлерах (микотоксикоз, аммиачная интоксикация и технологический стресс) фитосомин проявляет метаболическую, гепатопротекторную, антиоксидантную и антитоксическую активность. Его применение при различных экспериментальных патологиях увеличивает сохранность птицы, снижает выраженность клинических симпто-

мов и патологических изменений в морфо-биохимическом статусе крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоформула, показатели белкового, жирового и углеводного обменов). Гепатопротекторные свойства фитосомина характеризуются стабилизацией структуры гепатоцитов, приводящей к снижению в крови концентрации АлАт – на 29,3–38,4 % и АсАт – на 11,4–16,5 %, при улучшении протеинообразующей функции печени. Фармакологический эффект препарата подтверждается снижением в крови содержания лейкоцитов (до 24,9 %), а также выраженности альтеративных и экссудативных процессов в органах и тканях. Фитосомин положительно влияет на состояние перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации в организме птицы при снижении в крови уровня ДК – на 16,0–25,1 %, КД – на 18,2–27 %, МДА – на 11,1–26,1 % и МСМ – на 34,0 %.

5. Фармакодинамика фитосомина при его включении в рационы цыплят-бройлеров в дозах от 4 до 6 г/кг корма характеризуется ростостимулирующим действием при увеличении приростов массы тела – на 8,7–15 %, оптимизирующим влиянием на гемопоз при увеличении концентрации эритроцитов – на 16,7–33,3 % и гемоглобина – на 3,7–8,8 %, улучшением показателей метаболизма, при повышении в крови уровня общего белка – на 10,1–15,2 %, холестерина – на 4,2–14,6 % и триглицеридов – на 7,9–18,4 %, а также снижением уровня гепатоиндикаторных ферментов и продуктов перекисного окисления липидов.

6. Результаты клинической апробации фитосомина при выращивании цыплят-бройлеров подтвердили его эффективность в повышении продуктивного потенциала сельскохозяйственной птицы, связанную с улучшением метаболизма и состояния гепатобилиарной системы (количество поражений печени снизилось на 6,9 %), увеличением показателей сохранности – на 1,6 % и приростов массы тела – на 12,6 %.

7. Экономическая эффективность применения фитосомина в птицеводстве составляет 7,7 руб. на 1 рубль затрат.

Практические предложения

Для применения в ветеринарии и птицеводстве предложен эффективный и безопасный липосомальный препарат на основе веществ растительного происхождения, обладающий полифункциональным фармакологическим действием – метаболическим, гепатопротекторным, антиоксидантным, анти-токсическим и ростостимулирующим.

Фитосомин рекомендуется применять цыплятам-бройлерам для: профилактики и терапии заболеваний печени различной этиологии; нормализации функций организма; эндо- и экзотоксикозах (включая микотоксикозы); стрессах различного генеза; улучшения метаболизма и антиоксидантного статуса; повышения показателей сохранности и приростов массы тела.

Препарат применяют в смеси с кормом: профилактически – из расчёта 5 г/кг корма; терапевтически – 10 г/кг корма (продолжительность лечения варьируется от 10 до 14 дней, можно повторить или продлить курс лечения при необходимости).

Разработана нормативная документация (инструкция по применению), определяющая условия применения фитосомина, рассмотренная и одобренная ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол № 13 от 16 декабря 2022 года).

6 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авторское свидетельство № 1663547 А1 СССР, МПК G01N 33/48. Способ диагностики состояния стресса у птиц: № 4707758: заявл. 19.06.1989: опубл. 15.07.1991 / Ю. И. Забудский, И. Г. Скутарь; заявитель Кишиневский сельскохозяйственный институт им.М.В.Фрунзе.
2. Айдинян Г.Т. Лецитин и L-карнитин в комбикормах для бройлеров с различными источниками жира: специальность 06.02.08 «Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов»: диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Г.Т. Айдинян. – Сергиев Посад, 2015. – 152 с.
3. Андреева В.Ю. Разработка методики количественного определения флавоноидов в манжетке обыкновенной *Alchemilla Vulgaris L.S.L.* / В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина // Химия растительного сырья. – 2000. – № 1. – С. 85-88.
4. Антипов В.А. Влияние разных доз пробиотического препарата Родафен на состав микрофлоры пищеварительного тракта цыплят-бройлеров / В.А. Антипов, Н.Г. Амбулова, И.Г. Позднякова, Т.И. Каблучеева-Пашник // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. – № 45. – С. 162-165.
5. Антипов В.А. Изготовление лекарственных препаратов в ветеринарии / В.А. Антипов, А.Н. Трошин // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2014. – Т. 3. – № 7. – С. 445-449.
6. Бабкин В.А. и др. Биомасса листовенницы: от химического состава до инновационных продуктов / В.А. Бабкин, Л.А. Остроухова, Н.Н. Трофимова // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. – 2012. – С. 508-510.
7. Баширова Р.М. Володушка золотистая – местный источник гепатопротекторных и капилляроукрепляющих веществ. Природные факторы здоровья, профилактики и лечения болезней / Р.М. Баширова, Ю.И. Усманов // Сб. до-

- кладов республиканской межведомственной научно-практ. конференции. Уфа, РИО ГУП «Иммунопрепарат». – 2001. – С. 38-42.
8. Баширова Р.М. Применение растений рода володушка (*Bupleurum*) в гепатологии / Р.М. Баширова, Р.С. Мингазов, А.М. Мингажаева // Практическая фитотерапия. – 2003. – № 3. – С. 4-6.
9. Булдакова К.А. Экспериментальное обоснование применения препарата альгасол в промышленном птицеводстве: дис. канд. ветеринар. наук: 06.02.03 / К.А. Булдакова. – Киров, 2016. – 157 с.
10. Вайс Р.Ф. Фитотерапия. // Р.Ф. Вайс, Ф. Финтельманн / Руководство: Пер. с нем. – М.: Медицина, 2004. – 552 с.
11. Василевич Ф.И. Безопасность мяса цыплят-бройлеров при использовании в рационе белковых гидролизатов отечественного производства / Ф.И. Василевич, В.М. Бачинская, Н.А. Бачинская // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 2(34). – С. 142-146.
12. Василевич Ф.И. Влияние Абиотоника на жирнокислотный состав мяса цыплят-бройлеров / Ф.И. Василевич, С.В. Позябин, В.М. Бачинская // Ветеринария. – 2021. – № 9. – С. 59-62.
13. Василяди О.И. влияние фитогепатопротекторного комплекса на клинические симптомы и гематологические показатели крыс в условиях гидразиновой интоксикации / О.И. Василяди, Е.В. Кузьминова, Е.П. Долгов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11. – № 1. – С. 263-267.
14. Василяди О.И. Изучение мембраностабилизирующей активности фитопрепаратов с использованием тест-системы *Paramecium caudatum* / О.И. Василяди, Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, А.А. Власенко // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 4-1(106). – С. 152-155.
15. Василяди О.И. Изучение параметров хронической токсичности препарата, обладающего гепатопротекторной активностью / О.И. Василяди, Е.Н. Рудь, В.А. Гринь [и др.] // Ученые записки Казанской государственной

академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. – Т. 248. – № 4. – С. 25-29.

16. Василяди О.И. Изучение фармакологической активности нового гепатопротекторного препарата по результатам гистологического исследования внутренних органов цыплят-бройлеров при аммиачной интоксикации / О.И. Василяди, Е.В. Кузьмина, К.А. Семенов, Е.П. Долгов // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 11(125). – DOI 10.23670/IRJ.2022.125.80.

17. Василяди О.И. Оценка безопасности нового лекарственного препарата с гепатопротекторной активностью / О.И. Василяди, Л.В. Лазаревич, О.Ю. Черных, А.А. Абрамов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 72-75.

18. Василяди О.И. Экспериментальные предпосылки к комбинированному применению природных антиоксидантов в ветеринарной фармакологии / О.И. Василяди, Л.В. Лазаревич, К.А. Семенов, Е.П. Долгов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2021. – Т. 10. – № 1. – С. 332-337.

19. Васякина К.А. Репешок аптечный - перспективный сырьевой растительный источник гепатопротекторов / К.А. Васякина, А.В. Куркина // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т.14, № 1(7). – С. 2184-2186.

20. Водовозова Е.Л. Противоопухолевые липосомы с липофильными пролекарствами / Е.Л. Водовозова, Н.Р. Онищенко, А.С. Алексеева [и др.] // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы IX международного конгресса. Том 1. – Москва. – 2017. – С. 123-124.

21. Володина Т.А. Разработка и валидационные характеристики методики количественного определения содержания флавоноидов в фитогеле репаративного действия / Т.А. Володина, Н.А. Пеньевская, Л.С. Ушакова, С.С. Ляшенко // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10-9. – С. 1987-1990.

22. Волоцуева А.В. Фитохимическое исследование по созданию гепатопротекторных лекарственных средств на основе плодов расторопши пятнистой: дис. к. фарм. наук: 15.00.02 / А.В. Волоцуева – Пермь, 2004. – 140 с.
23. Гагиева Л.Ч. Компонентный состав надземной части репешка обыкновенного (*Agrimonia eupatoria* L.) / Л.Ч. Гагиева, Ц.У. Созанов, К.Г. Караев // Достижения науки - сельскому хозяйству: Материалы Всероссийской научно-практической конференции (заочной). Том I. Часть I. – Владикавказ: Горский государственный аграрный университет, 2017. – С. 265-267.
24. Глущенко А.В. Количественное определение флавоноидов и суммы полифенолов в надземной части володушки золотистой / А.В. Глущенко, В.А. Георгиянц, Н.Ю. Бевз // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2014. – № 11-1(182). – С. 172-176.
25. Горбик В.С. Липосомы как система таргетной доставки лекарственных средств (обзор) / В.С. Горбик, З.С. Шпрах, Ж.М. Козлова, В.Г. Салова // Российский биотерапевтический журнал. – 2021. – № 20(1). – С. 33-41.
26. ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества».
27. ГОСТ 26593-85 «Масла растительные. Метод измерения перекисного числа».
28. ГОСТ 31933-2012 «Масла растительные. Методы определения кислотного числа и кислотности».
29. Губергриц Н.Б. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата силимарина / Н.Б. Губергриц П.Г. Фоменко, Г.М. Лукашевич, О.А. Голубова // Фарматека – 2012. – №.2. – С.24–31.
30. Дельцов А.А. Маркетинговые исследования ассортимента ветеринарных аптечных организаций / А.А. Дельцов, И.В. Косова // Фармация и фармакология. – 2015. – № 5(12). – С. 31-36.
31. Дельцов А.А. Оценка параметров хронической токсичности комплексного препарата «Абиовит» / А.А. Дельцов, О.Р. Родькина, К.О. Белова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2022. – № 6. – С. 38-45.

32. Джавахян М.А. Анатомодиагностическое изучение травы володушки золотистой (*Herba Bupleuri aurei*) микроскопическим методом / М.А. Джавахян, Ю.С. Канунникова, Т.А. Сокольская, О.Б. Николаева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 3. – С. 22-28.
33. Джавахян М.А. От лекарственного растения к препарату (Володушка золотистая - *Bupleurum Aurei Fisch.*) / М.А. Джавахян, О.А. Семкина, Т.Д. Даргаева [и др.]. – Москва: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2018. – 186 с.
34. Дмитриева М.В. Характеристика и оценка стабильности липосомальных препаратов / М.В. Дмитриева, Т.А. Тимофеева, Н.А. Оборотова, И.И. Краснюк, О.И. Степанова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 3. – С. 36-44.
35. Егоров И.А. Дигидрокверцетин и арабиногалактан в комбикормах для цыплят-бройлеров / И.А. Егоров, Е.Н. Андрианова, Е.Н. Григорьева, А.В. Ксенофонтов // Птицеводство. – 2018. – №4. – С. 6-9.
36. Егоров И.А. Применение нанотехнологий в промышленном птицеводстве («МТох+» стратегия профилактики микотоксикозов) / И.А. Егоров, Б.Л. Розанов, Т.В. Егорова, Н.В. Мухина, З.Н.Черкай // Методические рекомендации. Под общей редакцией В.И. Фисинина: – Санкт-Петербург, 2011. – 34 с.
37. Егоров И.А. Хитозановые комплексы в комбикормах и воде для цыплят-бройлеров / И.А. Егоров, Т.В. Егорова // Птица и птицепродукты. – 2022. – № 5. – С. 27-30.
38. Жилкина В.Ю. Фитосомы – инновационная технология доставки растительных компонентов / В.Ю. Жилкина, А.И. Марахова, П. Кезимана, Е.В. Блынская // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 11. – С. 31-34.
39. Забудский Ю.И. Современные методы диагностики состояния стресса у сельскохозяйственных птиц / Ю.И. Забудский // Труды III-й Международной

- ирано-российской конференции «Сельское хозяйство и природные ресурсы». – М., 2002. – С. 134-135.
40. Иванова Н.Г. 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. – 24 с.
41. Калоев Б.С. Ферментные препараты и лецитин в кормлении цыплят-бройлеров / Б.С. Калоев, М.О. Ибрагимов // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2020. – Т. 57. – № 1. – С. 45-50.
42. Канунникова Ю.С. Разработка технологии получения володушки золотистой экстракта сухого / Ю.С. Канунникова, М.А. Джавахян // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 7. – С. 65-66.
43. Канунникова, Ю.С. Актуальность и перспективы разработки активных субстанций на основе травы Володушки золотистой (*Herba Vupleuri Aurei*) / Ю.С. Канунникова, М.А. Джавахян // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: под редакцией Р.Е. Калинина. – Рязань, 2013. – С. 170-172.
44. Кастарнова Е.С. Исследование дисперсий экзосом, полученных методом ультрафильтрации / Е.С. Кастарнова, В.А. Оробец, Д.А. Ковалев [и др.] // Биофармацевтический журнал. – 2019. – Т. 11. – № 1. – С. 20-23.
45. Кондрашова Ю.С. Наноструктуры для адресной доставки лекарственных веществ / Ю.С. Кондрашова // Forcipe. – 2019. – Т. 2. – № 1. – 244 с.
46. Коняева Е.А. Володушки золотистой трава – новое сырье для получения препаратов / Е.А. Коняева, О.Г. Алентьева // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2017. – № 3(17). – С. 4-8.
47. Котарев В.И. Интенсивность роста, сохранность и эффективность выращивания цыплят-бройлеров кросса «Росс 308» при применении в рационе кормовой добавки «Заслон 2+» / В.И. Котарев, Н.Н. Иванова // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2022. – Т. 58. – № 4. – С. 112-116.

48. Котарев В.И. Эффективность применения комплексной кормовой добавки для снижения воздействия токсинов в кормах для цыплят-бройлеров / В.И. Котарев, Н.Н. Иванова // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 2(15). – С. 99-106.
49. Кочиш И.И. Биохимические показатели крови цыплят-бройлеров при сравнительной профилактике микотоксикозов новыми адсорбентами микотоксинов / И.И. Кочиш, Е.А. Капитонова // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 161-164.
50. Кочиш И.И. Оценка действия пробиотика Бактосель на микробиоту кишечника цыплят-бройлеров / И.И. Кочиш, О.В. Мясникова, И.Н. Никонов // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 98. – С. 182-188.
51. Кочиш И.И. Эффективность цеолитсодержащих добавок в бройлерном птицеводстве / И.И. Кочиш, Е.А. Капитонова, В.Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 3(83). – С. 329-334.
52. Кощаев А.Г. Влияние бетаина на продуктивно-технологические показатели птицы / А.Г. Кощаев, Т.П. Патиева, О.П. Неверова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 84. – С. 242-246.
53. Кощаев А.Г. Эффективность использования кормовой добавки СБТ-лакто в рационе сельскохозяйственной птицы / А.Г. Кощаев, А.Х. Шантыз, В.Б. Одезянко [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 243. – № 3. – С. 138-142.
54. Кощаев А.Г. Яичная продуктивность кур-несушек и морфометрический состав яиц при скармливании природной кормовой добавки / А.Г. Кощаев, Н.А. Юрина, С.И. Кононенко [и др.] // *Advances in Agricultural and Biological Sciences*. – 2018. – Т. 4. – № 2. – С. 13-20.
55. Краснопольский Ю.М. Технологии и перспективы использования липосомальных лекарственных препаратов в клинической практике / Ю.М. Крас-

нопольский, А.С. Григорьева, А.Г. Кацай [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2017. – Т. 12. – № 7-8. – С. 132-141.

56. Крепкова Л.В. Экспериментальное и клиническое изучение фитопрепаратов из расторопши пятнистой / Л.В. Крепкова, А.А. Шкаренков, Т.А. Сокольская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 4. – С. 3-6.

57. Кузьминова Е.В. Адаптогумин: спектр фармакодинамических эффектов / Е.В. Кузьминова, М.П. Семенов, И.А. Болоцкий [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 84. – С. 254-260.

58. Кузьминова Е.В. Повышение метаболического статуса птицы при кормовом стрессе / Е.В. Кузьминова, М.П. Семенов, Д.В. Антипова, А.Г. Кошцаев, И.С. Жолобова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2019. – № 78. – С. 169-174.

59. Кузьминова Е.В. Экологические аспекты применения антиоксидантов при транспортном стрессе у птицы / Е.В. Кузьминова, М.П. Семенов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т. 230. № 2. – С. 98-101.

60. Кузьминова Е.В. Эффективность комплексного препарата на основе вторичных растительных ресурсов при микотоксикозе сельскохозяйственной птицы / Е.В. Кузьминова, Е.П. Долгов, М.П. Семенов, П.В. Мирошниченко // Ветеринария сегодня. – 2020. – № 4(35). – С. 272-276.

61. Кулакова И.И. Направленный транспорт лекарственных средств: от идеи до внедрения. Учебно-методическое пособие / И.И. Кулакова, Г.В. Лисичкин, Р.Ю. Яковлев, Н.Г. Селезнев. – Рязань. – 2018. – 104 с.

62. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств (обзор) / В.А. Куркин // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37 – № 4. – С. 27-41.

63. Куркин В.А. Сравнительное исследование антиоксидантной активности некоторых флавоноидов и гепатопротекторных лекарственных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, О.Е. Прав-

- дивцева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 203-205.
64. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов). – 3-е изд., перераб. и доп. / В.А. Куркин. – Самара. – 2016. – 1279 с.
65. Куркин В.А. Флаволигнаны плодов *Silybum marianum* / В.А. Куркин, А.А. Лебедев, Г.Г. Запесочная и др. // Химия природных соединений. – 2001. – № 5. – С. 37-41.
66. Курманова Е.Н. Изучение специфической активности володушки золотистой травы экстракта суммарного / Е.Н. Курманова, М.А. Джавахян, А.И. Громакова, Е.В. Ферубко // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции. – Москва, 2016. – С. 601-602.
67. Курманова Е.Н. Фармакологическое изучение володушки золотистой травы экстракта сухого / Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, И.А. Лупанова, Р.К. Курманов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение. – 2017. – Т. 27. – № 5. – С. 84.
68. Лампрехт А. Наноллекарства: Концепции доставки лекарств в нанонауке. Монография /А. Ламмпрехт – 2010. – 232 с.
69. Леонтьев В.Н. Сравнительный анализ флавоноидов лекарственных растений, произрастающих в различных геоклиматических зонах / В.Н. Леонтьев, О.С. Игнатовец, Е.В. Феськова, Я.Л. Страх, Д.Т. Мирзарахметова // Материалы Международ. науч. конф., посвящ. 86-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Минск, 2022. – С. 268-271.
70. Леонтьева Н.В. Дигидрокверцетин – природный антиоксидант: Учебное пособие. / Н.В. Леонтьева // - СПб: СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2016 – 36 с.
71. Лесовая Ж.С. Разработка методики стандартизации травы репешка обыкновенного *Agrimonia Eupatoria* по флавоноидам / Ж.С. Лесовая, Д.И. Писарев, О.О. Новиков // Научные ведомости Белгородского государственного университета.– 2010. – № 22-2(93). – С. 150-154.

72. Малявина В.В. Лекарственные препараты на основе фосфолипидов и их применение в медицинской практике (обзор) / В.В. Малявина, С.А. Томилина, А.М. Сампиев // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Вып. 62. Пятигорск. – 2007. – С. 554-559.
73. Малявина В.В. Применение программных средств визуализации и обработки данных ТСХ-анализа при производстве фосфолипидных продуктов / В.В. Малявина // Научно-практический журнал «Фармация». – 2003. – С. 26-30.
74. Манджиголадзе Т.Ю. Изучение гепатопротекторного действия лецитина и сиропа с лецитином / Т.Ю. Манджиголадзе, Т.Ю. Арчинова // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации: Материалы научно-практической конференции с международным участием. – Пермь: Пермская государственная фармацевтическая академия, 2011. – С. 115-118.
75. Марнаутов Н.А. Исследование действия магнитных липосом, нагруженных рубомицином, на динамику роста карциномы льюис у мышей / Н.А. Марнаутов, Л.Х. Комиссарова, В.Н. Ерохин [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – Т. 27. – № 4. – С. 60-64.
76. Мартынова Е.У. Наночастицы: перспективы использования в медицине и ветеринарии / Е.У. Мартынова, Е.Н. Козлов, Д.В. Муха // Успехи современной биологии. – 2012. – Т. 132. – № 5. – С. 435-447.
77. Мартыничик И.А. Исследование фармакологической активности экстракта володушки золотистой (*Bupleurum aureum L.*) на модели хлоралгидратного сна / И.А. Мартыничик, Е.В. Ферубко, В.К. Колхир // Молодые ученые и фармация XXI века: Сборник научных трудов Четвертой научно-практической конференции с международным участием. – Москва: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», 2016. – С. 415-418.
78. Медетханов Ф.А. Влияние фитобиотика Ксенивет на росто-весовые показатели цыплят-бройлеров мясного кросса / Ф.А. Медетханов, М.И. Гилемха-

- нов, К.В. Муравьева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. – Т. 245. – № 1. – С. 98-100.
79. Медетханов Ф.А. Изучение острой токсичности комплексного средства «З – 88» на белых мышах / Ф.А. Медетханов, З.Ф. Аухадиева, О.Н. Новоселов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 241. – № 1. – С. 143-146.
80. Методические указания по изучению противогрибковой активности лекарственных средств. // В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
81. Мирович В.М. Фармакогностическая характеристика володушки золотистой, культивируемой в Иркутской области / В.М. Мирович, А.А. Посохина // Инновационные технологии в фармации: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России. – Иркутск. – 2018. – С. 181-184.
82. Мифтахутдинов А.В. Адаптационные механизмы и особенности липидного обмена у кур с разной устойчивостью к стрессам / А.В. Мифтахутдинов, Э.М. Аминова, Н.М. Колобкова, Д.М. Колобков // Аграрная наука. – 2018. – № 10. – С. 15-19.
83. Мифтахутдинов А.В. Эффективность применения стресспротекторной кормовой добавки в бройлерном птицеводстве / А.В. Мифтахутдинов, Э.Р. Сайфульмулюков, Е.А. Ноговицина // Российская сельскохозяйственная наука. – 2021. – № 1. – С. 55-58.
84. Накусов Т.Т. Влияние кверцетина и дигидрокверцетина на свободнорадикальные процессы в разных органах и тканях крыс при гипоксической гипоксии: специальность 03.01.04 «Биохимия»: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Т.Т. Накусов. – Ростов-на-Дону, 2010. – 161 с.
85. Никанова Л.А. Влияние дигидрокверцетина и арабиногалактана на промежуточный обмен и резистентность организма поросят / Л.А. Никанова //

Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 1(33). – С. 85-91.

86. Никулин В.Н. Влияние комплекса аминокислот и диоксида кремния на продуктивность и качество мяса цыплят-бройлеров / В.Н. Никулин, А.С. Муштафина // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2021. – № 8(193). – С. 42-56.

87. Никулин В.Н. Влияние совместного применения тетралактобактерина и йодида калия на микроэлементный состав крови цыплят-бройлеров / В.Н. Никулин, В.В. Герасименко, А.А. Пикулик // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2017. – № 5(67). – С. 252-254.

88. Носков С.Б. Применение протейта для нормализации обмена веществ у телят / С.Б. Носков, А.А. Медведев // Материалы национальной международной научно-производственной конференции «Биотехнологические решения задач аграрной науки». – Майский: Белгородский ГАУ, 2017. – С. 39-41.

89. Носков С.Б. Эффективность использования новых биологически-активных добавок в рационах цыплят-бройлеров / С.Б. Носков, Л.В. Резниченко // Материалы национальной научно-производственной конференции «Инновационное развитие отраслей АПК». – Майский: Белгородский ГАУ, 2016. – С. 47-49.

90. Оробец В.А. Использование экзосом в качестве терапевтической системы доставки лекарственных средств / В.А. Оробец, Е.С. Кастарнова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – № 8-3(39). – С. 30-33.

91. Оробец В.А. Морфологический и биохимический состав крови цыплят-бройлеров при введении в рацион разработанного агрегативноустойчивого витаминно-минерального комплекса на основе селена в условиях смоделированного теплового стресса / В.А. Оробец, Е.А. Соколова, Е.С. Кастарнова, О.И. Севостьянова // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 2. – С. 24-26.

92. Оробец В.А. Определение влияния препарата «Экстраселен-Е+Vmin» на продуктивность кур-несушек / В.А. Оробец, О.И. Севостьянова // Вестник ветеринарии. – Ставрополь, 2013. – № 66 – С. 49-52.

93. Осепчук Д.В. Кормовой ингредиент природного происхождения в кормлении сельскохозяйственной птицы / Д.В. Осепчук, А.А. Свистунов, Д.А. Юрин, Н.В. Агаркова // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11. – № 1. – С. 65-68.
94. ОФС 1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота».
95. ОФС.1.1.0009.18 «Сроки годности лекарственных средств»
96. Панин В.П. Фармакологическое изучение влияния володушки золотистой на сердечно-сосудистую и нервную системы / В.П. Панин, И.А. Мартыничик, М.И. Панина, Е.В. Ферубко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21. – № 5. – С. 16-21.
97. Постнов В.Н. Наноразмерные носители для доставки лекарственных препаратов / В.Н. Постнов, Е.Б. Наумышева, Д.В. Королев, М.М. Галагудза // Биотехносфера. – 2013. – № 6(30). – С. 16-27.
98. Резниченко А.А. Перспективы применения витаминно-ферментного комплекса в бройлерном птицеводстве / А.А. Резниченко, Л.В. Резниченко, С.Б. Носков, Р.В. Щербинин // Ветеринария и кормление. – 2021. – № 4. – С. 50-52.
99. Резниченко А.А. Эффективность применения витаминно-ферментного комплекса "Витаферм" цыплятам-бройлерам / А.А. Резниченко, Л.В. Резниченко, С.Б. Носков, В.И. Дорожкин. – Москва. – 2021. – 11 с.
100. Резниченко Л.В. Эффективность применения антиоксидантов в бройлерном птицеводстве / Л.В. Резниченко, А.А. Резниченко, С.Б. Носков, Е.Н. Рябцева // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2021. – № 1(19). – С. 33-37.
101. Росихин Д.В. Фармакогностическое исследование по обоснованию комплексного использования расторопши пятнистой (*Silybummarianum* (L.) Gaertn.): специальность 14.04.00 «Фармацевтические науки»: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Д.В. Росихин. – Самара, 2018. – 165 с.
102. Рубан Н.А. Влияние фосфолипидов в составе кормовых добавок с лецитином на переваримость питательных веществ молодняка гусей / Н.А. Рубан,

В.В. Микитюк // Технология производства и переработки продукции животноводства. – 2014. – № 2. – С. 57-59.

103. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Издание 2-е, переработанное и дополненное. – Москва: Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

104. Сагарадзе В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве володушки золотистой / В.А. Сагарадзе, О.Л. Сайбель, М.А. Джавахян // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2016. – № 2(12). – С. 35-36.

105. Салеева И.П. Ферментационная подстилка для цыплят-бройлеров (обзор) / И.П. Салеева, Е.В. Журавчук // Птицеводство. – 2022. – № 5. – С. 36-41.

106. Самылина И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие в 2-х томах / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т.2. – С. 364.

107. Сариев А.К. Проблема повышения биодоступности лекарственных средств методами нанофармакологии: фармакокинетика липосомальных препаратов / А.К. Сариев, Д.А. Абаимов, Р.Д. Сейфулла // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73. – № 11. – С. 34-38.

108. Сейфулла Р.Д. Фармакология липосомальных препаратов: (в эксперименте и клинике) / Р.Д. Сейфулла. – Москва: б. и., 2010. – 241 с.

109. Семенов М.П. Оценка эффективности препарата гепрасан при профилактике микотоксикозов у цыплят-бройлеров / М.П. Семенов, М.Н. Соколов, Е.В. Кузьмина, П.В. Мирошниченко // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2018. – № 1(25). – С. 95-98.

110. Соснов А.В. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц / А.В. Соснов, Р.В. Иванов, К.В. Балакин, Д.Л. Шоболов, Ю.А. Федотов, Ю.М. Калмыков // Качественная Клиническая Практика. – 2008. - № 2. – С. 4-12.

111. Степанов Ю.М. Применение эссенциальных фосфолипидов для лечения жировой болезни печени / Ю.М. Степанов // Гастроэнтерология. – 2016. – № 4 (62). – С. 58-64.

112. Стрелкова Л.Б. Гепатозащитное действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите / Л.Б. Стрелкова, Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, М.И. Панина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63. – №. 1. – С. 77-82.
113. Сурай П.Ф. Природные антиоксиданты в эмбриогенезе кур и защита от стрессов в постнатальном развитии / П.Ф. Сурай, В.И. Фисин // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 2. – С. 3-18.
114. Сухинин А.А. Липосомальные вакцины в промышленном птицеводстве: специальность 03.00.23: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / А.А. Сухинин. – Санкт-Петербург, 2004. – 40 с.
115. Тараховский Ю.С. Интеллектуальные липидные наноконтейнеры в адресной доставке лекарственных веществ / Ю.С. Тараховский. М.: Издательство ЛКИ, 2011. – 280 с.
116. Умнова О.А. Сравнение биологической активности фитохимических композиций в нативной и липосомальной формах / О.А. Умнова // Вестн. Моск. ун-та. – Сер. 2. Химия. – 2010. – Т. 51. – № 6. – С. 476-480.
117. Ферубко Е.В. Володушка золотистая (*Bupleurum aureum Fisch.*) как перспективный источник новых лекарственных препаратов противоязвенного и гепатопротекторного действия / Е.В. Ферубко, Т.Л. Киселева, Е.Н. Курманова [и др.] // Традиционная медицина. – 2022. – № 2(68). – С. 12-20.
118. Ферубко Е.В. Изучение агрегационной активности экстракта володушки золотистой / Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова // Молодые учёные и фармация XXI века: Сборник трудов шестой научной конференция с международным участием. – Москва: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», 2018. – С. 298-301.
119. Ферубко Е.В. Изучение фармакологической активности фракций сухого экстракта травы репешка обыкновенного (*Agrimonia eupatoria L.*) / Е.В. Ферубко, А.И. Багинская, Т.Е. Лескова [и др.] // Человек и лекарство: Сборник материалов конгресса. Тезисы докладов. – Москва: РИЦ «Человек и лекарство», 2013. – С. 451-452.

120. Филимонова С.А. Адаптационные показатели морфофизиологического статуса собак под действием холодных климатических факторов Самарской области и их коррекция дигидрокверцетином / С.А. Филимонова, Г.В. Молянова // Инновационные пути решения актуальных проблем АПК России: Материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции. – Персиановский: Донской ГАУ, 2018. – С. 402-406.
121. Фисинин В.И. Антистрессовая активность и эффективность применения фармакологического комплекса СПАО курам родительского стада / В.И. Фисинин, А.В. Мифтахутдинов, В.В. Пономаренко, Д.Е. Аносов // Аграрный вестник Урала. – 2015. – № 12. – С. 54-58.
122. Фисинин В.И. Влияние липосомной наноформы комплекса флаволигнанов расторопши пятнистой (силимарина) на основные зоотехнические и физиологические показатели у цыплят-бройлеров / В.И. Фисинин, И.А. Егоров, Е.Н. Андрианова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – Т. 46. – № 4. – С. 30-35.
123. Фисинин В.И. Инновационные направления промышленного птицеводства / В.И. Фисинин // Птицепромышленность. – 2011. – № 2. – С. 14-23.
124. Фисинин В.И. Эффективная защита от стрессов в птицеводстве: от витаминов к витагенам / В.И. Фисинин, П.Ф. Сурай // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 5. – С. 23-26.
125. Цаприлова С.В. Расторопша пятнистая: химический состав, стандартизация, применение / С.В. Цаприлова, Р.А. Родионова // Вестник фармации. – 2008. - № 3, Вып. 41. – С. 92-104.
126. Шанская А.И. Липосомальные наносистемы на основе соевых фосфолипидов как контейнер для лекарственных средств / А.И. Шанская, С.М. Пучкова // Трансфузиология. – 2013. – Т. 14. – № 2. – С. 66-75.
127. Шахова В.Н. Инновационные технологии в фармации: липосомальные формы лекарственных препаратов / В.Н. Шахова, К. Гулян // Сборник научных статей по материалам 87-й международной научно-практической конфе-

- ренции «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу»: ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ». – Ставрополь, 2022. – С. 249-252.
128. Швед А.В. Новая Лецитинсодержащая кормовая добавка в рационах молодняка крупного рогатого скота / А. В. Швед // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. – 2022. – С. 250-255.
129. Швец В.И. Исследования в области создания эффективных лекарственных препаратов нового поколения включением классических субстанций в наноконтейнеры / В.И. Швец, А.И. Лютик // Вестник МИТХТ им. М.В. Ломоносова. – 2014. – Т. 9. – № 3. – С. 11-20.
130. Яковлев Г.П. Лекарственное сырье. Фармакогнозия: учебник для вузов/ Г.П. Яковлев, К.Ф. Блинов – СПб: Спец-Лит, 2004 – 765 с.
131. Abenavoli L. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases / L. Abenavoli, A.A. Izzo, N. Milić [et al.] // *Phytother Res.* – 2018. – Vol. 32. – P. 2202-2213.
132. Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. – CRC press, 2005.
133. Armanini E.H. Protective effects of silymarin in broiler feed contaminated by mycotoxins: growth performance, meat antioxidant status, and fatty acid profiles / E.H. Armanini, M.M. Boiago, B.G.O. Cécere // *Tropical Animal Health and Production.* – 2021. – Vol. 53. – № 4. – P. 442.
134. Bai D.P. Theranostics Aspects of Various Nanoparticles in Veterinary Medicine / D.P. Bai, X.Y. Lin, Y.F. Huang, X.F. Zhang // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19. – № 11. – P. 3299.
135. Banerjee R. Liposomes: applications in medicine / R. Banerjee // *Journal of Biomaterials applications.* – 2001. – Vol. 16. – № 1. – P. 3-21.
136. Baradaran A. Hepatoprotective effects of silymarin on CCl₄-induced hepatic damage in broiler chickens model / A. Baradaran, F. Samadi, S.S. Ramezani, S. Yousefdoust // *Toxicology reports.* – 2019. – Vol. 6. – P. 788-794.

137. Basu S.C. Liposome methods and protocols / S.C. Basu, M. Basu [et al.] // Springer Science & Business Media, 2008. – Vol. 199.
138. Bawarski W.E. Emerging nanopharmaceuticals / W.E Bawarski, E. Chidlowsky, D.J. Bharali, S.A. Mousa // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2008. – Vol. 4. – № 4. – P. 273-282.
139. Bhattacharya S. Phytosomes: the new technology for enhancement of bioavailability of botanicals and nutraceuticals / S. Bhattacharya // Int J Health Res. – 2009. – Vol. 2. – № 3. – P. 225-232.
140. Brayden D.J. Drug delivery systems in domestic animal species / D.J. Brayden, E.J.M. Oudot, A.W. Baird // Comparative and veterinary pharmacology. – 2010. – P.79-112.
141. Caracciolo G., Amenitsch H. Cationic liposome/DNA complexes: from structure to interactions with cellular membranes / G. Caracciolo, H. Amenitsch // European Biophysics Journal. – 2012. – Vol. 41. – № 10. – P. 815-829.
142. Chand N. Protective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) against aflatoxin B1 in broiler chicks / N. Chand, M. Din, F.R. Durrani [et al.] // Asian-Australas J Anim Sci. – 2011. – Vol. 24. – P. 1011-1018.
143. Cox J.M. Advances in enteropathogen control in poultry production / J.M. Cox, A. Pavic // Journal of Applied Microbiology. – 2010. – Vol. 108. – № 3. – P. 745-755.
144. Csaba N. Nanoparticles for nasal vaccination / N. Csaba, M. Garcia-Fuentes, M.J. Alonso // Advanced drug delivery reviews. – 2009. – Vol. 61. – P. 140-157.
145. Daraee H. Application of liposomes in medicine and drug delivery / H. Daraee, A. Etemadi, M. Kouhi [et al.] // Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. – 2016. – Vol. 44. – № 1. – P. 381-391.
146. Dayan N. Carriers for skin delivery of trihexyphenidyl HCl: ethosomes vs. liposomes / N. Dayan, E. Touitou // Biomaterials. – 2000. – Vol. 21. – № 18. – P. 1879-1885.
147. Dubey S.K. Microparticulate and nanotechnology mediated drug delivery system for the delivery of herbal extracts / S.K. Dubey, S. Parab, V.P.K. Achalla

[et al.] // Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. – 2022. – Vol. 33. – № 12. – P. 1531-1554.

148. Dutta R.C. Drug carriers in pharmaceutical design: promises and progress / R.C. Dutta // Current pharmaceutical design. – 2007. – Vol. 13. – № 7. – P. 761-769.

149. Egresi A. Impact of milk thistle (*Silybum marianum*) on the mycotoxin caused redox-homeostasis imbalance of ducks liver / A. Egresi, K. Süle, K. Szentmihályi [et al.] // Toxicon. – 2020. – Vol. 187. – P. 181-187.

150. El-Samaligy M.S. Evaluation of hybrid liposomes-encapsulated silymarin regarding physical stability and in vivo performance / M.S. El-Samaligy, N.N. Afifi, E.A. Mahmoud // International journal of pharmaceutics. – 2006. – Vol. 319. – № 1-2. – P. 121-129.

151. Gandhi A. Recent trends of phytosomes for delivering herbal extract with improved bioavailability / A. Gandhi, A. Dutta, A. Pal, P. Bakshi // J Pharmacogn Phytochem. – 2012. – Vol. 1. – № 4. – P. 6-14.

152. Granica S. The phytochemical investigation of *Agrimonia eupatoria* L. and *Agrimonia procera* Wallr. as valid sources of *Agrimoniae herba*—The pharmacopoeial plant material / S. Granica, H. Kluge, G. Horn [et al.] // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2015. – Vol. 114. – P. 272-279.

153. Hoh C. Pilot study of oral silibinin, a putative chemopreventive agent in colorectal cancer patients: silibinin levels in plasma, colorectum and liver and their pharmacodynamic consequences / C. Hoh, D. Boocock, D. Marczylo, R. Singh, D.P. Berry, A.R. Dennison // Clin Cancer Res. – 2006. – Vol. 12 (9). – P. 2944-2950.

154. Husch J. Structural properties of so-called NSAID-phospholipid-complexes / J. Husch, B. Dutagaci, C. Glaubitz, T. Geppert, G. Schneider, M. Harms // Eur J Pharm Sci. – 2011. – Vol. 44. – P. 103-116.

155. Huzio N. Phytochemical and Pharmacological Research in *Agrimonia eupatoria* L. Herb Extract with Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Properties / N. Huzio, A. Grytsyk, A. Raal [et al.] // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 18. – P. 2371.

156. Huzio N.M. Determination of flavonoids and hydroxycinnamic acids in the herb of common agrimony by HPLC method / N.M. Huzio, A.R. Grytsyk,

L.I. Budniak, I.R. Bekus // The Pharma Innovation Journal. – 2020. – Vol. 9. – № 1. – P. 43-46.

157. Irache J.M. Nanomedicine: novel approaches in human and veterinary therapeutics / J.M. Irache, I. Esparza, C. Gamazo [et al.] // Veterinary parasitology. – 2011. – Vol. 180. – № 1-2. – P. 47–71.

158. Judson I. Randomised phase II trial of pegylated liposomal doxorubicin (DOXIL[®]/CAELYX[®]) versus doxorubicin in the treatment of advanced or metastatic soft tissue sarcoma: a study by the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group / I. Judson, J.A. Radford, M. Harris [et al.] // European Journal of Cancer. – 2001. – Vol. 37. – № 7. – P. 870-877.

159. Kang J.T. Quercetin improves the in vitro development of porcine oocytes by decreasing reactive oxygen species levels / J.T. Kang, D.K. Kwon, S.J. Park [et al.] // Journal of Veterinary Science. – 2013. – Vol. 14. – № 1. – P. 15-20.

160. Karlinska E. The aerial parts of *Agrimonia procera* Wallr. and *Agrimonia eupatoria* L. as a source of polyphenols, and especially agrimoniin and flavonoids / E. Karlinska, B. Romanowska, M. Kosmala // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – № 24. – P. 7706.

161. Kaur P. Emerging trends and future prospective of phytosomes as carrier for enhanced bioavailability of bioactives: A review / P. Kaur, P. Sen, S. Arora, A. Sharma // Ph Tech Med. – 2012. – Vol. 1. – № 3. – P. 109-119.

162. Khan J. Preparation and evaluation of luteolin–phospholipid complex as an effective drug delivery tool against GalN/LPS induced liver damage / J. Khan, S. Saraf, S. Saraf // Pharmaceutical development and technology. – 2016. – Vol. 21. – № 4. – P. 475-486.

163. Khazaei R. A review on the mechanisms of the effect of silymarin in milk thistle (*Silybum marianum*) on some laboratory animals / R. Khazaei, A. Seidavi, M. Bouyeh // Vet Med Sci. – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 289-301.

164. Kidd P.M. A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin-phosphatidylcholine complex (Siliphos) / P.M. Kidd, K. Head // Altern Med Rev. – 2005. – Vol. 10. – P. 193- 203.

165. Kidd P.M. Bioavailability and activity of phytosome complexes from botanical polyphenols: the silymarin, curcumin, green tea, and grape seed extracts / P.M. Kidd // *Altern Med Rev.* – 2009. – Vol. 14. – № 3. – P. 226-246.
166. Kleiter M. Concomitant liposomal doxorubicin and daily palliative radiotherapy in advanced feline soft tissue sarcomas / M. Kleiter, A. Tichy, M. Willmann, M. Pagitz, B. Wolfesberger // *Veterinary Radiology & Ultrasound.* – 2010. – Vol. 51. – № 3. – P. 349-355.
167. Kono K. Thermosensitive polymer-modified liposomes / K. Kono // *Advanced drug delivery reviews.* – 2001. – Vol. 53. – № 3. – P. 307–319.
168. Korsholm K.S. Cationic liposomal vaccine adjuvants in animal challenge models: overview and current clinical status / K.S. Korsholm, P.L. Andersen, D. Christensen // *Expert review of vaccines.* – 2012. – Vol. 11. – № 5. – P. 561-577.
169. Kumar P. Phytosomes a novel phyto-phospholipid carriers: an overview / P. Kumar, S. Yadav, A. Agarwal, N. Kumar // *Int J Pharm Res Dev.* – 2010. – Vol. 2. – № 6. – P. 1-7.
170. Lukyanov A.N. Tumor-targeted liposomes: doxorubicin-loaded long-circulating liposomes modified with anti-cancer antibody / T.A. Elbayoumi, A.R. Chakilam, V.P. Torchilin // *Journal of Controlled Release.* – 2004. – Vol. 100. – № 1. – P. 135–144.
171. Machado A.R. Importance of lecithin for encapsulation processes / A.R. Machado, L.M. De Assis, M.I.R. Machado, L.A. de Souza-Soares // *Afr. J. Food Sci.* – 2014. – Vol. 8. – № 4. – P. 176–183.
172. Madrigal-Santillán E. Review of natural products with hepatoprotective effects / E. Madrigal-Santillán, E. Madrigal-Bujaidar, I. Álvarez-González [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20. – № 40. – P. 14787-804.
173. Malheiros J. *Agrimonia eupatoria* L.: An integrative perspective on ethnomedicinal use, phenolic composition and pharmacological activity / J. Malheiros, D.M. Simões, A. Figueirinha [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2022. – Vol. 296. – P. 115498.

174. Medina O.P. Targeted liposomal drug delivery in cancer / O.P. Medina, Y. Zhu, K. Kairemo // *Current pharmaceutical design*. – 2004. – Vol. 10. – № 24. – P. 2981-2989.
175. Moscarella S. Therapeutic and antilipoperoxidant effects of silybin-phosphatidylcholine complex in chronic liver disease: Preliminary results / S. Moscarella, A. Giusti, F. Marra [et al.] // *Current therapeutic research*. – 1993. – Vol. 53. – № 1. – P. 98-102.
176. Nguyen T.L. Development and in vitro evaluation of liposomes using soy lecithin to encapsulate paclitaxel / T.L. Nguyen, T.H. Nguyen, D.H. Nguyen // *International journal of biomaterials*. – 2017. – Vol. 2017.
177. Nordly P. Status and future prospects of lipid-based particulate delivery systems as vaccine adjuvants and their combination with immunostimulators / P. Nordly, H.B. Madsen, H.M. Nielsen, C. Foged // *Expert opinion on drug delivery*. – 2009. – Vol. 6. – № 7. – P. 657-672.
178. Ocete M.A. Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltarium*: anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri / M.A. Ocete, S. Risco, A. Zarzuelo, J. Jimenez // *Journal of Ethnopharmacology*. – 1989. – Vol. 25. – № 3. – P. 305-313.
179. Orlova S.V. Bioavailability and safety of dihydroquercetin / S.V. Orlova, V.V. Tatarinov, E.A. Nikitina [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2022. – Vol. 55. – № 11. – P. 1133-1137.
180. Osepchuk D. Corn Extract Effect on Broiler Chickens Productivity / D. Osepchuk, A. Svistunov, N. Agarkova [et al.] // *Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East: Agricultural Innovation Systems, Volume 2, Ussuriysk, 21–22 июля 2021 года*. – Ussuriysk, 2022. – P. 152-159.
181. Paluch Z. The therapeutic effects of *Agrimonia eupatoria* L / Z. Paluch, L. Biriczová, G. Pallag [et al.] // *Physiological Research*. – 2020. – Vol. 69. – № Suppl 4. – P. 555-571.

182. Park K. Facing the truth about nanotechnology in drug delivery / K. Park // *ACS nano*. – 2013. – Vol. 7. – № 9. – P. 7442-7447.
183. Patel J. An overview of phytosomes as an advanced herbal drug delivery system / J. Patella, R. Patelb, K. Khambholjab, N. Patela // *Asian J Pharm Sci*. – 2009. – Vol. 4. – № 6. – P. 363-371.
184. Patra J.K. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects / J.K. Patra, G. Das, L.F. Fraceto [et al.] // *Journal of nanobiotechnology*. – 2018. – Vol. 16. – № 1. – P. 1-33.
185. Pirgozliev V. Feeding dihydroquercetin to broiler chickens / V. Pirgozliev, C. Westbrook, S. Woods [et al.] // *British poultry science*. – 2019. – Vol. 60. – № 3. – P. 241-245.
186. Pirgozliev V.R. Feeding dihydroquercetin and vitamin E to broiler chickens reared at standard and high ambient temperatures / V.R. Pirgozliev, S.C. Mansbridge, C.A. Westbrook [et al.] // *Arch Anim Nutr*. – 2020. – Vol. 74. – № 6. P. 496-511.
187. Rose J.S. Extended-duration analgesia: update on microspheres and liposomes / J.S. Rose, J.M. Neal, D.J. Kopacz // *Regional anesthesia and pain medicine*. – 2005. – Vol. 30. – № 3. – P. 275.
188. Saraf S. Applications of novel drug delivery system for herbal formulations / S. Saraf [et al.] // *Fitoterapia*. – 2010. – Vol. 81. – № 7. – P. 680-689.
189. Schroeder A. Treating metastatic cancer with nanotechnology / A. Schroeder, D.A. Heller, M.M. Winslow [et al.] // *Nature Reviews Cancer*. – 2012. – Vol. 12. – № 1. – P. 39-50.
190. Semalty A. Supramolecular phospholipids-polyphenolics interaction: the phytosome strategy to improve the bioavailability of phytochemicals / A. Semalty, M. Semalty, M.S.M. Riwayat, F. Franceschi // *Fitoterapia*. – 2010. – P. 306-314.
191. Semenenko M. P. A study of the pharmacodynamic effects of a complex hepatoprotector on broiler chickens / M. P. Semenenko, N. N. Zabachta, N. Sokolov, E. V. Kuzminova // *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2018. – Vol. 10. – № 1. – P. 146-147.

192. Shanmugam S. Silymarin seed extract supplementation enhances the growth performance, meat quality, and nutrients digestibility, and reduces gas emission in broilers. / S. Shanmugam, J.H. Park, S. Cho, I.H. Kim // *Anim Biosci.* – 2022. – Vol. 35. – № 8. – P. 1215-1222.
193. Sharma G. Liposomes as targeted drug delivery systems in the treatment of breast cancer / G. Sharma, S. Anabousi, C. Ehrhardt, M.N.V. Ravi Kumar // *Journal of drug targeting.* – 2006. – Vol. 14. – № 5. – P. 301-310.
194. Sindhumol P.G. Phytosome: a novel dosage form for enhancement of bioavailability of botanical and nutraceuticals / P.G. Sindhumol, M. Thomas, P.S. Mohanachandran. // *Int J Pharm Pharm Sci.* – 2010. – Vol. 2. – № 4. – P. 10-14.
195. Storni T. Immunity in response to particulate antigen-delivery systems / T. Storni, T. M. Kündig, G. Senti, P. Johansen // *Advanced drug delivery reviews.* – 2005. – Vol. 57. – № 3. – P. 333-355.
196. Tedesco D. Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks / D. Tedesco, S. Steidler, S. Galletti [et al.] // *Poult Sci.* – 2004. – Vol. 83. – P. 1839–43.
197. Thornton P.K. Livestock production: recent trends, future prospects / P.K. Thornton // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* – 2010. – Vol. 365. – № 1554. – P. 2853-2867.
198. Torchilin V.P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers / V.P. Torchilin // *Nature reviews Drug discovery.* – 2005. – Vol. 4. – № 2. – P. 145-160.
199. Umayya S.R. Exploration of plant products and phytochemicals against aflatoxin toxicity in broiler chicken production: Present status / S.R. Umayya, Y.C. Vijayalakshmi, V. Sejian // *Toxicon.* – 2021. – Vol. 200. – P. 55-68.
200. Underwood C., Van Eps A. W. Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality // *The Veterinary Journal.* – 2012. – Vol. 193. – № 1. – P. 12–23.
201. Vail D.M. Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a ran-

- domized multi-institutional clinical trial / D.M. Vail, E.G. MacEwen, I.D. Kurzman [et al.] // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. – 1995. – Vol. 1. – № 10. – P. 1165-1170.
202. Van Hoogevest P. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients / P. Van Hoogevest, A. Wendel // *European journal of lipid science and technology*. – 2014. – Vol. 116. – № 9. – P. 1088-1107.
203. Volkov A.A. Study of therapeutic properties of the prototype injection of a hepatoprotective drug based on flavolignans of *silybummarianum* // A.A. Volkov, S.A. Staroverov, S.V. Kozlov [et al.] // *Biology and Medicine*. – 2015. – Vol. 7. – № 2. – P. 192-199.
204. Wahab S. Nanomaterials for the delivery of Herbal Bioactive Compounds / S. Wahab, M.P. Ahmad, A. Hussain, S.F.A. Qadir // *Current Nanoscience*. – 2022. – Vol. 18. – № 4. – P. 425-441.
205. Wilk-Wozniak K.J. The effect of potentially toxic cyanobacteria on ciliates (Ciliophora) / K.J. Wilk-Wozniak, E.K. Wojciech // *Hydrobiologia*. – 2019. – 827 p.
206. Yang C.L. Hepatoprotective mechanisms of taxifolin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice / C.L. Yang, Y.S. Lin, K.F. Liu [et al.] // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11. – № 11. – P. 2655.
207. Yanyu X. The preparation of silybin–phospholipid complex and the study on its pharmacokinetics in rats / X. Yanyu, S. Yunmei, C. Zhipeng, P. Quineng // *International journal of pharmaceutics*. – 2006. – Vol. 307. – № 1. – P. 77-82.
208. Yoon S. J. *Agrimonia eupatoria* protects against chronic ethanol-induced liver injury in rats / S.J. Yoon, E.J. Koh, C.S. Kim, [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2012. – Vol. 50. – № 7. – P. 2335-2341.
209. Young J.F. Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality / J.F. Young, J. Stagsted, S.K. Jensen [et al.] // *Poult Sci*. – 2003. – Vol. 82. – P. 1343–1351.
210. Zabielska-Koczywaś K. The use of liposomes and nanoparticles as drug delivery systems to improve cancer treatment in dogs and cats / K. Zabielska-Koczywaś, R. Lechowski // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22. – № 12. – P. 2167.

7 ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Таблица 1 – Качественный состав и количественное содержание фенольных соединений в экстракте травы репешка обыкновенного

Название вещества	Количественное содержание, мг/100 г
Таниновые компоненты	
Галловая кислота	$8,0 \pm 0,3$
Галлокатехин	$210,0 \pm 4,2$
Эпигаллокатехин	$970,0 \pm 9,2$
Катехин	$380,0 \pm 7,6$
Эпикатехин	$1160,0 \pm 12,7$
Галлат эпикатехина	$630,0 \pm 9,4$
Эллаговая кислота	$7 \pm 0,02$
Гидроксикоричные кислоты	
Гидроксифенилацетат	$916,5 \pm 11,4$
Кофеиновая кислота	$552,4 \pm 10,3$
Сиреневая кислота	$172,6 \pm 3,5$
<i>n</i> -кумаровая кислота	$82,7 \pm 0,9$
Феруловая кислота	$738,8 \pm 13,3$
Синаповая кислота	$381,3 \pm 7,2$
Цинамовая кислота	$225,2 \pm 4,1$
Флавоноиды	
Изокверцитрин	$916,7 \pm 10,7$
Неогесперидин	$3850,9 \pm 34,5$
Нарингенин	$308,2 \pm 5,2$
Лютеолин	$332,1 \pm 6,1$
Группа БАС	Содержание БАС, %
Гидроксикоричные кислоты	$6,21 \pm 0,11$
Флавоноиды	$10,20 \pm 0,33$
Танины	$17,16 \pm 0,37$

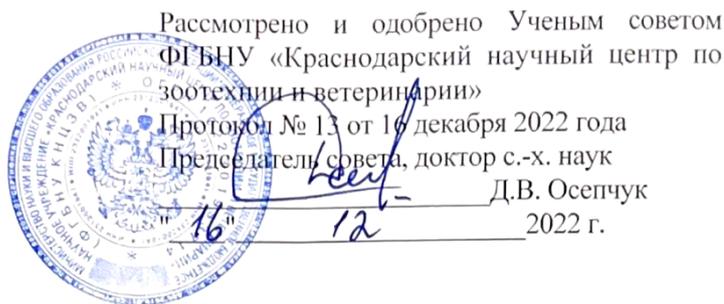
Таблица 2 – Аналитическое качество, содержание тяжелых металлов и микробиологические показатели сухого экстракта репешка обыкновенного

Параметры	Норма	Результат теста
Аналитическое качество		
Идентификация методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	идентичный
Флавоноиды	≥ 5,0 %	5,44 %
Ситовый анализ	100 % через сито 80	соответствует
Потеря веса при высушивании	≤ 5,0 %	2,23 %
Общее содержание зольных веществ	≤ 10,0 %	3,40 %
Насыпная плотность	40–60 г/100 мл	83 г/100 мл
Плотность утряски	60–90 г/100 мл	70 г/100 мл
Содержание тяжелых металлов		
Свинец (Pb)	≤ 3,0 мг/кг	0,7250 мг/кг
Мышьяк (As)	≤ 2,0 мг/кг	1,0312 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤ 1,0 мг/кг	< 0,01 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤ 0,1 мг/кг	< 0,01 мг/кг
Микробиологические показатели		
Общее количество бактерий	≤ 1000 КОЕ/г	соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤ 100 КОЕ/г	соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	соответствует

Таблица 3 – Аналитическое качество, содержание тяжелых металлов и микробиологические показатели сухого экстракта володушки золотистой

Параметры	Норма	Результат теста
Аналитическое качество		
Идентификация методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	идентичный
Соотношение экстракта методом ТСХ	10:1	соответствует
Ситовый анализ	100 % через сито 80	соответствует
Потеря веса при высушивании	≤ 5,0 %	3,18 %
Общее содержание зольных веществ	≤ 10,0 %	4,07 %
Насыпная плотность	40-60 г/100 мл	55,16 г/100 мл
Плотность утряски	60-90 г/100 мл	71,60 г/100 мл
Содержание тяжелых металлов		
Свинец (Pb)	≤ 3,0 мг/кг	0,2730 мг/кг
Мышьяк (As)	≤ 2,0 мг/кг	1,4301 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤ 1,0 мг/кг	0,026 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤ 0,1 мг/кг	0,013 мг/кг
Микробиологические показатели		
Общее количество бактерий	≤ 1000 КОЕ/г	соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤ 100 КОЕ/г	соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	соответствует

Приложение В



Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по
зоотехнии и ветеринарии»

Протокол № 13 от 16 декабря 2022 года

Председатель совета, доктор с.-х. наук

Д.В. Осипчук

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА ФИТОСОМИН (в порядке производственных испытаний)

Изготовлено: Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, ул. 1-я Линия, 1.

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Фитосомин (Phytosomin) – липосомальный препарат, обладающий гепатопротекторным, антиоксидантным и метаболическим действием.

1.2 Лекарственная форма: эмульсия для перорального применения. Препарат в качестве действующих веществ в 1 г содержит – 2 мг дигидрокверцетина, 12,5 мг экстракта расторопши пятнистой, 100 мг экстракта репешка обыкновенного, 100 мг экстракта володушки золотистой и 784,5 мг лецитина. В качестве вспомогательных веществ – 1 мг бензоата натрия.

1.3 По внешнему виду представляет собой концентрированную эмульсию, мажеобразной однородной консистенции, коричневого или темно-коричневого цвета, слабовыраженного вкуса и запаха, свойственные растительному лецитину.

1.4 Фитосомин не содержит генно-инженерно-модифицированных продуктов. Содержание вредных примесей не превышает предельно допустимых норм, действующих в Российской Федерации.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Выпускают расфасованным по 0,5 и 1 кг в герметично закрытых фольгированных пакетах, соответствующей вместимости, упакованных в картонные коробки по 20 штук и 10 штук соответственно.

2.2 Каждую единицу фасовки маркируют с указанием – наименования организации-производителя, ее адреса, названия, назначения и способа применения препарата, состава, номера партии, даты изготовления, срока и условий хранения, массы нетто, надписи: «Для ветеринарного применения» и снабжают инструкцией по применению на русском языке.

2.3 Хранят в закрытой упаковке организации-производителя, в сухом, прохладном, защищенном от прямых солнечных лучей месте, при температуре от 0 °С до 25 °С, при относительной влажности не более 75 %.

2.4 Срок годности при соблюдении условий хранения – 2 года со дня производства. Не использовать после истечения срока годности.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Фитосомин – комплексный гепатопротекторный препарат, фармакологическое действие которого обусловлено свойствами компонентов, входящих в его состав. *Дигидрокверцетин* защищает печень за счет улучшения функций клеточных оболочек и структуры гепатоцитов, оказывает антиоксидантное, ангиопротекторное, дезинтоксикационное, противовоспалительное, радиопротекторное и противоотечное действие. *Расторопша пятнистая* содержит комплекс флавонолигнанов, называемый силимарином, который определяет ее биологическую активность – гепатопротекторную, антиоксидантную, мембраностабилизирующую и метаболическую. Флавоноиды *репешка обыкновенного* обладают гепатопротекторной, антиоксидантной, противовоспалительной, антибактериальной и спазмолитической активностью. Биологически активные вещества *володушки золотистой* обладают гепатопротекторными, желчегонными, антисептическими и противовоспалительными свойствами. *Фосфолипиды эссенциальные (лецитин)* являются основными элементами в структуре клеточной оболочки и митохондрий, регулируют липидный и углеводный обмен, улучшают функциональное состояние печени и ее детоксикационную функцию, способствуют сохранению и восстановлению структуры гепатоцитов, тормозят формирование соединительной ткани в печени.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Фитосомин рекомендуется применять цыплятам-бройлерам и племенному молодняку птицы для: профилактики и терапии заболеваний печени различной этиологии; нормализации функции и регенерации печени после эндо- и экзотоксикозов, соматических и инфекционных заболеваний; снижения отрицательного влияния лекарственных средств, обладающих гепатотоксичностью; улучшения метаболизма и антиоксидантного статуса организма; повышения показателей сохранности и продуктивности птицы.

4.2 Фитосомин применяют групповым методом в смеси с кормом: профилактически, начиная с 7-суточного возраста и до конца выращивания из расчёта 5 г/кг корма; терапевтически – 10 г/кг корма (продолжительность лечения варьируется от 10 до 14 дней, можно повторить или продлить курс лечения при необходимости).

4.3 При использовании фитосомина в рекомендуемых дозах и схемах побочных явлений и осложнений не установлено. Фитосомин относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающим, эмбриотоксическим и тератогенным действием.

4.4 Продукцию птицеводства после применения препарата можно использовать без ограничений.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При применении следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с ветеринарными препаратами.

Инструкция разработана: *Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350004, Россия, г. Краснодар, ул. 1-я Лишняя, 1.*

Федеральная служба по интеллектуальной собственности
Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Федеральный институт промышленной собственности»
(ФИПС)

Бережковская наб., 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-5, 125993

Телефон (8-499) 240-60-15 Факс (8-495) 531-63-18

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ И РЕГИСТРАЦИИ ЗАЯВКИ

17.10.2022	059155	2022127058
<i>Дата поступления</i>	<i>Входящий №</i>	<i>Регистрационный №</i>

Заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение

ДАТА ПОСТУПЛЕНИЯ (дата регистрации) оригинал документа 17 ОКТ 2022	(21) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ №	ВХОДЯЩИЙ №
(85) ДАТА ПЕРЕВОДА международной заявки на национальную фазу		
<input type="checkbox"/> (86) (дата подачи заявки в (86) ФИПС) международной заявки и дата международной подачи, установленные инструкциями applicants) <input type="checkbox"/> (87) (номер и дата международной публикации международной заявки) <input type="checkbox"/> (96) (номер европейской заявки и дата ее подачи) <input type="checkbox"/> (97) (номер и дата публикации европейской заявки)	АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ (почтовый адрес, факс и номера или наименования адреса) Российская федерация, 350055, г. Краснодар-55, пос. Знаменский, ул. Первомайская, 4, ФГБНУ КНЦЗВ Телефон: : 260-87-72 Факс: 260-87-72 Адрес электронной почты: АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ ПЕРЕПИСКИ (указывается при подаче заявки на секретное изобретение)	
ЗАЯВЛЕНИЕ о выдаче патента Российской Федерации на изобретение		В Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 30, корп. 1, г. Москва, Г-59, ГСП-3, 125993, Российская Федерация
(54) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ		
СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ И АНТИОКСИДАНТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ		
(71) ЗАЯВИТЕЛЬ (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) физического лица или наименование юридического лица (полное наименование документа), место жительства или место нахождения, название страны и почтовый индекс) Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» ФГБНУ КНЦЗВ, Российская федерация, 350055, г. Краснодар-55, пос. Знаменский, ул.Первомайская,4 <input type="checkbox"/> изобретение создано за счет средств федерального бюджета Заявитель является: <input type="checkbox"/> государственным заказчиком <input type="checkbox"/> муниципальным заказчиком исполнитель работ (указать наименование) <input type="checkbox"/> исполнителем работ по: <input type="checkbox"/> государственному контракту <input type="checkbox"/> муниципальному контракту заказчик работ (указать наименование) Контракт от №	ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 1022301983714 КПП 231201001 ИНН 2312001941 СНИЛС ДОКУМЕНТ (серия, номер) КОД СТРАНЫ RU (если он установлен)	

ОТД-17
20 ОКТ 2022
240-60 15

8

Общее количество документов в листах	32	Лицо, зарегистрировавшее документы
Из них: - количество листов комплекта изображений изделия (для промышленного образца)	0	Атаказова И.М.
Количество платежных документов	2	
Сведения о состоянии делопроизводства по заявкам размещаются в Открытых реестрах на сайте ФИПС по адресу: www.fips.ru/registers-web		

Вх. № 745
« 03 » 11 2022

(74) ПРЕДСТАВИТЕЛЬ(И) ЗАЯВИТЕЛЯ (указываются фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) лица, назначенного заявителем своим представителем для ведения дел по получению патента от его имени в Федеральной службе по интеллектуальной собственности или являющееся таковым в силу закона)		<input type="checkbox"/> патентный поверенный <input type="checkbox"/> представитель по доверенности <input type="checkbox"/> представитель по закону
Фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) Адрес Срок представительства (если к заявлению приложена доверенность представителя заявителя, срок может не указываться)		Телефон: Факс: Адрес электронной почты: Регистрационный номер патентного поверенного
(72) АВТОР Фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии)		Адрес места жительства, включающий официальное наименование страны и ее код
КУЗЬМИНОВА ЕЛЕНА ВАСИЛЬВНА СЕМЕНЕНКО МАРИНА ПЕТРОВНА ВАСИЛИАДИ ОЛЬГА ИГОРЕВНА САМПИЕВ АБДУЛМУТАЛИП МАГАМЕТОВИЧ АБРАМОВ АНДРЕЙ АНДРЕЕВИЧ		RU, 350916, г. Краснодар, ст. Елизаветинская, ул. Краснодарская, 19 (част. дом) RU, 350916, г. Краснодар, ст. Елизаветинская, ул. Северная, 291 (част. дом) RU, 350049, г. Краснодар, ул. Севастопольская 2/2, кв. 64 RU, 350072, г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, дом 33/8, кв. 137 RU, 350012, г. Краснодар, ул. Красных Партизан, дом 1/3, корпус 1, квартира 179
ДОЛГОВ ЕВГЕНИЙ ПЕТРОВИЧ ЧЕРНЫХ ОЛЕГ ЮРЬЕВИЧ СЕМЕНЕНКО КСЕНИЯ АНДРЕЕВНА		RU, 350089 г. Краснодар, пр-т Чекистов, 26, кв. 60 RU, 352140, Краснодарский край, ст. Кавказская, ул. Ленина, 325, кв.1 RU, 350089, г. Краснодар, ул. Рождественская набережная, дом 37, кв. 87
<input type="checkbox"/> Я (мы) (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии)) Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора(ов) при публикации сведений <input type="checkbox"/> о заявке <input type="checkbox"/> о выдаче патента Подпись(и) автора(ов)		
<input type="checkbox"/> Просьба автора(ов) не упоминать его (их) при публикации прилагается (отмечается при подаче заявки в электронном виде)		

по общему белку (увеличение) во 2 группе – 10,1 %, в 3 группе – 16,8 %, в 4 группе – 15,2 % и в 5 группе – на 12,3 %. Активность АсАт в середине опыта в опытных группах была ниже относительно контроля: 2 группа – на 2,2 %; 3 группа – на 6 %; 4 группа – на 7,2 %; 5 группа – на 2,9 %. В конце опыта разница с контролем составила: во 2 опытной группе 1,9 %; в 3 группе – 6,3 %; в 4 группе – 5,8 %; в 5 группе – 3,2 %. В концентрации АлАт на фоне применения препаратов установлено более выраженное снижение показателей относительно контрольной группы: в середине опыта во 2 группе – на 19,7 %, в 3 группе – на 28,9 %, в 4 группе – на 29,8 %, в 5 группе – на 16,2 %; в конце опыта во 2 группе – на 27,2 %, в 3 группе – на 40,3 %, в 4 группе – на 38,4 %, в 5 группе – на 25,6 %. Наблюдалось положительное влияние фитосомина на липидный обмен, что подтверждалось увеличением показателей холестерина и триглицеридов в крови.

Для оценки антиоксидантной активности фитосомина проведено исследование уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ в крови цыплят-бройлеров. Выявлено, что к середине опыта отмечалось снижение ДК и КД в опытных группах с применением фитосомина, в то время как МДА стал активно снижаться в конце опыта. При этом в группе с применением лецитина снижение липопероксидации было незначительным.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что спектр фармакодинамических эффектов фитосомина, при его включении в рацион цыплят-бройлеров в разных дозах, обусловлен его оптимизирующим влиянием на морфо-биохимическую картину крови птицы, что проявилось в повышении уровня гемоглобина и эритроцитов, показателей белкового и липидного обменов, улучшении структурно-функционального состояния печени, снижении концентрации продуктов липопероксидации. Препарат проявляет выраженное ростостимулирующее действие при его включении в рационы сельскохозяйственной птицы в период выращивания. Экспериментально доказано, что фармакологически эффективной и экономически целесообразной для применения в рационах цыплят-бройлеров является дозировка фитосомина – 5 г/кг корма.

Главный ветеринарный врач
ООО «Югмелпродукт»



Р.В. Селиверстов

Заведующий производством
ООО «Югмелпродукт»



С.И. Евсиков

Зав. отделом фармакологии
ФГБНУ КНЦЗВ, д.вет.н.



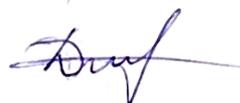
М.П. Семененко

Главный научный сотрудник отдела фармакологии ФГБНУ КНЦЗВ, д.вет.н.



Е.В. Кузьмина

Аспирантка отдела фармакологии
ФГБНУ КНЦЗВ



О.И. Василиади

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель КФХ «Иванов

Александр Сергеевич»

Иванов А. С.



14 октября 2022 г.

АКТ

клинической апробации фитосомина для подтверждения
эффективности его применения в птицеводстве

Нами, ветеринарным врачом КФХ «Иванов А. С.» Кирша Г. А., технологом по выращиванию птицы КФХ «Иванов А. С.» Соколовым М. Н., заведующей отделом фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» Семененко М. П., главным научным сотрудником отдела фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» Кузьминовой Е. В. и аспиранткой отдела фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» Василяди О. И. в период с сентября по октябрь 2022 г. проведена клиническая апробация фитосомина для подтверждения эффективности его применения в птицеводстве.

Клиническую апробацию фитосомина проводили в КФХ «Иванов А.С.» (Курганинский район, Краснодарский край) на цыплятах-бройлерах кросса «КОББ 500». Содержание птицы в хозяйстве – напольное на глубокой подстилке. Кормление – сбалансированными рассыпными полнорационными комбикормами (ПК), непосредственно приготовленными в хозяйстве по периодам выращивания цыплят-бройлеров. В 11-суточном возрасте (при переходе с режима кормления «Старт» на «Рост») из цыплят-бройлеров отобрали 2 000 голов со средней массой тела $356,6 \pm 6,9$ г., которых разделили на 2 группы по 1 000 голов в каждой: опытная в составе ПК получала препарат фитосомин в дозе 5 г/кг корма весь ростовой и финишный периоды кормления; контрольная – основной рацион. Продолжительность опыта составила 31 день – до убоя птицы в возрасте 42 суток.

На протяжении всего опыта за птицей вели клиническое наблюдение и учитывали сохранность поголовья, взвешивание проводили в начале, в середине и в конце опыта. При плановом убое птицы на 42 сутки по каждой группе определяли массу тела, валовой прирост и среднесуточный привес. В середине опыта (на 15 день применения фитосомина) и в конце (на 31 день применения фитосомин-на) из каждой группы у 10 цыплят отбирали кровь для гематологических и биохимических исследований. На 42 день при пла-

новом убое поголовья в каждой группе проведена визуальная оценка состояния печени.

По результатам клинической апробации фитосомина установили, что применение препарата положительно влияет на привесы цыплят-бройлеров. Так, в опытной группе среднесуточный привес за период применения препарата составил 81,0 г, что на 14,6 % больше, относительно контроля.

Сохранность поголовья за период эксперимента в опытной группе составила 98,8 %, что на 1,6 % больше относительно контрольной группы. Среди павшей птицы патологии печени регистрировались в опытной группе в 8,3 % случаев, в контрольной группе – 32,1 %. На 42 день при плановом убое всего поголовья птицы, участвующей в опыте, установлено, что в группе с применением фитосомина поражение печени регистрировали у 36 голов, что составило 3,6 %, а в контрольной группе у 102 голов, что соответствует 10,5 % от общего поголовья данной группы.

По результатам общего анализа крови цыплят-бройлеров установлено положительное влияние фитосомина на гемопоэз цыплят-бройлеров, характеризующееся увеличением в опытной группе содержания эритроцитов и гемоглобина относительно контроля.

Биохимические исследования крови показали, что фитосомин способствует улучшению протеинсинтетической и ферментообразующей функций печени, повышая концентрацию общего белка и снижая активность аланинаминотрансферазы относительно показателей контрольной группы.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение цыплятам-бройлерам препарата фитосомин в дозе 5 г/кг корма обуславливает повышение уровня реализации биоресурсного потенциала сельскохозяйственной птицы – усиливается функциональная активность кроветворной системы и интенсивность обменных процессов, улучшается структурное и функциональное состояние печени, повышаются показатели сохранности и приростов поголовья.

Ветеринарный врач КФХ «Иванов А. С.»

Технолог по выращиванию птицы
КФХ «Иванов А. С.», к. вет.н

Зав. отделом фармакологии
ФГБНУ КНЦЗВ, д.вет.н.

Главный научный сотрудник отдела
фармакологии ФГБНУ КНЦЗВ, д.вет.н.

Аспирантка отдела фармакологии
ФГБНУ КНЦЗВ



Кирша Г. А.



Соколов М. Н.



Семенов М. П.



Кузьмина Е. В.



Василиади О. И.

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по учебно-воспитательной
работе и молодежной политике

ФГБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины»,
профессор, доктор биологических наук,

А.А.Сухинин

« 26 » _____ 2022 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

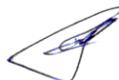
Результаты научных исследований Василиады Ольги Игоревны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства препарата фитосомин и его применение в птицеводстве», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по терапии при изучении следующих дисциплин: «Клиническая диагностика», «Внутренние незаразные болезни», «Ветеринарная фармакология» «Токсикология» «Фармакогнозия», «Фармацевтическая технология» и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры клинической диагностики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Заведующий кафедрой клинической диагностики
профессор, доктор ветеринарных наук



С.П. Ковалев

Заведующий кафедрой фармакологии и токсикологии
доцент, кандидат ветеринарных наук



А.М. Лунегов

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. проректора по научной и инновационной работе ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет, профессор



А.Н. Бобрышев

А.Н. Бобрышев

2022 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Василяди Ольги Игоревны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства препарата фитосомин и его применение в птицеводстве», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по терапии при изучении следующих дисциплин: «Внутренние незаразные болезни», «Ветеринарная фармакология» «Токсикология» и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Заведующий кафедрой терапии и фармакологии,
доктор ветеринарных наук, профессор

В.А. Оробец

В.А. Оробец

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Казанская
государственная академия ветеринарной
медицины имени Н. Э. Баумана»
доктор ветеринарных наук, профессор


Р. Х. Рапилов
« 11 » января 2023 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Василиади Ольги Игоревны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства препарата фитосомин и его применение в птицеводстве», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и практических занятий по фармакологии и токсикологии и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана».

Заведующий кафедрой
«Фармакологии, токсикологии и
радиобиологии»
ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ»
доктор биологических наук, доцент



Ф. А. Медетханов

Контактные данные:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35

Тел: +7 (843) 273-96-17;

Факс: +7 (843) 273-97-14

E - mail: kgavm_baumana@mail.ru, study@kazanveterinary.ru

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор

ЧВПОУ «Западно-Казахстанского
Инновационно-Технологического
Университета»

кандидат технических наук


Б.Т. Шакешев Б.Т. Шакешев
«19» *сентября* 2023 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Василиади Ольги Игоревны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства препарата фитосомин и его применение в птицеводстве», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по дисциплине «Ветеринарная фармакология» и «Ветеринарная токсикология» и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры «Ветеринарии и техносферной безопасности» Инженерно-гуманитарного факультета Западно-Казахстанского Инновационно-Технологического Университета.

Заведующая кафедрой
«Ветеринарии и техносферной
безопасности»
ЧВПОУ «Западно-Казахстанского
Инновационно-Технологического
Университета»
кандидат химических наук

Л.И. Байтлесова

Л.И. Байтлесова