

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

На правах рукописи

Муравьёва Ксения Владимировна

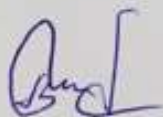
**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ИННОВАЦИОННОГО КОМПЛЕКСНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ**

научно-квалификационная работа (диссертация) на соискание квалификации  
«Исследователь. Преподаватель-исследователь»

по направлению подготовки **36.06.01 – Ветеринария и зоотехния**

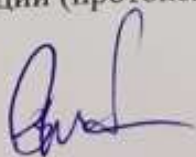
направленность (профиль) **Фармакология с токсикологией**

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
доцент Медетханов Ф.А.



научно-квалификационная работа обсуждена на заседании кафедры  
Фармакологии, токсикологии и радиобиологии и допущена к представлению  
научного доклада об основных результатах подготовленной научно-  
квалификационной работы (диссертации) на государственной итоговой  
аттестации (протокол № 1 от 02.09.2019)

Зав. кафедрой



Ф.А. Медетханов

## Содержание

1. Введение	3
2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ	9
2.1 Материалы и методы исследования	9
2.2 Компонентный и химический состав средства под лабораторным шифром «КВ»	13
2.3 Доклинические исследования безопасности средства «КВ»	14
2.3.1 Острая токсичность средства «КВ»	14
2.3.2 Изучение кумулятивных свойств средства «КВ»	15
2.3.3 Местно-раздражающее действие средства «КВ»	15
2.3.4 Эмбриотоксические и тератогенные свойства средства «КВ»	16
2.4 Фармакологическая активность средства «КВ»	20
2.4.1 Рост и развитие белых крыс при использовании средства «КВ»	20
2.5 Результаты клинических испытаний средства «КВ»	26
3. Заключение	27
4.Список работ опубликованных по теме диссертации	28

### **Введение.**

**Актуальность исследования.** Лекарственные растения относятся к одним из первых лечебных средств, известных человечеству с незапамятных времен. Задолго до нашей эры древним египтянам были известны лечебные свойства мяты, клещевины, снотворного мака и других растений. Наиболее древней является Китайская медицина. Они располагали сведениями о лечебных свойствах более 230 видов лекарственных и ядовитых растений, а также о веществах минерального и животного происхождения. Китайцам были известны женьшень, ревень, спорынья, бадьян и ряд других. Особо ценен травник составленный Ли Ши Чженом и изданном в XVI веке, в котором приводится описание 1892 объектов, включая 900 видов лекарственных растений. В первобытные времена лекарственные растения применялись в сыром необработанном виде со всем комплексом содержащихся веществ. С развитием цивилизации стали стремиться к удалению из лекарственных растений всего балластного, индифферентного или побочно действующего. С появлением письменности сведения о лекарственных растениях получили отражение в таких рукописных сочинениях, как вертограды, лечебники и травники.

На Руси лекарственными растениями занимались специалисты, знающие о лечебных свойствах растений – помясы. Большую заботу в обеспечении России лекарственными растениями принял Петр I, при котором в стране широко развернулась сеть аптекарских огородов. В дальнейшем изучением богатейших сырьевых ресурсов России способствовали ученые российской Академии наук, принимавшие участие в многочисленных экспедициях внутрь страны и на её окраины – Сибирь и Дальний Восток.

Лекарственные растения в представлении многих людей являются средством только народной медицины, «чистыми» и естественными лекарствами, не имеющими ничего общего с препаратами арсенала современного врача. Данное представление является не верным. Эмпирическое

применение первобытным человеком лекарственных растений к настоящему времени выросло в научно-обоснованную, проверенную многовековым опытом и лабораторными экспериментами систему лечебных мероприятий – терапию растениями. Лечебная ценность большого числа растений признана научной медициной, они тщательно изучаются в медицинских, ветеринарных и фармацевтических учреждениях, и препараты из них составляют более 1/3 всех лекарств, отпускаемых аптеками. Некоторые же растения просто являются наилучшими из известных лечебных средств, применяемых при многих заболеваниях.

Большие преимущества растений, как источника лекарств, связаны с тем, что человек, как и любой другой организм мира животных, неразрывно связан с миром растений, чем к синтетическим химическим соединениям. Растительный мир как основной источник питательных веществ для предка человека, длительное время являлся одним из мощных природных факторов, оказывающих существенное влияние на формирование и функции всех его систем и органов. Действуя через систему органов пищеварения, этот фактор оказал интенсивное влияние на создание определенного типа обмена веществ, а через него – строение и функции других важнейших систем, обеспечивая приспособление каждого органа к выполнению строго специфической деятельности. Это и обусловило тесную связь человеческого организма с растительным миром. В связи с чем, применение растительных лекарственных средств для исцеления больных людей нередко бывает более эффективным, чем использование нативных химических препаратов. Использование же растений в ветеринарии вытекает из основного их назначения – служить для животных источником питания. Поэтому применение лекарственных растений для животных принимает форму не насильственного, необычного их потребления, как это встречается в медицине человека, а как акта естественного питания Голыщенко П.П., Голыщенко С.П. (1997). [1]. Таким образом, актуальность рассматриваемой проблемы очевидна.

**Степень разработанности темы.** В настоящее время человечество располагает передовыми технологиями, позволяющие направленно синтезировать лекарственные средства для лечения различных патологий человека и животных. Особое значение среди них имеют химиотерапевтические средства, используемые при инфекционных и инвазионных патологиях, а также в качестве стимуляторов роста. Несмотря на положительные качества, достигаемые при использовании стимуляторов роста для животных, существует ряд теорий, о негативных сторонах их использования. В первую очередь это вероятность того, что в кишечнике животного будут размножаться бактерии, имеющие приобретенную устойчивость к лекарственным средствам на основе антибиотиков. К тому же, в последние годы убедительно показано, что противомикробные средства, помимо воздействия на свои первичные мишени, оказывают широкий спектр вторичных эффектов, включая молекулы ДНК макроорганизма, изменяя ход обменных процессов и вызывая «поломку» клеток В.П. Фисенкос соавт. (2000), Е.В. Ильинский, К.Г. Габриелян (2006), Т.А. Ефименко с соавт. (2014), [16, 5, 6].

О формировании резистентности у патогенных микроорганизмов к антибиотикам свидетельствуют и результаты научных трудов большинства исследователей, занимавшихся лечением разного рода патологий животных антибиотиками в условиях производства Г.Ф. Коган с соавт. (1990), Л.Д. Демидова (2003), В.И. Слободяник (2003), Н.Л. Андреева (2006), В.Д. Соколов с соавт. (2007), M. Z. David, R. S. Daum (2010), M.G. Ratoet al. (2013). В связи с этим большую теоретическую и практическую ценность представляют разработка и внедрение в производство фармакологических средств и биологически активных веществ способных заменить антибиотики, повышающих конкурентоспособность и продуктивность сельскохозяйственных животных Б.В. Уша, И.М. Беляков (1999), Н.А. Балакирев, В.С. Снытко (2001), Т. Околелова (2003), Б.Т. Абилов (2004), А. Н. Панин, Н. И. Малик (2006), В.

Фисинин (2010), В.В. Курманаева (2013), Ф.А. Медетханов (2012, 2013), В.А. Барышев, В.А. и др. (2016, 2017), М.П. Семененко с соавт. (2017). Поэтому поиск высокоэффективных и безопасных в использовании фармакологических средств остается одной из приоритетных задач современной науки и практики.

**Цель и задачи исследования.** Основная цель исследований – разработка нового комплексного средства для использования в птицеводстве и оценка его фармако – токсикологических характеристик.

Для реализации указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Разработать состав для средства из лекарственных растений.
2. Определить химический состав разработанного средства.
3. Дать доклиническую оценку общетоксического действия комплексного средства на лабораторных животных.
4. Дать доклиническую оценку специфической токсичности средства из лекарственных трав для лабораторных животных.
5. Дать фармакологическую оценку нового комплексного средства.
6. Изучить влияние разработанного средства на цыплят-бройлеров мясных кроссов.

**Научная новизна работы.** По предложенной нами технологии впервые получено, с использованием различных частей лекарственных растений, новое комплексное средство для увеличения продуктивности сельскохозяйственной птицы. Впервые изучены токсикологические характеристики (острая, субхроническая, хроническая токсичность, эмбриотоксичность, тератогенность, местнораздражающее и аллергизирующие свойства). Дана фармакологическая оценка по применению полученного средства в птицеводстве, разработаны схемы его использования.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретически обоснована и на практике показана высокая эффективность использования в птицеводстве инновационного комплексного средства из растительных компонентов. Результаты, полученные по ходу выполнения диссертационной

работы, дополняют имеющиеся на сегодня сведения о действии лекарственных трав на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных. С практической точки зрения разработанный растительный комплекс расширяет арсенал используемых в ветеринарии фармакологических средств полученных из природного сырья.

Основные научные положения используются при чтении лекций и проведении практических занятий преподавателями кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

**Методология и методы исследования.** Для достижения цели использованы адекватные методологические приемы с учетом современности и доступности применяемых методов. Объектом исследования явилось комплексное средство из растительного сырья. Для его получения использованы физические и химические методы. Для изучения состава средства использованы фитохимические методы. Для оценки безопасности проведены токсикологические исследования на лабораторных белых мышах, крысах, с определением острой, субхронической и хронической токсичности, эмбриотоксических и тератогенных свойств, на кроликах – местно-раздражающее и аллергизирующее действие. Для более объективной оценки действия средства на живые структуры организма использованы клинические, фармакологические, морфологические, гематологические, биохимические, математические методы. Ряд исследований проведен с использованием соответствующих современным требованиям измерительных приборов.

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

1. Состав растительных компонентов комплексного средства и его фитохимические свойства.
2. Параметры токсикологической безопасности комплексного средства и его фармакологические свойства.

3. Морфофизиологические параметры цыплят-бройлеров при использовании комплексного средства из растительного сырья.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность достигнутых результатов обоснована математическими приемами и современными компьютерными программами для проведения статистической обработки. В опытах использованы достаточное количество лабораторных и сельскохозяйственных животных адекватных для решения поставленных задач и достижения основной цели диссертационной работы.

Результаты материалов диссертации обсуждены на общих кафедральных заседаниях. Представлены и одобрены: на ежегодных итоговых аттестациях аспирантов ФГБОУ ВО Казанской ГАВМ, заседаниях Ученого совета ФГБОУ ВО Казанской ГАВМ (2016-2019 гг.); Международной научно-практической конференции «Инновационные решения в ветеринарной медицине, зоотехнии и биотехнологии в интересах развития агропромышленного комплекса» (г. Казань, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК», посвященной 145-летию Академии 30 мая 2018 года, (г. Казань, 2018 г.); Всероссийской научно-практической конференция молодых ученых «Наука и инновации в АПК XXI века», посвященная 145-летию Академии 15-16 марта 2018 г. (г. Казань, 2018 г.), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы и достижения зооветеринарной науки» 30-31 мая 2019 г.

**Личный вклад автора.** Схемы проведения опытов разработаны, и, эксперименты проведены лично автором научно-квалификационной работы. Полученные результаты подвергнуты статистической обработке и анализу также самим автором.

**Публикации результатов исследований.** По результатам исследований опубликовано 5 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.



**Объем и структура научно-квалификационной работы.** Научно-квалификационная работа изложена на 69 страницах компьютерного текста и состоит из разделов: введение, обзор литературы, основное содержание работы, заключение, список использованной литературы и приложения. Список литературы включает 105 источника, из которых – 7 иностранных.

## **2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **2.1 Материалы и методы исследования**

Работа выполнена на кафедре фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», в период с 2016 по 2019 гг. Научно-хозяйственные и производственные опыты проведены на животноводческих предприятиях Республики Татарстан, в соответствии с тематическим планом научно-исследовательской работы кафедры.

Все исследования, изложенные по ходу написания диссертации, проведены с соблюдением правил гуманного отношения к лабораторным животным, указанных в директивах Европейского общества и Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [2,3].

Объектом исследования является комплексное средство полученное из растительного сырья (далее – средство под лабораторным шифром «КВ») разработано на кафедре фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», для чего использовано растительное сырье, собранное в Высокогорском, Лаишевском и Верхнеуслонском районах Республики Татарстан, а также на территории Волжского района Республики Марий-Эл.

Отбор растительного сырья для разработки средства под лабораторным шифром «КВ» был осуществлен с позиций их доступности в природе, содержания в них фармакологически и биологически активных веществ, с

учетом фаз вегетации и рекомендаций, приведенных в литературных источниках.

Полученное сырье подвергали температурным воздействиям для получения пиролизатов. Пиролизаты растений обрабатывали химическими растворами согласно методике описанном в патенте на изобретение №2487721 «Способ приготовления препарата для стимуляции роста животных», зарегистрировано в Гос. реестре изобретений РФ 20.07.2013г.

Для изучения фармакологического состава средства «КВ» использованы качественные и количественные реакции.

Для определения дубильных веществ использовали титриметрический метод описанный в Фармакогнозии под редакцией Муравьевой Д. А. (1991).

Количественной состав макро- и микроэлементов определяли методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии согласно ГОСТ 30178 и методическим пособиям под общей редакцией Л.Г. Подуновой (1997) [350].

Исследования по изучению токсикологических свойств средства «КВ» проведены на базе вивария ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии.

Доклинические испытания безопасности и фармакологической активности растительного средства «КВ» выполнены на клинически здоровых беспородных белых мышах, белых крысах, кроликах породы Советская Шиншилла и беспородных кроликах белой масти.

Клинические испытания изучаемого средства проведены на цыплятах - бройлерах мясного направления.

Подбор и формирование групп животных производили по принципу пар-аналогов в соответствии с целью и задачами исследований. У каждого вида животных учитывали возрастные особенности, гендерную принадлежность и массу тела.

Оценку общетоксического действия и специфической токсичности средства из растительных компонентов проводили в соответствии с рекомендациями «Руководство по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (2005) и «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н.Миронова (2012).

Общетоксические свойства средства из растительного сырья определяли в остром опыте, длительность которого составила 14 суток. Исследуемый объект задавали однократно внутрь в максимально допустимой дозе белым половозрелым мышам 0,5 мл и крысам 6,0 мл на одно животное. Клинику острого отравления определяли по их общему состоянию, включая поведенческие реакции, отношение к корму и воде, учитывали время возможной гибели после затравки животных.

Для определения возможной кумуляции разработанного средства при приеме внутрь использовали субхронический тест Lim R. et al. (1961). Критериями оценки служили: состояние животных до и после приема средства, поведенческие реакции, состояние волосяного покрова, видимых слизистых, частота дыхательных движений, сердечных сокращений, масса тела в динамике, количество павших и выживших в группах животных, морфологический состав крови. По завершении опыта определяли коэффициент кумуляции как отношение ЛД<sub>50</sub> при кратном введении к ЛД<sub>50</sub> при однократном введении «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» Под общей редакцией Р.У. Хабриева(2005, с. 47-54).

Местно-раздражающее действие средства из растительного сырья определяли на беспородных белых кроликах в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н.Миронова (2012). На выстриженный участок кожи интактных кроликов по одну из сторон боковой поверхности наносили средство с помощью ватно-

марлевого тампона, смоченного в испытуемом растворе. Учет реакции вели в день постановки опыта через 4 часа после удаления тампона. Повреждающее действие средства оценивали по состоянию кожи в первый день опыта в течение первых 5 часов после удаления тампона, а в последующие 14 дней, один раз в сутки, ежедневно.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие изучали на нелинейных белых крысах-самках в соответствии с учетом методических подходов, описанных в руководствах: «Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы» под общей редакцией И.М. Трахтенберга (1991), «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под общей редакцией Р.У. Хабриева (2005) и «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н.Миронова (2012).

Научно-производственные опыты проведены в ОАО Вятско-Полянская птицефабрика на цыплятах-бройлерах кросса «Cobb – 500».

В опытах использованы интактные животные, предварительно выдержанные 10 – 14 суток на карантине, в зависимости от условий эксперимента. Кровь у животных отнимали в утренние часы после предварительной пищевой депривации. В течение Взятие крови производили у крыс – из сосудов хвоста и методом декапитации, у цыплят-бройлеров – в возрасте до 25 суток и в технологические сроки убоя методом декапитации, а в остальные периоды выращивания – из подкрыловой вены.

Морфологические исследования крови проводили в условиях кафедры общепринятыми методами или на специальных, гем- и биохиманализаторах.

Определение роста-весовых показателей проводили путем взвешивания животных. По результатам взвешиваний рассчитывали:

а) прирост живой массы тела ( $A = m_t - m_1$ );

где  $A$  – абсолютный прирост массы тела (г или кг),  $m_1$  – начальная масса тела,  $m_t$  – масса тела после очередного взвешивания;

$$\text{б) среднесуточный прирост (C/c} = \frac{m_t - m_1}{t} \text{)}$$

где  $C/c$  – среднесуточный прирост (г);  $m_1$  – начальная масса тела;  $m_t$  – масса тела после очередного взвешивания;  $t$  – время между взвешиваниями (сутки);

г) прирост массы тела в % по отношению к исходным данным (относительный прирост) по формуле Броди

$$O = \frac{m_t - m_1}{(m_t + m_1) \times 0,5} \times 100 \%$$

где  $O$  -относительный прирост (%);  $m_1$  – начальная масса тела;  $m_t$  – масса тела после очередного взвешивания.

Вид и количество используемых животных, условия содержания, тип и характер кормления, схемы проведения опытов, используемые фармакологические средства, их дозы и кратность применения приведены в соответствующих разделах.

## **2.2 Компонентный и химический состав средства под лабораторным шифром «КВ»**

Средство под лабораторным шифром «КВ» представляет собой жидкую лекарственную форму, приготовленную по методике М.П. Тушнова с использованием экстрактов полученных путём сухой возгонки, приведенных выше растений: Корня лопуха, Корня цикория, травы горца птичьего, травы тысячелистника обыкновенного и крапивы двудомной.

Средство разработано специально, для применения в промышленном птицеводстве. Оно включает в себя алкалоиды, дубильные вещества, гликозиды, терпены, фенолкарбоновые кислоты, борнеол, 1,8 цинеол, витамины и более 20 минералов (железо, цинк, селен, кобальт, медь, марганец, магний, кальций, калий, молибден, хром и др.).

## **2.3 Доклинические исследования безопасности средства «КВ»**

### **2.3.1 Острая токсичность средства «КВ»**

Опыты проведены на клинически здоровых самцах и самках белых крыс половозрелого возраста, с исходной массой тела 220-270 г, которых содержали предварительно, в течение 14 суток в помещении вивария для карантинных животных. В эксперименте использовано 20 крыс, из которых были сформированы две группы подопытных животных по принципу пар аналогов, по 10 исследуемых в каждой. Разработанное нами средство «КВ» вводили в желудок однократно оральным методом в дозе 6,0 мл на одно животное, используя желудочный зонд.

Исследованиями установлено, что внутрижелудочное введение средства в максимально допустимой дозе не приводило к гибели животных за весь период наблюдений. Ввиду этого определить средне- и абсолютно смертельные дозы не удалось.

Таким образом, анализируя полученные данные можно заключить, что использование средства «КВ» внутрь в максимально допустимой дозе не сопровождается гибелью затравленных животных. Исходя из этого, руководствуясь классификацией Л.И. Медведь, Ю.С. Кагана, Е.И. Спыну (1968), [7] принятой в настоящее время ВОЗ, про исследованное нами средство на данном этапе можно отнести к группе малотоксичных веществ, и, в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 – по степени токсичности к 4 классу опасности – вещества малоопасные.

### **2.3.2 Изучение кумулятивных свойств средства «КВ»**

В экспериментах использованы 12 самок и 12 самцов половозрелых белых крыс, распределенные в две группы по 6 самок и 6 самцов в каждой.

Средство «КВ» вводили крысам опытной группы ежедневно внутрижелудочно при помощи металлического зонда, один раз в сутки в утренние часы, в начальной дозе 1/10 часть от условной ЛД<sub>50</sub>, максимально

использованной в острых опытах. Каждые последующие 4 дня, до завершения эксперимента, дозу «КВ» увеличивали в 1,5 раза. Животным контрольной группы аналогично задавали дистиллированную воду.

Исследованиями установлено, что суммарно за весь период опыта каждое животное получило 50,1 мл испытуемого средства. Введение в желудок средства «КВ» в ежедневной дозе, начиная с 0,1 до 0,34 от LD<sub>50</sub>, видимых изменений со стороны поведенческих реакций, что можно было бы характеризовать как токсическое, не выявлено.

С учетом отсутствия гибели животных, как при выявлении кумулятивного действия средства «КВ», так и при изучении параметров острой токсичности, коэффициент кумуляции был определен как отношение суммарной дозы (50,1 мл/кг) к максимально вводимой дозе в опыте по изучению острой токсичности (6,0).

Таким образом, по результатам проведенных расчетов, коэффициент кумуляции составил 8,4, что больше 6,0 и согласно данным [8] не обладает кумулятивным действием.

### **2.3.3 Местно-раздражающее действие средства «КВ»**

Местно-раздражающее действие средства «КВ» изучали на 4 беспородных кроликах белой масти с массой тела более 2-х кг. За 24 часа до изучения раздражающих свойств средства «КВ» выстригали волос в области спины на месте аппликации средства, отступая медиально на несколько сантиметров от позвоночника. Удаление волоса производили параллельно относительно позвоночника по обе стороны туловища площадью приблизительно 5\*5 см.

Аппликацию осуществляли с помощью ватно-марлевого тампона смоченного в нативном испытуемом средстве. Тампон фиксировали на выстриженном участке кожи с помощью лейкопластыря. Длительность экспозиции составляла 4 часа. На противоположной стороне аналогично

фиксируют тампон, смоченный в дистиллированной воде, что служило контролем. Учет реакции производили спустя 4 часа, после удаления тампонов.

Установлено, что аппликация изучаемого средства не приводила к видимым изменениям кожного покрова. Не были отмечены какие-либо реактивные изменения со стороны кожи, как при использовании средства «КВ», так и при аппликации дистиллированной воды, что свидетельствует об отсутствии раздражающих свойств у испытуемого средства.

#### **2.3.4 Эмбриотоксические и тератогенные свойства средства «КВ»**

Исследования по влиянию средства под лабораторным шифром «КВ» на репродуктивные показатели были проведены на 24 белых крысах - самках четырехмесячного возраста с исходной массой тела 180-220 грамм. Для случки самок были подобраны 8 самцов белых крыс того же возраста с исходной массой 220-270 г. из расчета по одному самцу на три самки. Все животные были здоровыми, имели среднюю упитанность, хорошее развитие и крепкую конституцию. До проведения случки крыс выдерживали на карантине в течение 14 суток. Всего было сформировано две группы животных, одна контрольная и одна опытная, которых содержали в 4 клетках по 6 самок в каждой. В день случки самок подсаживали к самцам по три особи на одного самца в течение двух эстральных циклов. Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов из содержимого влагалища.

Средство «КВ» задавали внутрь самкам опытной группы один раз в сутки в утренние часы на протяжении 19 дней с помощью зонда в дозе 2,5 мл/кг массы тела. На 20 день беременности часть самок подвергали эвтаназии под эфирным наркозом, после чего их вскрывали, извлекали плоды вместе с маткой.

При вскрытии учитывали такие показатели как: число крыс с живыми и мертвыми плодами, число живых и мертвых плодов, число желтых тел на одну самку, число мест имплантации, крыс с полной резорбцией, количество плодов



на самку, пред - и постимплантационную смертность, общую эмбриональную смертность.

После извлечения плодов из матки определяли массу плаценты, массу плода, диаметр плаценты, аногенитальный и краниокаудальный размеры, диаметр плаценты, возможные пороки развития, включая костную систему.

Другую часть самок белых крыс оставляли до родов. Принимали во внимание продолжительность беременности, количество новорожденных крысят в помете, краниокаудальный размер, массу тела сразу после рождения и в динамике в течение 28 суток, сроки отлипания ушной раковины, опушения, прорезывания резцов, открывания глаз и постнатальную смертность [11, 13, 17].

Исследования проводили в соответствии с Международными рекомендациями Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей».

Анализ экспериментального материала показал, что все самки, как в контрольной, так и в опытной группе были с живыми плодами, крыс с мертвыми плодами не выявлено.

При внешнем осмотре видимых аномалий не установлено. Число живых плодов на каждую самку составило в среднем по контрольной группе  $9,17 \pm 0,18$ , в опытной –  $9,67 \pm 0,54$ , что статистически не различимо. Количество яйцеклеток, поступивших в полость матки, оказалось в контроле  $11,83 \pm 0,52$ , такое же количество оказалось и у особей опытной группы ( $11,33 \pm 0,78$ ) (рисунок 1). По показателям предимплантационной гибели значимой разницы между группами не установлено, показатель смертности составил по контрольной группе  $14,25 \pm 5,1$  и опытной  $13,62 \pm 3,96$  % соответственно ( $p \geq 0,05$ ). Показатели постимплантационной смертности эмбрионов между группами были также не достоверно различимыми. Общая эмбриональная смертность по контрольной группе составила  $23,65 \pm 5,18$  % и в опытной –  $19,85 \pm 5,84$  %, что также было достоверно не различимыми.

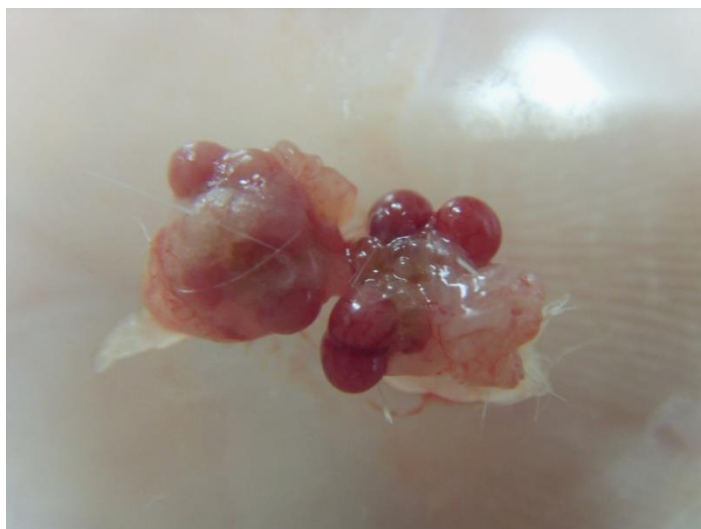


Рисунок 1 - Желтые тела на поверхности яичника

Краниокаудальный размеры у самцов в обоих случаях оказался выше в контроле на 8,6 и у опытных аналогов на 5,4 %, при  $p \geq 0,05$  (рисунок 2). По диаметру плацент между группами различия не выявлены. Плаценты по массе, что в контроле, что в опыте были также равнозначными и статистически не различимыми.

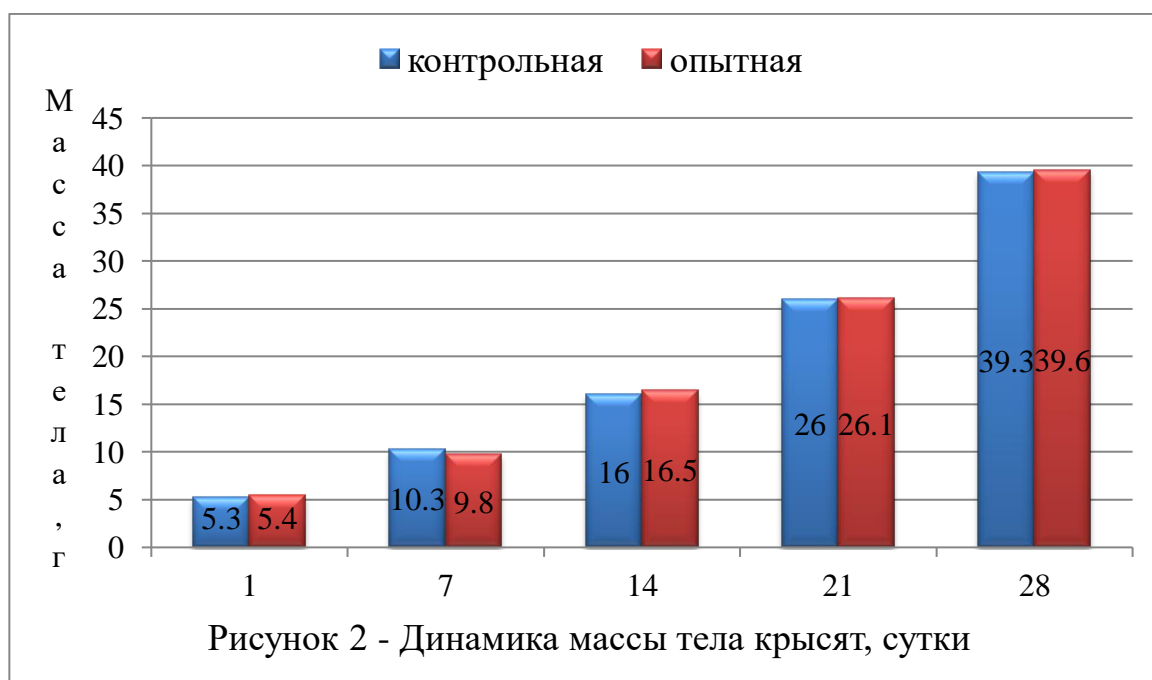
При вскрытии брюшной полости плодов в 2-х случаях в контроле и в 3-х в опыте отмечены кровоизлияния в брюшную полость, что составило к общему их числу 7,1 % у первых и 10,7 % у вторых. Наравне с этим надо отметить такие отклонения, как полнокровие сосудов тела в 2-х случаях в контроле и в 3-х в опыте. Наличие крови выявлено и в предсердиях плодов по три случая (10,7 %) в каждой группе, что позволяет нам их также отнести к числу живых. Также установлена такая аномалия, как отёк почек по одному случаю в обеих группах, что составляет 3,7 %. Других дефектов при осмотре не обнаружено.

При изучении костной системы плодов белых крыс на фоне использования разработанного нами средства в герминальный, эмбриональный и фетальный периоды отклонений от нормы по всем изучаемым параметрам не установлено.

Для изучения постнатального развития потомства белых крыс, полученных при использовании растительного средства «КВ», были оставлены 50 % беременных самок.

Исследованиями установлено, что беременность у самок обеих групп проходила без видимых отклонений. За двое - трое суток до окота самки формировали гнездо из подстилки. Продолжительность беременности в контроле составила  $22,67 \pm 0,23$  и в опыте  $22,5 \pm 0,24$ , не имея достоверных различий по срокам вынашивания плодов. Количество новорожденных крысят в помете у самок обеих групп оказалось также на одинаковом уровне при  $p \geq 0,05$ . Длина туловища и масса тела крысят, как в контроле, так и в опыте оказались идентичными.

При изучении динамики роста между группами по росто-весовым показателям разница не установлена. Молодняк обеих групп имел одинаковые параметры развития (рисунок 2).



Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что внутрижелудочное введение самкам белых крыс с 1-го по 19-е сутки беременности средства «КВ» в дозе 2,5 мл/кг массы тела не оказывает

эмбриотоксического действия и не вызывает видимых аномалий плодов в пренатальном и постнатальном периоде развития.

## 2.4 Фармакологическая активность средства «КВ»

### 2.4.1 Рост и развитие белых крыс при использовании средства «КВ»

Эксперименты проведены на 8 самках и 8 самцах неполовозрелых белых крыс с исходной массой тела  $50 \text{ г} \pm 10 \%$ , которых за 12 суток до включения в опыт, с учетом половой принадлежности содержали в отдельных клетках. Животные были разделены на 2 равнозначные группы: 1 опытную и 1 контрольную по 8 особей в каждой.

Крысята опытной группы получали средство «КВ» с выпаиваемой водой с первого по седьмые сутки эксперимента из расчета  $2,5 \text{ мл/кг}$  массы тела, а начиная с 8-го дня и, до конца опыта их выпаивали дехлорированной водой из поилок. Крысы контрольной группы на протяжении всего эксперимента лакали обычную дехлорированную воду, и испытуемое средство не получали.

Результаты взвешивания показали, что группа животных, которая принимала средство из лекарственных растений, уже на 14 сутки отличалась от своих контрольных сородичей более высокими значениями роста и развития (таблица 1). Масса тела по группе в среднем оказалась выше, чем в контроле на  $12,9 \%$  при  $p \leq 0,05$ . Среднесуточный прирост достоверно повысился на  $51,5 \%$ , а относительный на  $11,2 \%$  ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 1 – Динамика массы тела крысят при использовании средства из растительного сырья.

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
	Исходные данные	
Масса тела, г	$49,1 \pm 1,30$	$49,1 \pm 1,17$
	14 сутки	
Масса тела, г	$62,0 \pm 0,99$	$70,0 \pm 1,34^*$
Среднесуточный прирост за период, г	$0,99 \pm 0,05$	$1,50 \pm 0,05^*$
Относительный прирост за период, %	$23,9 \pm 1,45$	$35,1 \pm 0,98^*$

	28 сутки	
Масса тела, г	85,0±0,90	101,8±1,37*
Среднесуточный прирост за период, г	1,30±0,04	1,90±0,05*
Относительный прирост за период, %	53,4±2,32	69,8±1,87*
	40 сутки	
Масса тела, г	123,5±1,0	149,8±1,31*
Среднесуточный прирост за период, г	1,89±0,04	2,53±0,06*
Относительный прирост за период, %	86,3±2,10	101,2±2,03*

Примечание: \* - уровни достоверности, соответственно  $p \leq 0,05$ .

Доминирование по ростметрическим показателям молодняка опытной группы по отношению к аналогичным значениям контрольных особей наблюдалось и в последующие сроки.

Как видно из таблицы, на 28 сутки эксперимента показатели абсолютного, среднесуточного и относительного прироста живой массы в опыте были достоверно выше, чем у контрольных аналогов на 19,8; 46,5 и 16,4 % соответственно.

В конце исследований (40 сутки) установлена также существенная разница по всем изучаемым показателям с доминированием их цифровых величин в опыте по отношению к аналогичными значениям животных контрольной группы при  $p \leq 0,05$ .

Для полного обследования возможных изменений со стороны систем организма экспериментальных животных, нами были проведены гематологические исследования, включая развернутую картину крови с выводением лейкоцитарной формулы.

При анализе полученных результатов крови молодняка белых крыс в начале опыта различий по содержанию форменных элементов крови, гематокритного числа, гемоглобина и скорости оседания эритроцитов между группами не выявлено (таблица 2). Все показатели находились в пределах физиологической нормы и согласовывались с литературными данными.

На 14 сутки после включения животных в эксперимент, количество эритроцитов и лейкоцитов между группами существенным изменениям не подвергались. В то же время, концентрация гемоглобина в крови крысят опытной группы достоверно увеличилось, по отношению к аналогичному показателю контрольного молодняка на 6,5 %. Гематокрит и СОЭ претерпели несущественные изменения по сравнению с исходными значениями, но между сравниваемыми группами разницы не установлено.

Таблица 2 – Гематологические показатели белых крыс при использовании средства из растительного сырья.

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
	Исходные данные	
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,38 \pm 0,10$	$5,44 \pm 0,10$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,05 \pm 0,14$	$7,01 \pm 0,10$
Гемоглобин, г/л	$82,25 \pm 1,96$	$82,5 \pm 1,39$
Гематокрит, %	$41,0 \pm 0,93$	$40,4 \pm 0,83$
СОЭ, мм/час	$1,85 \pm 0,12$	$1,81 \pm 0,09$
	14 сутки	
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,38 \pm 0,08$	$5,40 \pm 0,08$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,15 \pm 0,14$	$7,45 \pm 0,21$
Гемоглобин, г/л	$85,0 \pm 2,06$	$90,5 \pm 1,20^*$
Гематокрит, %	$41,0 \pm 0,9$	$42,0 \pm 0,99$
СОЭ, мм/час	$1,93 \pm 0,10$	$1,88 \pm 0,12$
	28 сутки	
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,56 \pm 0,09$	$6,01 \pm 0,16$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,13 \pm 0,16$	$7,70 \pm 0,19^*$
Гемоглобин, г/л	$90,0 \pm 1,67$	$96,8 \pm 1,14^*$
Гематокрит, %	$41,9 \pm 1,19$	$43,3 \pm 0,63$
СОЭ, мм/час	$1,94 \pm 0,07$	$1,91 \pm 0,07$
	40 сутки	
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,66 \pm 0,10$	$7,43 \pm 0,07^*$
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,16 \pm 0,23$	$8,49 \pm 0,28$
Гемоглобин, г/л	$95,8 \pm 1,59$	$105,5 \pm 1,60^*$
Гематокрит, %	$44,3 \pm 1,1$	$45,0 \pm 1,14$
СОЭ, мм/час	$1,90 \pm 0,08$	$1,94 \pm 0,10$

Примечание: \* - уровни достоверности, соответственно  $p \leq 0,05$ ;

На 28 сутки эксперимента число красных кровяных телец у животных опытной группы увеличилось, по сравнению с контролем на 8,1 %, наравне с этим отмечено достоверное повышение уровня гемоглобина на 6,8 г/л. Достоверно повысилось и количество белых клеток крови, число которых превышало аналогичный показатель контрольных крысят на 8,0 %. Гематокритное число составило  $43,3 \pm 0,63$  в опыте, при  $41,9 \pm 1,19$  ( $p \geq 0$ ) в контроле. Разницы по скорости оседания эритроцитов не обнаружено. Все рассматриваемые показатели укладывались в рефернтные значения.

Анализируя результаты статистической обработки цифровых значений картины крови на 40 сутки, установлено, достоверное увеличение у молодняка опытной группы числа эритроцитов на 11,6 % и гемоглобина на 10,1 % по сравнению с контролем. Общее число лейкоцитов, гематокрит и СОЭ в обеих сравниваемых группах не отличались между собой и находились в пределах физиологических значений.

Важное диагностическое значение имеет лейкоцитарная формула. Воздействие большинства факторов экзо- или эндогенного происхождения могут позитивно или негативно сказаться не только на общем числе лейкоцитов, но и изменить процентное их соотношение. С учетом этого, нами была выведена лейкограмма мазков крови и проведен анализ их состояния у крыс при использовании им средства из растительного сырья (таблица 3).

Таблица 3 – Лейкоцитарная формула крови крыс в динамике

Показатель	Группа	
	Контрольная	2 - опытная
	Исходные данные	
Базофилы	$0,13 \pm 0,11$	$0 \pm 0$
Эозинофилы	$3,0 \pm 0,49$	$3,38 \pm 0,40$
Нейтрофилы палочкоядерные	$3,38 \pm 0,35$	$3,0 \pm 0,57$
Нейтрофилы сегментоядерные	$23,0 \pm 0,89$	$23,49 \pm 1,18$
Лимфоциты	$66,5 \pm 1,30$	$66,25 \pm 1,32$
Моноциты	$4,0 \pm 0,29$	$3,88 \pm 0,47$

	14 сутки	
Базофилы	0±0	0,13±0,10
Эозинофилы	3,25±0,39	3,25±0,48
Нейтрофилы палочкоядерные	3,38±0,45	2,88±0,32
Нейтрофилы сегментоядерные	23,5±1,34	24,63±1,09
Лимфоциты	66,62±1,23	66,0±1,05
Моноциты	3,25±0,39	3,11±0,37
	28 сутки	
Базофилы	0,13±0,09	0±0
Эозинофилы	3,25±0,39	3,25±0,39
Нейтрофилы палочкоядерные	2,88±0,32	2,88±0,37
Нейтрофилы сегментоядерные	23,49±0,91	23,88±0,90
Лимфоциты	67,25±0,83	66,74±0,96
Моноциты	3,0±0,40	3,25±0,34
	40 сутки	
Базофилы	0,13±0,08	0,13±0,08
Эозинофилы	2,74±0,32	2,74±0,32
Нейтрофилы палочкоядерные	2,75±0,27	2,75±0,27
Нейтрофилы сегментоядерные	24,13±1,11	24,13±1,11
Лимфоциты	67,2±1,06	67,25±1,06
Моноциты	3,0±0,29	3,0±0,29

Примечание: - уровни достоверности, соответственно  $p \geq 0,05$ .

Как видно из таблицы, начальные показатели соотношения клеток белой крови гранулоцитарного и агранулоцитарного ряда находились на одинаковом уровне и укладывались в соответствующие для данного вида клеток пределы физиологической нормы. Данное обстоятельство свидетельствует об отсутствии спонтанных нарушений в лейкограмме и о правильном методическом подходе при формировании экспериментальных групп животных.

Анализ результатов лейкоцитарной формулы на 14 сутки после первичного использования средства крысам с выпаиваемой водой,



характерных изменений в распределении лейкоцитов, не свойственных для данного вида животных не выявил.

В последующие сроки исследований, а именно как на 28, так и 40 сутки, в мазках крови отклонений в составе лейкоцитов не установлено.

При выведении лейкоцитарной формулы обращали внимание, наравне с процентным их соотношением и на возможные качественные нарушения в структуре белых клеток.

Рассматривая клетки под микроскопом, изменений в структуре ядра и цитоплазмы не выявлено. Для зернистых клеток было характерно наличие в базофилах, окрашенных в тёмный цвет гранул, распределенных хаотично по цитоплазме. Эозинофилы имели розовато-красного цвета гранулы умеренно разбросанные по всей цитоплазме. Нейтрофилы в зависимости от степени зрелости имели соответствующей структуры гранулы, заметные и окрашенные у палочкоядерных в фиолетово-розоватый цвет, а у полиморфно-ядерных в слабо-розовый, визуализируемых преимущественно по периферии. У агранулоцитов аномалий со стороны цитоплазмы также не установлено. Ядра клеток имели естественное строение и явлений рексиса или пикноза не установлено.

## **2.5 Результаты клинических испытаний средства «КВ»**

Эксперименты проведены на 80 цыплятах суточного возраста, с исходной массой тела 38 г., распределенных в 2 группы по принципу аналогов по 40 особей в каждой. Молодняк первой группы был опытным и им испытываемое средство выпаивали с питьевой водой через индивидуальные поилки на 1,6,7,14,15,24 и 25-е сутки жизни из расчета: в течение первых суток в дозе – 0,05 мл, на 6 и 7 сутки – 0,1 мл, на 14,15, 24 и 25-е сутки – 0,125 мл на 1 цыпленка. Птица второй группы служила контролем и, они средство не получали.

Критерием оценки служили показатели роста и развития, для чего определяли массу тела подопытной птицы в начале и в конце опыта. По результатам взвешиваний рассчитывали абсолютный и среднесуточный прирост массы тела. В эти же сроки отнимали кровь для гематологических и биохимических исследований. Учитывали сохранность поголовья.

При проведении научно-исследовательского опыта придерживались плана ветеринарных мероприятий. Ход опыта согласовали с руководством и зооветеринарными специалистами.

Анализ результатов исследований показал, что цыплята опытной группы, которым использовали средство из растительного сырья в виде водного раствора, имели более высокие темпы роста, были активнее, охотно принимали корм и лучше развивались, чем контрольные аналоги. Перья у цыплят в обеих группах были блестящими, гладкими. У птиц опытной группы маховые и рулевые (хвостовые) перья хорошо удерживались в перьевых фолликулах, чем у контрольных сверстниц.

При изучении прироста массы тела цыплят установлено, что за период эксперимента птица опытной группы превосходила по живой массе своих контрольных аналогов от 4,4 до 7,6 %.

Сохранность цыплят опытной группы составила 97,5 % при 92,5 % в контроле.

Таким образом, исследованиями установлена высокая эффективность рассматриваемого средства, что выражается не только в сохранности птицы, но и в увеличении росто-весовых показателей, а также улучшения общефизиологических показателей.

### 3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработано новое, комплексное фармакологически активное средство из лекарственных растений для использования в птицеводстве с целью повышения продуктивности животных. Средство представляет собой жидкость светло-коричневого цвета, со специфическим запахом.
2. Средство КВ малотоксично для теплокровных животных при энтеральном и парентеральном введении в дозах: лабораторным животным - 25 мл/кг массы тела. ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>100</sub> не установлены, и в соответствии с классификацией химических соединений по ГОСТу 12.1.007.76 относится к IV классу опасности – вещества малоопасные. Не обладает выраженным кумулятивным, местно-раздражающим, аллергизирующим и эмбриотоксическим действиями.
3. Выпаивание средства КВ с питьевой водой через индивидуальные поилки на 1,6,7,14,15,24 и 25-е сутки жизни из расчета: в течение первых суток в дозе – 0,05 мл, на 6 и 7 сутки – 0,1 мл, на 14,15, 24 и 25-е сутки – 0,125 мл на 1 цыпленка, способствует увеличению темпов роста цыплят.

#### 4. Список работ опубликованных по теме диссертации

1. Медетханов, Ф.А. Параметры острой токсичности комплексного средства на основе растительного сырья /Ф.А. Медетханов, Д.П.Хадеев, **К.В. Муравьёва**, И.А. Конакова//Ученые записки КГАВМ, 2017. Т. 230 (II). – С. 106 – 109.
2. Медетханов Ф.А. Изучение острой токсичности средства из растительных компонентов на белых крысах /Ф.А. Медетханов, **К.В. Муравьёва**, Д.П. Хадеев // Ученые записки КГАВМ, 2017. Т. 231 (III). – С. 97 – 99.
3. Медетханов, Ф.А. Доклинические исследования кумулятивных свойств средства «КВ»/Ф.А. Медетханов, **К.В. Муравьёва**// Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции «Наука и инновации в АПК XXI века», посвященной 145-летию Академии. Казань, 2018. – с. 228-230.
- 4.Медетханов Ф.А. Изучение подострой (субхронической) токсичности и кумулятивных свойств комплексного средства на основе растительного сырья / Ф.А. Медетханов, Ю.В. Ларина, Д.П. Хадеев, **К.В. Муравьёва**, И.А. Конакова, Э.С. Яруллина // Ученые записки КГАВМ, 2018. Т.236(IV). – С. 130 – 134.
5. **Муравьёва, К.В.** Оценка репродуктивной безопасности средства из растительного сырья / К.В. Муравьёва //Ученые записки КГАВМ, 2019. Т. 239 (III). – С. 177 – 181.