

УДК 619:616.98:578.8:546.47

<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2021-1-58-62>

Струк М.С., старший научный сотрудник

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского», г. Минск

РАЗРАБОТКА НОВОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА

Резюме

Приведены данные по разработке нового инъекционного препарата на основе наночастиц цинка. Указан его состав, основные физико-химические и фармакологические свойства. Определен порядок применения препарата и его эффективность при парентеральном способе введения крупному рогатому скоту.

Ключевые слова: ветеринарный препарат, наночастицы, цинк, вирусно-респираторная инфекция, пневмоэнтериты.

Summary

Data on the development of a new injectable drug based on zinc nanoparticles are presented. Its composition, basic physico-chemical and pharmacological properties are indicated. The procedure for the use of the drug and its effectiveness in the parenteral method of administration to cattle was determined.

Keywords: veterinary drug, nanoparticles, zinc, viral-respiratory infection, pneumoenteritis.

Поступила в редакцию 17.05.2021 г.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной задачей современной ветеринарной фармакологии является обоснование и разработка новых высокоэффективных и безопасных фармакологических препаратов для практического использования в целях профилактики и лечения вирусных инфекций крупного рогатого скота. Вирусные респираторные инфекции и пневмоэнтериты остаются наиболее распространенными патологиями, имеющими в промышленном скотоводстве тенденцию роста [1]. Специфическая профилактика не позволяет в полной мере ограничить их распространение, а лечение – существенно снизить потери [2]. Перспективным решением проблемы может быть разработка цинксодержащих препаратов в виде наносуспензий [3, 4, 5, 6].

Цинк является уникальным микроэлементом, который играет важную роль в формировании и поддержании иммунного статуса животных. От него зависит количество, функциональная активность, метаболизм Т- и В-клеток, формирование секреторного иммунитета, макрофагальный фагоцитоз и ряд других факторов неспецифи-

ческой защиты [7, 8]. Вместе с тем имеющиеся на рынке препараты, содержащие цинк, как правило, комплексные, с добавлением низкоэффективных сульфаниламидов, витаминов и других микроэлементов, существенно повышающих их стоимость и токсичность.

В связи с этим разработка нового фармакологического препарата для ветеринарии на основе наночастиц цинка является актуальной задачей, решение которой позволит повысить эффективность терапии и профилактики вирусных респираторных болезней и пневмоэнтеритов телят и тем самым сократить убытки, причиняемые данной патологией животноводческим хозяйствам Республики Беларусь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные и производственные испытания препарата «Иммунонаноцинк» проводились на лабораторных и сельскохозяйственных животных с использованием современных токсикологических, гематологических, биохимических, иммунологических и физико-химических методов исследований, которые позволили полу-

чить достоверные результаты и объективно оценить безопасность и эффективность разработанного препарата для молодняка крупного рогатого скота.

Исследования состояли из четырех основных этапов. На первом этапе проведен мониторинг распространения вирусных респираторных инфекций телят и установлен клинико-гематологический и биохимический статус животных при данной патологии. На втором этапе исследований по результатам физико-химических свойств компонентов, фармакологической совместимости и стабильности в процессе хранения был сконструирован опытный образец препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк». На третьем этапе проведены токсикологические исследования на лабораторных животных, изучено иммуностимулирующее и антибактериальное действие препарата. Четвертый этап – апробация препарата в производственных условиях, изучено его влияние на организм молодняка крупного рогатого скота, определена лечебная, профилактическая и экономическая эффективность его применения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт применения наночастиц цинка показывает, что, в отличие от оксида и солей цинка, они менее токсичны. Благодаря малым размерам, легче вступают в химические реакции, легко адсорбируются некоторыми веществами, которые могут быть их носителями и средством доставки в ткани

[9, 10, 11, 12]. С учетом высокой активности наночастиц актуальным является установление фармакологических свойств, оптимальных доз и схем их применения при терапии и профилактике различных заболеваний.

Исходя из этого на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» был разработан новый препарат на основе наночастиц цинка, обладающий иммуностимулирующим, профилактическим и лечебным эффектом при вирусных респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах телят – «Иммунонаноцинк» (рисунок).



Рисунок. – Препарат ветеринарный «Иммунонаноцинк»

Препарат представляет собой суспензию серовато-белого цвета. Его состав и основные физико-химические свойства представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Состав и основные физико-химические свойства препарата ветеринарного «Иммунонаноцинк»

Наименование показателя	Характеристика и нормы
Внешний вид, цвет	суспензия серовато-белого цвета, допускается выпадение осадка, разбивающегося при встряхивании
Стерильность	стерилен
Безвредность и реактогенность	должен выдержать испытание
Концентрация ионов водорода	8,0–9,6
Массовая доля действующего вещества, %	
Наночастицы цинка	15
Массовая доля стабилизирующего вещества, %	
Микрокристаллическая целлюлоза	85

Важным фактором при разработке препарата являлся выбор стабилизирующего вещества. Это было связано с тем, что наноразмерные частицы довольно подвижны, и для получения устойчивых систем требуется каким-либо способом подавить их агрегацию. В качестве вариантов стабилизирующего вещества были использованы различные полимеры (микрористаллическая целлюлоза, высокомолекулярный хитозан, полиэтиленгликоль), которые позволили бы без снижения активности наночастиц сохранять их в коллоидном состоянии. В процессе исследований оптимальным стабилизирующим веществом для препарата был выбран 2,5%-ный раствор микрористаллической целлюлозы, который позволил стабилизировать наночастицы, увеличить скорость их растворения и за счет своей физиологической инертности не требовал специальных ограничений при использовании.

При этом основным показателем контроля качества препарата являлось наличие и определение массовой доли ионов Zn методом атомно-эмиссионной спектроскопии, которая составила не менее 50 мкг/см³.

На конечном этапе конструирования был проведен опыт по изучению стабильности компонентов разработанного препарата в течение 12 месяцев хранения при температуре от +4 °С до +8 °С. По истечении данного срока лабораторный образец препарата на основе наночастиц цинка оставался стабильным, при этом основные показатели качества сохранялись в рекомендуемых пределах.

Технология получения лабораторных образцов включала следующие этапы:

- получение наночастиц цинка;
 - получение стабилизирующего вещества;
 - стерилизация компонентов препарата;
 - смешивание составных компонентов;
 - фасовка и укупорка;
 - контроль качества препарата.
- Сконструированный препарат на ос-

нове наночастиц цинка является стерильным, безвредным и ареактогенным. Не обладает местно-раздражающим, кожно-резорбтивным, сенсibiliзирующим и раздражающим действием на слизистые оболочки глаз лабораторных животных. По параметрам острой токсичности классификации ГОСТ 12.1.007-76 препарат относится к 4-му классу опасности (вещества малоопасные). Длительное применение в дозах, в несколько раз превышающих лечебно-профилактические, отрицательно не влияло на общее состояние животных и другие показатели их клинического статуса.

В ходе проведенных исследований установлено, что препарат на основе наночастиц цинка при внутримышечном введении в дозах 7–20 мкг/кг живой массы положительно влияет на факторы неспецифической иммунной защиты (фагоцитарную активность лейкоцитов, фагоцитарный индекс), достоверно усиливает синтез специфических антител при иммунизации против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи, что позволяет использовать его в качестве иммуностимулирующего средства.

Так, при введении кроликам образца препарата отмечено увеличение фагоцитарного индекса с $2,74 \pm 0,4$ до $7,06 \pm 1,9$ ($P \geq 0,02$), т.е. в 2,58 раза. Разница между показателями до и после введения демонстрирует активизацию метаболического потенциала фагоцитов и фактически характеризует их иммуностимулирующую активность. Соответственно, снижение активности и интенсивности фагоцитоза расценивается как показатель ослабления поглотительной функции фагоцитов и недостаточности их переваривающей способности.

Полученные данные свидетельствуют также о том, что одновременное введение образца препарата с вакциной против инфекционного ринотрахеита способствует увеличению титра антител на $4,25 \log_2$, а совместное использование с вакциной против вирусной диареи ведет к повышению титра антител на $5,5 \log_2$.

Известно, что активное потребление бактериями катионов цинка, даже в усло-

виях применения относительно низких концентраций металла, вызывает форсирование мутагенеза, тем самым оказывая существенное влияние на функционирование их биохимического и генетического аппаратов [13]. В связи с этим было изучено ан-

тибактериальное действие препарата в отношении различных условно-патогенных бактериальных культур. Показателем активности служила зона задержки роста бактерий (таблица 2).

Таблица 2. – Антибактериальная активность препарата на основе наночастиц цинка

Образец препарата	Диаметр зоны задержки роста, мм								
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella dublin</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Концентрация наночастиц 50 мкг/мл	14	15	14	11	15	13	14	10	11

По окончании инкубации была проведена визуальная оценка результатов. Наибольшая чувствительность отмечалась по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Pasteurella multocida*, в меньшей степени – к *Pseudomona saeruginosa*.

В качестве альтернативного метода при изучении антибактериальных свойств препарата была использована атомно-силовая микроскопия. В ходе исследования были получены изображения бактериальных клеток *E. coli* до и после инкубации с препаратом.

Результаты свидетельствуют, что препарат стабилизированных микрокристаллической целлюлозой наночастиц цинка в концентрации 50 мкг/мл проявляет антибактериальную активность в отношении исследованного штамма *E. coli*, вызывает разрушение бактериальной стенки, а также ведет к изменению ее морфологии. Таким образом, исследуемый препарат обладает большим потенциалом применения в терапии инфекционных заболеваний, вызванных патогенными микроорганизмами, поскольку будет оказывать на них комплексное воздействие.

Влияние нового препарата на гематологические и биохимические показатели организма телят были изучены в условиях животноводческого хозяйства Республики Беларусь на животных в возрасте от 35 до

40 дней с клиническим проявлением вирусных респираторных инфекций и пневмоэнтеритов. Однократное внутримышечное введение телятам препарата «Иммунонаноцинк» в дозе 5 см³ в течение 3–5 дней не оказывало негативного влияния на показатели крови животных. Его применение в комплексной терапии при вирусных респираторных инфекциях способствовало стабилизации показателей обмена веществ и маркерных ферментов, а также нормализации последствий инфекционного процесса в организме молодняка крупного рогатого скота. Допускается применение в комплексе с симптоматическими, антибактериальными и противовирусными средствами. На качество животноводческой продукции использование препарата не влияет. Применение его в условиях производства оказалось оправданным, так как в 84–92 % случаев профилактировало возникновение вирусных респираторных заболеваний и пневмоэнтеритов, а в 90–96 % случаев способствовало выздоровлению заболевших особей, что обеспечивало получение экономического эффекта 5,4 рубля на рубль затрат.

На ветеринарный препарат на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» был получен положительный результат предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение Националь-

ного центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь.

Таким образом, результаты производственных испытаний позволили рекомендовать данный ветеринарный препарат к использованию на практике в качестве иммуностимулирующего средства при вирусных респираторных болезнях и пневмоэнтеритах телят.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препараты на основе цинка немногочисленны, но эффективность их приме-

нения не вызывает сомнений. Это позволяет считать исследования по их разработке и производству актуальными для решения различных проблем при лечении и профилактике целого ряда заболеваний. Они могут быть перспективны при использовании в практической ветеринарии как для повышения биологической устойчивости сельскохозяйственных животных к воздействию различных неблагоприятных факторов, так и при лечении патологических состояний терапевтического и инфекционного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрова, О. Г. Обоснование тактических особенностей профилактики ОРВИ крупного рогатого скота при промышленных технологиях содержания / О. Г. Петрова, М. И. Барашкин // *Аграрн. вестн. Урала*. – 2014. – № 11 (129). – С. 32–36.
2. Петушок, А. Н. Ветеринарное обслуживание промышленного животноводства / А. Н. Петушок, В. В. Малашко ; Гродн. гос. аграр. ун-т. – Гродно : ГГАУ, 2018. – 318 с.
3. Изучение воздействия наночастиц железа на содержание гидропироксидов в липидах печени в процессе регенерации кожи после нанесения экспериментальных полнослойных ран / Т. А. Байтукалов [и др.] // *Физико-химические и прикладные проблемы магнитных дисперсных наносистем : сб. науч. тр. II Всероссийской науч. конф.* – Ставрополь, 2009. – С. 276.
4. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / О. А. Богословская [и др.] // *Вестн. Оренбург. гос. ун-та*. – 2009. – № 2. – С. 124–128.
5. Глуценко, Н. Н. Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия / Н. Н. Глуценко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская // *Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 24–26 мая 2006 г. / Моск. гос. открытый ун-т ; ред. совет : Ю. Ф. Назаров и др.* – М., 2006. – С. 93–95.
6. Ле Вьет Фьонг. Использование высокодисперсных порошков железа, меди, марганца, цинка в премиксах цыплят-бройлеров : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.02 / Ле Вьет Фьонг. – М., 2005. – 114 с.
7. Попович, Ю. Г. Физиологическая роль цинка / Ю. Г. Попович // *Педиатрия и детская хирургия*. – 2011. – № 1 (63). – С. 37–40.
8. Шейбак, М. П. Недостаточность цинка у детей / М. П. Шейбак, Л. Н. Шейбак // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии*. – 2000. – Т. 45, № 1. – С. 48–52.
9. Влияние наночастиц меди и железа на рост микробных клеток / О. А. Богословская [и др.] // *Новая технологическая платформа биомедицинских исследований (биология, здравоохранение, фармацевтика) : материалы науч.-практ. конф., Ростов-на-Дону, 16–17 окт. 2006 г. / Рос. акад. наук, Юж. науч. центр, Рос. фонд фундам. исслед. ; редкол.: Г. Г. Матишов (отв. ред.) и др.* – Ростов н/Д., 2006. – С. 72–73.
10. Антибактериальное действие наночастиц меди / И. В. Бабушкина [и др.] // *Вестник РУДН. Серия : Медицина*. – 2012. – № 2. – С. 137–139.
11. Дмитриевская, А. А. Биоцидные свойства суспензий наночастиц металлов и их оксидов / А. А. Дмитриевская // *Бюл. мед. интернет-конф.* – 2017. – Т. 7, № 6. – С. 876–878.
12. Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике : учеб.-практ. пособие / В. Б. Борисевич [и др.] ; под ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. – Киев : Авіцена, 2012. – 511 с.
13. Влияние наночастиц цинка на бактериальные клетки / И. В. Бабушкина [и др.] // *Вестник РУДН. Серия : Медицина*. – 2012. – № 3. – С. 22–25.