

**ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМЕНИ В.И.НИКИТИНА
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК ТАДЖИКИСТАНА
ЛАБОРАТОРИЯ ФАРМАКОЛОГИИ**

615.32.638.135

На правах рукописи

АМИРОВА ГУЛХУМОР ХОЛМАДОВНА

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОПОЦИНКА (СИРОП)

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корр.НАНТ доктор медицинских, профессор,
Рахимов И.Ф.

Душанбе, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень сокращений и условных обозначений.....	5
Введение	6
Общая характеристика работы.....	10
Глава 1.Современное состояние и перспективы исследования новых комбинаций (пропоцинк) на основе продуктов пчеловодства.....	16
1.1.Физико-химические характеристики прополиса.....	17
1.1.1.Органолептические и физические свойства прополиса.....	18
1.1.2.Химический состав прополиса.....	19
1.2.Использование прополиса в медицине.....	21
1.2.1.Использование прополиса в нетрадиционной (современной) медицине.....	23
1.2.2.Фармакологическая характеристика прополиса.....	27
1.3. Физико-химические характеристики цинка	31
1.4. Использование цинка в медицине	31
1.5. Стандартизация прополиса.....	37
Глава 2.Материал и методы исследования.....	38
2.1.Характеристика объекта исследования и методы экстракции	38
2.2.Физико-химические характеристики объекта исследования	38
2.3.Лабораторные животные и условия содержания	38
2.4.Методы исследования острой токсичности	39
2.5.Методы исследования раздражающего действия.....	40
2.6.Методы исследования хронической токсичности.....	40
2.6.1.Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на биоэлектрическую активность миокарда и частоту дыхательных движений у белых крыс	41
2.6.2.Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на гематологические и биохимические показатели на 150 сутки эксперимента у белых крыс	41
2.6.3.Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после внутрижелудочного введения пропоцинка в различных дозах на 150 сутки эксперимента.....	41

2.6.4. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на морфологическую структуру некоторых внутренних органов на 180 сутки эксперимента у белых крыс	42
2.7. Формалиновый, гистаминовый, серотониновый модели и модели «ватных шариков»	42
2.8. Статистические методы исследования	44
Глава 3. Технология получения сиропа пропоцинк и методы экстракции.....	45
3.1. Подготовка сырья прополиса и правила приемки.....	47
3.2. Характеристика готового продукта	48
3.3. Получение сиропа «Пропоцинк-Х»	49
Глава 4. Определение острой и хронической токсичности, местно-раздражающего действия, алергизирующей активности, параметров доза-эффект	52
4.1. Результаты острой токсичности.....	52
4.2. Результаты хронической токсичности	62
4.2.1. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на динамику потребления корма и воды у белых крыс	66
4.2.2. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на массу тела белых крыс	66
4.2.4. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на гематологические и биохимические показатели на 150 сутки эксперимента у белых крыс	74
4.2.5. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на морфологическую структуру некоторых внутренних органов на 180 сутки (6 месяцев) эксперимента у белых крыс	80
4.3. Результаты местно-раздражающего действия	96
4.3.1. Оценка местно-раздражающего действия пропоцинка на кожу.....	96
4.3.2. Оценка местно-раздражающего действия пропоцинка на слизистые оболочки глаз	98
Глава 5. Исследование адаптогенных свойств пропоцинка.....	101
5.1. Влияние пропоцинка на устойчивость животных к кислороддефицитным состояниям различного происхождения.	105

5.1.1.Нормобарическая гипоксия с гиперкапнией.....	105
5.1.2.Гемическая гипоксия.....	107
5.2. Исследование актопротекторной активности пропоцинка	109
5.2.1.Оценка действия пропоцинка на физическую выносливость	109
Глава 6. Противовоспалительные свойства пропоцинка.....	112
6.1.Исследование влияние пропоцинка на фазу альтерации.....	117
6.2.Исследование влияние пропоцинка на фазу экссудации.....	118
6.3.Исследование влияния пропоцинка на пролиферативную фазу воспаления.	123
Глава 7. Обсуждение результатов исследования.....	126
Выводы.....	136
Рекомендации по практическому использованию результатов исследования.....	138
Список источников.....	139
	Ошибка! Закладка не определена.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатоаминотрансфераза

БАВ – биологически активные вещества

ВАК – высшая аттестационная комиссия

В/Ж - внутрижелудочно

ГОСТ – государственный стандарный образец

НАНТ – национальный академии наук Таджикистана

НИИ – научно-исследовательский институт

РАСХН – Российской академии сельско-хозяйственный наук

Сироп «Пропоцинк-Х» - пропоцинк

ФС – фармакопейная статья

ХНЗЛ – хронические неспецифические заболевания легких

ЧДД – число дыхательных движений

ЧСС - число сердечных сокращений

ANOVA – analysis of variance

LD – летальная доза

MSR – mean square due to regression

Введение

Актуальность темы исследования

Современная медицина ставит новые задачи в области разработки новых лекарственных препаратов, фитопрепаратов и биологически активных добавок. Требования к лекарственным препаратам заключается в том, что они должны обладать высокой фармакологической активностью, низкой токсичностью и экономической доступностью для широких масс населения. Лекарственные средства природного происхождения, с содержанием биологически активных веществ (субстанций) сегодня составляют значительный объем фармацевтического рынка в больших странах. Это количество все время увеличивается. Например, на фармацевтическом рынке Российской Федерации доля лекарственных препаратов растительного происхождения составляет 4000 наименований (Киселева Т.Л. и др.,2013, Рязанова Т.К., 2022). Данные ВОЗ показывают, что идет тенденция к росту использования фитопрепаратов и растет их доля в объеме потребления, и оно может достигнуть до 60% (Heinrich M. et al.,2018). В последние годы активно развиваются фитобиотехнологические направления в медицине, которые направлены на получение востребованных высокоактивных биологически активных соединений из высших растений (Badal, S., et al.,2016). Установлено, что входящий в состав лекарственных растительных препаратов биологические активные соединения могут усиливать действие друг друга (Evans, W.C.,2014; Heinrich M. et al.,2018). Поэтому роль и значение препаратов растительного происхождения возрастает. Расширение сырьевой базы и арсенала лекарственных средств для отечественной промышленности требует нового подхода к разработке фитопрепаратов, препаратов животного и растительного происхождения и синтетических препаратов. Одним из важных веществ, который может иметь потенциальную сырьевую базу промышленного значения является прополис. Современная медицина в эру вирусных и других инфекционных заболеваниях нуждается в иммуностимуляторах и иммуномодуляторах, так как идет увеличение заболеваний, в основе которых

лежат иммунопатологические расстройства. С другой стороны ежегодно увеличивается число резистентных к антивирусной и антимикробной терапии штаммов микроорганизмов, появляются новые вирусные заболевания с измененным к настоящей терапии формой. Все это требует создания новых препаратов, в том числе препаратов природного происхождения, с широким спектром действия и с меньшим количеством побочных проявлений. Прополис как известный продукт является перспективным антимикробным и противовирусным препаратом для комбинированного лечения данных патологий. Важной задачей отечественной фармакологии и фармации является разработка инновационных препаратов на основе отечественного лекарственного растительного сырья, конкурентоспособных зарубежным аналогам. В этом аспекте особый интерес представляют соединения биологических продуктов (в том числе прополис) и растительного мира, фармакологическая эффективность которых сочетает в себе разностороннее действие не только на защитные системы организма, но и на паталогический процесс непосредственно.

Степень разработанности проблемы

Прополис известный продукт смешанного происхождения: растительного (смолистые вещества растений) и животного происхождения (пчелы, смешивают смолы растений с соками собственного организма) с очень сложным составом и богатыми разнообразными биологическими свойствами. Известны такие фармакологические свойства прополиса, как: антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, антиоксидантные, антирадиационные, гепатопротекторные, противоопухолевые, противовоспалительные, антидиабетические, кардиопротекторные и т.д. Созданы десятки препаратов из прополиса для лечения различных заболеваний и состояний, а в последнее время активно идет разработка БАДов на основе и с содержанием прополиса. Многообразие действия прополиса и ее эффективность при различных заболеваниях не вызывает сомнений. Особенно обращает на себя внимания действие прополиса на иммунную систему,

противомикробное, противовирусное и противогрибковое действие прополиса. Хотя в мире этот продукт и препараты на его основе используются давно и широко, в нашей стране до сих пор нет ни одного препарата на основе прополиса или с ее содержанием. Нет даже сведения за последние годы о состоянии сбора, объеме сбора этого продукта по республике, хотя в прошлые годы эти исследования активно проводились. Пчеловодческие хозяйства республики были в состоянии собирать этот продукт в достаточном объеме для промышленного фармацевтического производства. Несмотря на степень изученности и множества препаратов из прополиса, в нашей стране нет даже очищенного стандартизированного субстрата этого продукта для использования в медицине и медицинской промышленности. Не ведутся работы по целенаправленному созданию препаратов из прополиса, хотя уже доказаны такие важные биологические его свойства как: гастропротективные и противоязвенные (Barros, M.P.etal., 2007), средства усиливающие образование такого важного элемента в желудке, как муцин (DeMendonça, M.A.A. etal., 2020), улучшающие жировые (NakajimaM., 2016) и белковые обменные процессы в организме (Коя-Мiyata, S. etal., 2009). Особый интерес в эру появления на земле новых штаммов микробов и вирусов представляют такие свойства этого продукта как: противовоспалительные, иммуномодулирующие и противоопухолевые действия. (WatanabeM.A. et al., 2011). Из известных в России иммуностропных препаратов растительного происхождения, используется эхинацея пурпурная (Вельмяйкина, Е. И., 2012), зарегистрированы несколько фитопрепаратов (Коваленко Л. П. и соавт., 2008). В других странах идет усиленное изучение и доклиническое исследование источников биологически активных веществ среди неофициальных растений с иммуностропным действием (Данилец, М. Г. и соавт., 2010; Хобракова В. Б. и соавт., 2011; Хобракова В. Б.2012). Проводятся изыскания иммуностимулирующей активности в составе лекарственных растенийсодержащих активные соединения, находящихся в медицинском применении, (Данилец М.Г. и соавт.,2010; Куркин В.А., 2012; Масная Н.В. и

соавт., 2013), среди дикорастущих и культивируемых растений во многих странах и за рубежом (Makinja I.K. et al., 2011; Nobakht A et al., 2012; Egba S.I. et al., 2013; Jiang W. et al., 2013; Park H.J. et al., 2014).

Несмотря на наличие фармако-терапевтических и в том числе, иммуностимулирующих и антимикробных свойств прополиса, степень научной разработанности проблемы и введения в практическую медицину прополиса и препаратов на его основе остается невысокой. Внедрение прополиса в медицинскую практику возможно после изучения механизма действия, полного изучения фармакологических свойств прополиса, а также решения проблем стандартизации, контроля качества прополиса-сырья. Одна из основных задач современной фармакологии и медицины это расширение количества иммуотропных препаратов на базе растительного и животного сырья.

Считаем целесообразным изучение вопросов безопасности и фармакологической активности прополиса, состоящее из прополиса и цинка, которые широко применяются в традиционной и народной медицине различных стран. В настоящее время полноценных сведений о биологической и фармакологической активности прополиса отсутствуют.

Связь исследования с программами (проектами), научной тематикой

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР Института химии им. В.И.Никитина НАН Таджикистан по разработке новых лекарственных препаратов на основе местного природного сырья «Исследования фармакологических свойств производных холановых кислот, природных соединений пектина и растительной флоры с целью создания лекарственных препаратов» под номером государственной регистрации № 010ТД922. Тема диссертационной работы утверждена на заседании ученого совета Института химии им. В.И.Никитина НАН Таджикистан 30.11.2022 г под №31008/23-1/221.

Общая характеристика исследования:

Цель исследования

Целью работы явилось экспериментальное обоснование безопасности пропоцинка, а также выявление его фармакологических свойств в эксперименте.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

Задачи исследования

1. Разработать лабораторную технологию получения сиропа пропоцинкана основе прополиса и сульфата цинка для перорального применения;

2. Изучить острую и хроническую токсичность пропоцинка и выявить влияние пропоцинка на функции некоторых органов и систем и физиологических и биохимических показателей при длительном внутрижелудочном введении.

3. Провести изучение адаптогенного действия пропоцинка при пероральном введении на различных моделях;

4. Провести сравнительный анализ противовоспалительных свойств пропоцинка на различных стадиях воспалительного процесса.

Объект исследования

Объектом исследования были лабораторные животные (белые мыши, белые крысы и кролики). Работа с лабораторными животными проводилась по всем правилам и соблюдались все требования, содержание животных и санитарные нормы. Фармакологические опыты и другие процедуры проводились с минимальным ущербом для животных, проведены морфометрические, биохимические и другие анализы крови животных. Основные исследования работы составили исследования в области фармакологии, которые планировали и проводили в соответствии с методологией, изложенной в рекомендациях по доклиническому изучению

лекарственных средств отечественных и зарубежных авторов с использованием современных средств.

Предмет исследования

Предметом исследования является разработанный по новой технологии сироп пропоцинк на основе прополиса (продукта животного происхождения) и цинка. Методология исследования построена на анализе большого количества литературы, обобщении отечественных разработок и зарубежных литературных источников, оценка разработанности темы и ее актуальности, постановки цели и задачи исследования по изучению прополиса и цинка и перспективы создания на их основе сиропа.

Комплекс лабораторных исследований соответствовали стандартным требованиям и методическому уровню экспериментальных и лабораторных исследований.

Научная новизна исследования

Впервые разрабатывается сироп пропоцинк на основе прополиса и цинка.

Впервые изучена и доказана безопасность пропоцинка на животных в остром и хроническом эксперименте. Доказано, что пропоцинк в экспериментах на функцию и структуру внутренних органов в введенных дозах и сроках введения отрицательного действия не оказывает.

Впервые доказано, что пропоцинк оказывает выраженное противовоспалительное действие на всех фазах воспалительного процесса и это действие приближается в ряде случаев и дозах к действию прототипа.

Установлено, что пропоцинк оказывает адаптогенное действие на организм животных подвергнутых стрессовым воздействиям и это свойство очень полезно использовать в чрезвычайных условиях и ситуациях.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования

В результате исследования разработан новый сироп на основе прополиса и цинка и доказана безопасность его использования в экспериментах. Получены результаты о влиянии пропоцинка на защитно адаптогенных способностях макроорганизма и улучшение степени защиты пропоцинком в экстремальных

условиях. Получены результаты о влиянии пропоцинка на всех фазах воспалительного процесса, где доказано антифлогистическое действие пропоцинка.

Результаты исследований могут быть использованы при разработке новых препаратов растительного происхождения и комбинации природных растительных веществ и продуктов биологического происхождения. Результаты могут быть использованы при разработке противовоспалительных и адаптогенных препаратов растительного происхождения. Всесторонний анализ параметров острой токсичности может быть использован для уточнения параметров токсичности различных лекарственных веществ в экспериментальных исследованиях.

Разработка новых препаратов и лекарственных форм из природного сырья является приоритетной задачей фармацевтической отрасли республики. Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии и технологии лекарственных средств Таджикского государственного медицинского университета в рамках дисциплин «Фармакология», «Технология лекарств»; используются в лекционном курсе, при проведении лабораторных работ и в научно-исследовательской работе студентов специальности «Лечебное дело», «Фармация».

Результаты проведенного исследования внедрены в практику работы лаборатории фармакологии Института химии НАНТ.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты разработки пропоцинка (технология разработки пропоцинка);
2. Результаты изучения безопасности пропоцинка;
3. Результаты изучения адаптогенных свойств пропоцинка;
4. Результаты изучения противовоспалительных действий пропоцинка;

Степень достоверности результатов

Использованные методы экспериментального исследования соответствуют целям и задачам диссертационного исследования. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, логически вытекают из результатов исследований. Достоверность подтверждается актом проверки первичного материала. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований, проведенных на аутбредных и инбредных половозрелых мышах с использованием современных методов и методических подходов, современного оборудования и лекарственных препаратов сравнения в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных веществ влияющих на воспаление и адаптации, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности (с обзором и областью исследований)

Научные положения, отраженные в диссертации соответствуют области исследования специальности 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам

1. Поиск новых биологически активных фармакологических веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях патологических состояний.
2. Исследование зависимости «структура-активность» в различных классах химических веществ, проведение направленного синтеза и скрининга фармакологических веществ.
3. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях а также на культурах клеток.

4. Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция фармакологических параметров с биологических моделей на человека.
5. Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности фармакологических веществ-токсикологические исследования, включающие изучение токсичности потенциальных лекарственных препаратов и их готовых лекарственных форм в условиях острых и хронических экспериментов на животных, а также оценку возможных специфических видов токсичности и проявление нежелательных побочных эффектов (мутагенность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на репродуктивную функцию, аллергизирующее действие, иммунотоксичность и канцерогенность) паспорта специальности «Фармакология, клиническая фармакология».

Личный вклад соискателя ученой степени в исследования

Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах работы: планировании и проведении экспериментальных исследований

Автору работы принадлежит ведущая роль в составлении диссертации, которая заключается в непосредственном участии на всех этапах работы, включая подбор и анализ литературы, планировании и проведении экспериментальных исследований; обработке, интерпретации и обсуждении полученных результатов; выполнении и обработке статистических данных, подготовке материалов к публикаций по основным положениям диссертационной работы, сборе и анализе литературных данных, написании всех глав диссертации и ее оформлении.

Апробация и реализация результатов исследования

Результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на 65-ой годичной международной научно-практической конференции Таджикского

государственного медицинского университета имени Абулали ибни Сино
Получение водно-спиртового серебряного настоя прополиса (ПСР-х) и
изучения его антимикробного свойства. Х.Ш.Джураев, Г.Х.Амирова,
Д.Н.Джамshedов, А.А.Саидов, с.361); на 17-ой ежегодной конференции
Нумановские чтения в Институте химии имени В.И.Никитина Национальной
академии наук Таджикистана (Местно-раздражающее и кожно-резорбтивное
действие сиропа пропоцинк//Рахимов И.Ф.,Эльназаров М.Х., Амирова Г.Х. /
Сборник материалов «XVII Нумановские чтения: Развития современной химии
и её теоритические и практические аспекты». Душанбе, 18.10.2023 г. С.204-210.

Публикации по теме диссертации:

По теме диссертации опубликовано 6 печатных научных работ, из
которых 4 в журналах, рекомендованных ВАК при Президенте Республики
Таджикистан и получены 3 патента РТ на изобретение, которые достаточно
отражают ее содержание.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 161 страницах компьютерного текста, формат
А4, TimesNewRoman, кегль 14 и через 1,5 интервал, иллюстрирована 42
таблицами, 18 рисунок, 1 технологическая-лабораторная схема, состоит из
введения, общая характеристики исследования, современное состояние и
перспективы исследования новых комбинаций (пропоцинк) на основе
продуктов пчеловодства, обзора литературы (глава I), экспериментальной
части (главы II-VI), обсуждения результатов, выводов, практических
рекомендаций. Список литературы включает 96 отечественных и 95
иностранных источника.

Глава 1. Современное состояние и перспективы исследования новых комбинаций (пропоцинк) на основе продуктов пчеловодства

Современная медицина ставит новые задачи в области разработки новых лекарственных препаратов, фитопрепаратов и биологически активных добавок. Требования к лекарственным препаратам заключается в том, что они должны иметь высокую фармакологическую активность, низкую токсичность и экономическую доступность для широких масс населения. Фармацевтическая промышленность Таджикистана находится в период своего становления, формируются начальные этапы его развития. В аспекте быстрой индустриализации республики эта часть промышленности становится важной отраслью и привлекательным для отечественных и зарубежных инвесторов. Одним из важных продуктов, которая имеет потенциальную сырьевую базу промышленных размеров, является прополис. Прополис, как продукт совместной жизнедеятельности растений и пчел является перспективным источником противовоспалительных, антимикробных и регенерирующих лекарственных веществ (Браславский В.Б. и др., 2009).

Прополис собирается пчелами с различных растений. Механизм сбора прополиса был описан еще в 1956 году Менером (Осинцева Л.А., 2012). Суммарное количество прополиса в улье составляет в среднем около 200 г и зависит от множества факторов: расы пчел, климато-географического фактора, конструкции улья, наличие источников прополисного сырья, силы семьи (Осинцева Л.А., 2012).

Сдерживающим фактором внедрения прополиса и препаратов на основе прополиса в медицинскую практику является отсутствие сведений об их ресурсах в нашей республике, химическом составе прополиса собранной пчеловодами в различных регионах, а также слабая изученность фармакологических свойств этого продукта. Решение данной проблемы заключается в первую очередь в изучении ресурсной базы прополиса,

фитохимическое изучение продуктов, стандартизация сырья и конечного продукта, а также фармакологическое обоснование применения прополиса и созданных на основе прополиса, препаратов в медицине.

Нами в качестве объекта исследования был выбран прополис с добавлением цинка. Это уникальный продукт с многофункциональными свойствами и действием, в настоящее время широко используется при лечении больных, как в традиционной, так и в нетрадиционной медицине.

Прополис содержит очень много различных химических соединений благодаря растительному миру, из которого он собирается, животному миру (пчелам) которые его образуют. Различные виды прополиса распространены по всему миру: в западной, южной и центральной Европе, пчелы в основном собирают прополис из тополя черного (*Populus nigra*), в России на дальнем Востоке, в Приморье пчелы собирают прополис (*Populus balsamifera*), в Сибири пчелам доступна береза бородавчатая (*Betula verrucosa*), пушистая (*Betula pubescens*) и сосна (*Populus tremula*). В Южной Америке (Бразилия, Венесуэла) основным источником прополиса для пчел служат кустарники рода бакхарис (*Baccharis*), в основном бакхарис драконолистный (*Baccharis dracunculifolia*) (Кайгородов Р.В. и соавт., 2013). Известны также другие виды прополиса: зеленый Бразильский прополис (по происхождению из *Baccharis dracunculifolia*), красный Бразильский прополис (*Dalbergia ecastophyllum*), Европейский прополис (*Populus nigra* L.), Кубинский и Венесуэльский красный прополис (*Clusia* spp.), Тихоокеанский прополис (происхождения неизвестно), Канарский прополис (происхождения неизвестно) (Przybyłek, I.; Karpinski, M. T., 2019). Изучение химического состава прополиса в России показало, что в этой стране в основном преобладает березовый тип (до 65% от всех образцов), тополиный (15%) и березово-тополиный (15%) прополиса (Осинцева Л.А., 2012).

1.1. Физико-химические характеристики прополиса

Химический состав прополиса описан в различных источниках (Fokt H. et al., 2010; Silva-Carvalho, R. et al., 2015). Химический состав сложен и до сих пор

полностью не изучен (Корнева Н.В. и соавт., 2009). Химический состав прополиса зависит от места сбора и вида растений произрастающих на данной местности (Alencar S.M. et al., 2007; Melliou E., 2007). Состав прополиса зависит не только от места сбора и растений произрастающих на данной местности, но и от сезона сбора прополиса, который оказывает значительное влияние на химический состав и биологическую активность прополиса (Teixeira E.W., 2010; Zhang Xi., 2012).

Прополис, собранный в пасаках должен соответствовать техническим требованиям к прополису (требованиям ГОСТ 28886-90 «Прополис»).

1.1.1. Органолептические и физические свойства прополиса

Физико-химические параметры прополиса подробно изучены. В некоторых странах установлены стандартные параметры, которыми регулируется сбор сырья прополиса для применения в различных отраслях промышленности. Имеются государственные стандарты и отраслевые стандарты прополиса, в которых подробно приводятся физико-химические характеристики этого продукта. В частности такими документами являются фармакопейная статья на прополиса (ФС Прополис. Взамен ФС 42-617-95, межгосударственный стандарт), (ГОСТ 28886-2019. Прополис. Технические условия. Москва., 2019). Министерство здравоохранения Российской Федерации) и т.д. Одним из физических свойств прополиса является то, что при низких температурах он становится твердым и хрупким, а при высоких температурах мягким и пластичным и поэтому получил название пчелиного клея (LinsCavalcantidePontes2018). Имеет ароматический запах, может иметь различные цвета, которые зависят от природных климатических факторов, время сбора и период содержания его в ульях, изменяется от серого до бурозеленого (Осинцева Л.А., 2012). Запах прополиса может отсутствовать, может быть пряным ароматическим (запах растительных смол и эфирных масел) (Осинцева Л.А., 2012). Вкус бывает – горький, жгучий, вяжущий (Осинцева Л.А., 2012).

Йодное число – повышенное содержание ненасыщенных соединений;

Кислотное число – повышенное содержание свободных кислотных соединений.

Удельный вес прополиса выше 1,0 (от 1,112 до 1,136), температура плавления 80-1050С (Хомутов А.Е. и другие, 2014).

1.1.2.Химический состав прополиса

Химический состав прополиса сложен и в некоторой степени зависит от места сбора, время сбора и вида растительности на месте сбора (Tuan Nadrah Naim TuanI smail, 2018). Могут быть определенные различия в химическом составе прополиса собранных в разных географических зонах земного шара. По литературным данным даже цвет прополиса может отличаться в зависимости от места сбора, и такое разнообразие колеблется в широких пределах от зеленого, темно-коричневого, до красного. (Clusiaspp.) (Silva-Carvalho, Retal., 2015).

Основные компоненты, содержащиеся в прополисе это воск, смолы, бальзамы, ароматические и эфирные масла, пыльца и другие органические вещества (MarkhamK.R. et al., 1996). Содержание этих веществ зависит от место и района расположения, время сбора (Bankova, V., 2005) и несомненно от ареала растительности. Сложный состав, идентифицированный в прополисе (MarcucciM.C.,1995; MiguelM.G., 2013) обычно имеет три происхождения: вещества выделяемые растениями и смолы, которые собирает пчела, вещества, которые секретируются в результате метаболизма в организме пчел и вещества поступающие в состав во время образования прополиса (Silva-CarvalhoR. etal.,2015).

Флавоноидный состав прополиса представлен пятью соединениями: кемпферол, кемпферид, апегенин, акацетин, эрманин (Felipe C.DaSilval, 2011; RamadanA., 2012).

Суммарное содержание флавоноидов в составе прополиса составляет от 5 до 8%, что свидетельствует о богатом флавоноидном составе прополиса (GanapolskyV.P., 2008; OmarovSh.M., 2012).

Для пятнадцати соединений входящих в составе прополиса строение установлено полностью (Осинцева Л.А., 2012). Формулы этих соединений установлены на основании молекулярной массы (массспектрометрически) и данных элементного анализа. На основании сопоставления данных, полученных при ИК-, УФ- и ЯМР спектроскопии установлено, что большинство характерных компонентов прополиса представлены трехзамещенными, тетразамещенными и пентазамещенными флавонами, производными флаванона и ароматическими альдегидами (Осинцева Л.А., 2012).

Основные параметры химического состава дихлорметанового и этанолового экстракта прополиса исследованные при помощи газо-жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (Ahmed Rushdie et al., 2014). Результаты исследования показали, что общее количество экстрагируемых веществ колеблется от 27,2% до 64,2% ($46,7 \pm 19,1\%$). Основные компоненты этого экстракта составляют тритерпеноидные соединения ($85,5 \pm 15,0\%$, в основном представлены альфа и бетааминами и амирил ацетатом), n-алканами ($5,8 \pm 7,5\%$), n-алкинами ($6,2 \pm 7,0\%$) метил n-алканоатами ($0,4 \pm 0,2\%$) и эфирами воска (0,3 до 2,1%).

В спиртовых (70%) экстрактах прополиса в Малайзии определяли химический состав газо-хроматографическим и масс-спектрометрическим методом. Были идентифицированы 26 индивидуальных компонентов. Основные соединения принадлежали к терпеноидам. Суммарное содержание которых был в пределах от 7,19 до 11,46% (Tuan Nadrah Naim Tuan Ismail, 2018). Этими авторами были идентифицированы в прополисе фенольные кислоты и их эфиры, в том числе, галловая кислота (3,4,5-тригидроксибензойная кислота) и коричная кислота; были обнаружены жирные кислоты и сахара (арахидоновая кислота, бегеновая кислота, арабинофураноза, D-фруктоза, D-рибофураноза, D-галактоза, галактуроновая кислота, глицерол, ксилитол и т.д.). Суммарное количество сахаров было в пределах от 1,59 до

7,76%. Идентифицированные флавоноиды зависели от произрастающих растений на этих территориях.

Раньше тестирование прополиса производилось на основе субъективных ощущений и некоторых физико-химических свойств прополиса. Одна из наиболее стабильных и информативных характеристик прополиса могут стать морфологические признаки пыльцевых зерен в прополисе. По источникам литературы содержание пыльцы в прополисе составляет в большинстве случаев 5% (Вахонина Т.В., 1995). В настоящее время пыльцевой анализ состава прополиса получает широкое применение для идентификации продукта. Краткая палинологическая характеристика 12 образцов прополиса собранных из разных областей и районов России в 2009 и 2010 гг показывают частоту встречаемости пыльцевых типов в собранных образцах. Анализ состава пыльцевых типов и краткая палинологическая характеристика образцов прополиса составлена в виде таблицы (Бабаева Е.Ю. и соавт., 2012). По данным авторов и согласно проведенным им анализам состав пыльцевых спектров изученных образцов прополиса показал, что их состав в целом соответствует «региональным» предпочтениям пчел во флоре.

Определение тяжелых металлов (свинец, кадмий и цинк) в прополисе производили методом атомно-абсорбционной спектроскопии (Biljana Bogdanova Popov., et al. (2017)). Результаты показали, что содержание тяжелых металлов в образцах собранных в низовьях отличаются от содержания этих элементов собранных в высокогорной местности. Содержание свинца, кадмия и свинца в низовьях составило 0,040 мг/кг, 0,030 мг/кг и 0,030 мг/кг (соответственно), а в образцах собранных в высокогорной местности – 0,034 мг/кг, 0,014 мг/кг и 0,020 мг/кг (соответственно).

1.2 Использование прополиса в медицине

Экологическая безопасность и лекарственная безопасность требуют к себе большого внимания. Одним из решений проблемы лекарственной безопасности является разработка препаратов на основе сырья природного происхождения. Основным источником широко применяемых лекарственных

средств являются растения, минеральные вещества и продукты пчеловодства. Несколько десятков лет во всем мире применяют продукты пчеловодства, как в традиционной, так и нетрадиционной медицине. Среди этих продуктов все большего внимания привлекает прополис. Прополис обладает достаточно широкими биологическими и фармакотерапевтическими свойствами, а механизм его действия очень широко изучался в течение последних лет. Прополис, собранный пчелами с разных растений содержит значительное количество активных субстанций с потенциальными фармакологическими свойствами. Цвет прополиса зависит от места сбора, вида растений, цвет колеблется от грязно желтой до темно коричневого, со строгим и приятным запахом, не растворимый в воде, имеет полумягкую консистенцию при комнатной температуре (Hasan Türkeza Mokhtaret al., 2010). Химический состав прополиса зависит от растений, климатических зон и некоторых факторов таких как, сезон сбора, состояние окружающей среды местности, где пчелы собирают прополис (Santos F.A. et al., 2003; Viuda-Martos M. et al., 2008). В основном он состоит из смолы и растительных бальзамов (50%), воск (30%), эфирных и ароматических масел (10%), пыльцы (5%) и других различных субстанций, которые включают органические соединения и минералы (5%) (Burdock G.A. et al., 1998); (Tylkowski B., et al., 2010). Прополис давно используется в народной медицине во многих странах мира и у него выявлены различные биоактивные вещества, с антибактериальными (Bankova V. et al., 1996), противовоспалительными (Chen, C.N., et al., 2004, противоопухолевыми (Murzoeva O.K. et al., 1996) иммуномодуляторными свойствами.

В литературе имеются множество статей посвященных различным свойствам прополиса, из которых наиболее важными считаются работы имеющие противовоспалительные, противомикробные, противоопухолевые, иммуномодуляторные и антиоксидантные свойства. В последнее время публикуются статьи, где делаются попытки связывания фармакологических свойств прополиса с химическими соединениями растительного мира, сравниваются химические соединения различных видов прополиса для

определения связи флоры и свойства прополиса (Adela Ramona Moiseetal.,2020). Разнообразие действия прополиса связано именно с разнообразием растительного мира, которая участвует в его образовании и является сырьем прополиса (Bankova V.S., 2000). Сегодня прополис используется как ценный продукт в альтернативной медицине для улучшения здоровья и лечения большого количество заболеваний, в фармации как активное вещество различных лекарственных формах и как пищевая добавка. В современной медицине широко используются лекарственные формы прополиса – «Прополиса настойка» (ФС 42-3736-99) (Браславский В.Б. и соавт., 2006; Браславский, В.Б., 2009). Данная лекарственная форма используется в физиотерапии (обезболивающий и противовоспалительный эффект), при лечении стоматологических заболеваний (пародонтопатиях, острых и хронических перидонтитах), в гинекологии и отоларингологии.

Гастропротективное и противоязвенное действие прополиса доказано на модели острого повреждения желудка алкоголем, индометацином и стрессом у белых крыс (Barros, M.P.etal., 2007). Противоязвенное действие прополиса в моделях с использованием противовоспалительных средств на белых крысах посредством наложение лигатуры, прополис способствует секреции желудка и повышает продукцию муцина, а также оказывает антихелиобактерный эффект (De Mendonça M.A.A. etal., 2020). Сообщается, что прополис оказывает гипергликемический и гиперлипедимические эффекты (Nakajima M., 2016). В других сообщениях говорится, что прополис предотвращает гиперлипедимию вызванную фруктозной диетой и влияет на белковые обменные процессы в печени (Koya-Miyata, S. etal., 2009).

1.2.1.Использование прополиса в нетрадиционной (современной) медицине

Прополис обладает широкой и разносторонней биологической активностью: антибактериальной, противовирусной, антипаразитарным, противовоспалительной, антиоксидантным, антипролиферативным, противоязвенным, антисептическим, гепатопротективным, противоопухолевым

и иммуностимулятором (Machado, B.A.S. et al., 2016; Dantas Silva, R.P. et al., 2017).

Терапевтические свойства прополиса зависят от химического состава прополиса и строение биоактивных соединений, поэтому исследователи заинтересованы в изучении химических соединений и их биологических свойств (Sforicin J.M., Bankova V., 2011).

Прополис эффективно используется в лечении многих заболеваний человека. По своей биологической активности он превосходит многие антибиотики, обладает хорошо выраженными антибактериальными и противовирусными свойствами, обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим и противоопухолевыми действиями (Watanabe M.A. et al., 2011).

В настоящее время в мире выпускаются множество препаратов с содержанием прополиса: прополис (Беларуссия), пропосол – АВ (Россия), пропосол – Н (Украина) (Кирилюк А.А., Петрище Т.Л., 2017), апингалин (Россия) (Улитин И.Б. и соавт., 2008), настойка прополиса (Россия), прополиин (Россия), пропосол (Россия) (Государственный реестр лекарственных средств РФ. Т. 2. — М., 2008), аква пропосил (Румыния), акнеол (Румыния), ампровизоль (Латвия), антисептическая пудра с прополисом (Румыния), антиэкзем ОРЛ II (Румыния), апифорт (Румыния), аэрозоль «Вайва» (Россия), глицеропротол ОРЛ II (Румыния), мелпросепт (Румыния), мипропол (Румыния), мипросепт (Румыния), олеум прополис (Румыния), офталмосепт (Румыния), продерм (Румыния), пропогелиант (Румыния), прополисное масло № 1 и №2 (Россия), пропросепт (Румыния), пропостамин (Румыния), пропофарингит ОРЛ I (Румыния), пропоцеум (Россия), сироп с прополисом (Румыния), спиртовой раствор прополиса 20%-ный (Россия), спрей с прополисом (Румыния), тополек (Россия), эй-пи-ви серебрянный (Россия), экстра-бефунгин (Россия) (Ю.Н. Николаева., 2011). Как видно из проведенного списка (это не полный перечень) основные производители препаратов на основе прополиса являются Румыния, Россия, Беларусь и Латвия. Однако в

настоящее время растет как ассортимент препаратов на основе продуктов пчеловодства, в том числе прополиса, так и количество стран производителей этого продукта. Также в последнее время начали создаваться биологически активные добавки на основе прополиса.

Использование прополиса в оториноларингологии. При лечении хронического тонзиллита водным экстрактом прополиса наравне с традиционным лечением было установлено, что в комплексном лечении хронического тонзиллита целесообразно применение водного экстракта прополиса. Прополис широко используется при заболеваниях ЛОР-органов (риниты, вызванные различными видами инфекций, аллергические риниты, синуситы) (Сержантов Г.И. и соавт., 2013).

Терапевтическая активность прополиса. Водный экстракт прополиса эффективен при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Эффективность водного экстракта прополиса доказана при лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Установлено, что водный экстракт прополиса эффективен при лечении заболеваний желудка, ассоциированных с *Helicobacter pylori* (Лазебник Л.Б. и соавт., 2012). По данным клинических испытаний проведенных на больных с ХНЗЛ применение препаратов прополиса (апингалин) повышает эффективность лечения, оказывая при этом выраженное иммуностимулирующего действия (Улитин И.Б. и соавт., 2008). Прополис активно увеличивает физическую работоспособность и способствует росту резервов коры надпочечников, а также оказывает стимулирующее действие на показатели физической работоспособности, нормализуя функциональное состояние надпочечников у спортсменов (Агаев Э.Н. и соавт., 2021). Прополис в виде тонких пластинок рекомендован при вертеброгенной патологии (Малахов В.А. и соавт., 2011). Установлено, что при лечении больных с хроническими заболеваниями легких прополис в сочетании с маточным молочком (апингалин) способствуют быстрому улучшению состояния и восстановлению иммунного статуса (Улитин И.Б. и соавт., 2008). На широкое использование лечебных пленок, в том числе с прополисом при

заболеваниях ЛОР-органов указывает Чесноков А.А., 2011 (Чесноков А.А., 2011).

Прополис в андрологии и гинекологии. При лечении хронического простатита и доброкачественной гипертрофии предстательной железы, свечи на основе прополиса существенно сокращают сроки лечения, способствуют более быстрому достижению терапевтического эффекта (Сержантов Г.И. и соавт., 2011).

Прополис в стоматологии. Стоматологический гидрогель, благодаря своей высокой осмотической активности, выраженному антимикробному эффекту и способности стимулировать репаративные процессы, широко используется в современной стоматологической практике (Маринина Т.В. и соавт., 2013). Ранее же для лечения различных заболеваний полости рта активно применяли 2–4% спиртовой экстракт прополиса. Он эффективно справлялся с поражениями мягких тканей, такими как афты, язвенные и абсцедирующие процессы на деснах, а также снижал повышенную чувствительность твердых тканей зубов. Кроме того, экстракт применяли при лечении альвеолитов и для местного обезболивания во время препарирования зубов. Его антигрибковые и антигеморрагические свойства также были высоко оценены специалистами (Грохольский А.П. и соавт., 1995). Утверждено, что образцы стоматологических гелей на основе облепихового масла, прополиса и нимесулида обладают пролонгированным действием и способствуют эффективному купированию воспалительного процесса в тканях, восстановлению трофики пародонта и сокращению сроков лечения более чем в 2 раза (Парманкулова Т.Н. и соавт., 2017).

1.2.2. Использование прополиса в древней медицине

Прополис в ульях используется как средство защиты. Прополис широко использовался в древние времена - 300 лет до нашей эры, как продукт обладающий различными биологическими свойствами (Tuan Nadrah Naim Tuan Ismail et al., 2018). Значение слово прополиса корнями уходит в греческий язык: pro – для или защита, polis – город, что означает защита города (Ramos 2007) и

представляет собой смесь смолистых веществ, которое собирают пчелы из различных растений (Elnakadyetal., 2014). Египтяны использовали прополис для бальзамирования тел погибших. Древними греческими лекарями и римлянами использовался прополис как антисептик и для рубцевания ран. Инки использовали прополис как антипиретик, а Греки и Римляне как дезинфицирующее и антисептическое средство, а также при лечении ран (Bankova V.S. etal.,2000). В Италии Страдивари использовал прополис для лакировки скрипки (Monti M. etal.,1983). В конце 19 века прополис начал широко внедряться как лечебное вещество благодаря своим лечебным свойствам и во второй мировой войне он был использован в некоторых советских клиниках для лечения туберкулеза (Vijay D.,2013). В Балканских государствах начали использовать прополис для лечения ожогов и ран, боли в горле и язвы желудка (Wollenweber E. etal.,1990).

В Лондонской фармакопее 17 века прополис приводится как официальное лекарство. До сегодняшнего дня продолжается использование прополиса как лекарство и как косметическое средство. Ученые начали интересоваться прополисом в течение последних десятилетий (José Maurício Sforcinaetal.,2011). Хотя лекари начали использовать прополис уже в течении несколько столетий, интерес ученых к прополису начал возрастать только в последние десятилетия. Первая научная публикация о химическом составе прополиса была издана в 1908 году (Helfenberg K. D.,1908).

1.2.3. Фармакологическая характеристика прополиса

Антибактериальная активность. Антимикробная активность прополиса обусловлена такими соединениями как флавоноиды и фенилпропаноиды (Кузьмина К.А.,1986; Браславский, В.Б. и соавт., 2009; Хисматуллина, Н.З., 2005; Браславский, В.Б.и соавт., 2006). В опытах ин витро было доказано, что сочетание янтарной и фумаровой кислот с прополисом способствует усилению бактерицидных и фунгицидных свойств (Шишкова Ю.С. и соавт.,2014). Результаты микробиологического изучения стоматологического гидрогеля на основе прополиса показали, что гель обладает выраженным антибактериальным

свойством в отношении всех исследуемых штаммов в эксперименте (широкий антимикробный спектр), полностью подавляет рост тест-культур кокковой и спорообразующей флоры и имеет бактерицидное действие, а в отношении кишечных бактерий (*Escherichiacoli* 675, *Salmonellagalinarum*) наблюдается бактериостатическое действие (Маринина Т.В. и соавт.,2013). Механизм антимикробного действия прополиса связан с его воздействием на мембраны клеток микробов (уменьшение мембранного потенциала) и уменьшение активности бактерий (Przybylek I. et al., 2019).

Антибактериальная активность прополиса сильнее проявляется на грам-положительных микробах, чем на грамотрицательных и это связано с тем, что грамотрицательные бактерии продуцируют ферменты, которые блокируют действие прополиса (Sforicin, J.M.,2016). Установлено, что показатель активности захвата радикалов и минимальная ингибирующая концентрация в прополисе связаны с антиоксидантным и антибактериальными свойствами (Bittencourt M.L.F.etal., 2015). Согласно данным Dantas Silva et al. (2017) красный прополис проявляет более высокую антимикробную активность и его этаноловая экстракция наиболее активна в отношении *Enterococcus* sp., *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella* sp.

Противовирусная активность. Независимо от места сбора прополиса и географических зон сбора, прополис оказывает выраженное противовирусное действие на многие вирусы, в том числе на вирус герпеса тип 1 и 2, аденовирус тип 2, вирус гриппа и вирус иммунодефицита человека (Miguel, M.G., 2013; 7.Silva-Carvalho, R., 2015; 12.Fokt, H.; 2010; 85.Schnitzler, P., 2010; 86.Nolkemper, J.S.,2010; Sartori, G.etal., 2011). Большинство флавоноидов показали противовирусную активность, особенно на такие вирусы, как HSV-1 (Хабриева, Р.У.,2005). Авторами этих работ было показано, что прополис эффективен против вирусов типа HSV-1 и 2, аденовирусов типа 2, вирус везикулярного стоматита, вирус полиомиелита типа 2. (Amoros, M., 1992). Противовирусное действие прополиса связывают с флавоноидным составом, и реализуется посредством повышения в крови количество IgG, IL-4, IFN-gamma

(Tao, Y. et al., 2014). Fernandes et al. (2015) доказано, что прополис оказывает позитивный эффект против собачьего коронавируса (95.Fernandes, M.H.V., 2016).

Противопаразитарная активность. Противопаразитарное действие прополиса доказана на паразитах *Leishmania* и *Trypanosoma* (Regueira-Neto, M.S. et al., 2018). Установлено, что спиртовой экстракт прополиса ингибирует рост *Trypanosoma cruzi* в концентрации от 75 до 300 мг/мл, а в общем все виды образцов прополиса подавляют рост этого паразита. Более того, согласно этим данным красный прополис показывает очень высокую антипаразитарную активность (ингибирует рост паразитов более чем на 98% в течение 24 часа).

Антиоксидантная активность. Антиоксидантная активность прополиса подтверждается множественными литературными данными. Полифенолы, как основной компонент состава прополиса, способствуют эффективной нейтрализации и удалению свободных радикалов. С другой стороны, флавоноиды прополиса являются сильными антиоксидантами, которые способны нейтрализовать свободные радикалы и этим способом предохраняют мембраны клеток от разрушения (Osés, S.M. et al., 2016; Cao et al., 2017; Braakhuis, A., 2019). При использовании различных методик доказано антиоксидантная активность разных компонентов прополиса (Trusheva, V. et al., 2006). В двух тестах проанализирована антиоксидантная активность прополиса и его компонентов: DPPH и ABTS, которые считаются адекватными методами для оценки оксидантной активности. При исследовании антиоксидантной активности этими методами установлено, что прополис обладает достаточно активным действием (Mot, A.C., 2013; Olczyk, P. et al., 2017).

Противоопухолевая активность. Прополис используется в химиотерапии опухолей, как дополнительное средство. Показана высокая активность прополиса при различных видах опухолевых заболеваний, включая опухоли мочевого пузыря, крови, грудной клетки и мозга, кишечника, головы, шеи, почек, печени и поджелудочной железы, простаты и рака кожи (Patel, S., 2016). Высокую противоопухолевую активность проявляет зеленый бразильский

прополис (Szliszka, E. et al., 2011). Противоопухолевая активность в основном реализуется через его иммуномодулирующую способность (Adela Ramona Moise et al., 2020). Данные литературы свидетельствуют о том, что прополис нуждается в дальнейшем исследовании, как эффективное противоопухолевое средство (Ehara Watanabe, M.A. et al., 2011).

Иммуномодулирующее действие. Иммуномодуляторное действие прополиса зависит от дозы, химического состава и основных компонентов (Adela Ramona Moise et al., 2020). Некоторые авторы рекомендуют использование иммуномодуляторного действия прополиса при лечении иммунных расстройств (Orsolich, N. et al., 2003). Подробное описание иммуномодулирующего действия прополиса приводится в работе Al-Hariri (2019), где описывается механизм потенциального действия иммуномодуляторных агентов прополиса (Al-Hariri M., 2019).

Противовоспалительное действие. Противовоспалительное действие прополиса доказано на многих работах (Bueno-Silva, B., 2013; Sartori, G. et al., 2011; Sobreira Corrêa, F.R. et al., 2017). Используя тест миграции нейтрофилов было доказано, что некоторые отдельные компоненты выделенные из прополиса ингибируют миграцию нейтрофилов в дозе 10 мг/кг массы тела (Bueno-Silva, B. et al., 2013). Специфические механизмы противовоспалительной активности прополиса разработаны в отдельных работах (Sobreira Corrêa, F.R. et al., 2017). Авторами установлено, что экстракты красного прополиса способствуют уменьшению зоны поврежденного участка у мышей, нейтрофильную инфильтрацию очага повреждения (через уменьшение нейтрофильного хемотаксиса) и синтез медиаторов воспаления. При испытании прополиса в течение 8 дней в дозе 100 мг/кг на вырезанную рану у мышей показало, что показатели выздоровления более выражены у групп мышей леченных прополисом (Sobreira Corrêa, F.R. et al., 2017). Установлен эффект прополиса на модели боли вызванной уксусной кислотой где повышается уровень болевой чувствительности, проявляет противовоспалительное действие на модели формалинового отека (Al-Hariri et al., 2020).

Противовоспалительное, ранозаживляющее и противоожоговое действие прополиса в комбинации со зверобоем и облепиховым маслом доказана на экспериментальных животных, на моделях инфицированных ран и термического ожога (Огай М.А. с соавт., 2010).

1.3. Физико-химические характеристики цинка

Цинк, кадмий и ртуть имеют общую электронную формулу и являются электронными аналогами, находятся во ПБ группе периодической системы Д.И.Менделеева (Кожина Л.Ф.,2018). Процесс комплексообразования увеличивает восстановительные свойства цинка, и поэтому цинк растворяется в растворах, содержащие частицы, которые выполняют функции лигандов (Кожина Л.Ф. 2018).

Количество микроэлементов, которые организмом усваиваются из пищи зависит в основном от метаболических потребностей и от состава пищи (Скальный А.В.,2018). Химические элементы, присутствующие в организме, разделяются на макро- и микроэлементы в зависимости от их концентрации и суточной потребности. Макроэлементы, к которым относятся натрий, калий, кальций, фосфор, магний, сера и хлор, содержатся в биологических жидкостях в количествах, превышающих 0,01%, и требуются организму в объеме более 100 мг в сутки. В противоположность им, микроэлементы, такие как железо, цинк, марганец, медь, кобальт, хром, молибден, селен, йод, фтор и другие, присутствуют в концентрациях менее 0,01% (а иногда и менее 0,00001%), а их ежедневная потребность составляет менее 100 мг [Лысиков Ю.А., 2009].

1.4. Использование цинка в медицине

В организме человека обнаружено около 80 химических элементов и достоверно установлена потребность в более чем 20 из них, которые считаются структурными компонентами различных тканей, а также факторам, регулируемыми биохимические и физиологические процессы в организме (Shatova O.P. et al., 2021).

Дисбаланс микроэлементов в организме—будь то их недостаток, избыток или неправильное соотношение—может приводить к развитию заболеваний,

известных как микроэлементозы. Эти состояния проявляются в виде патологий сердечно-сосудистой системы, возникновения сахарного диабета и ожирения, атеросклероза, онкологических заболеваний и других нарушений здоровья [Savarino, G. et al., 2021; Скальный А.В., 2001]. Особенно важны для организма эссенциальные микроэлементы, такие как марганец, железо, магний, медь, селен и цинк, которые выполняют жизненно необходимые метаболические и физиологические функции [Penuelas J., et al., 2019]. Несмотря на то что в человеческом теле обнаружено около 80 химических элементов, достоверно установлена потребность более чем в 20 из них, служащих структурными компонентами тканей и регулируемыми биохимические процессы. Наиболее часто встречается недостаточность микроэлементов, причиной которой являются низкие уровни этих элементов в окружающей среде и, следовательно, в потребляемых продуктах, несбалансированное питание (включая неправильную кулинарную обработку пищи), а также определенные методы лечения, снижающие их количество в организме [Игамбердиева П.К. и соавт., 2016]. В настоящее время металлокомплексные соединения на основе цинка из-за их высокой фармакологической активности начинают широко использовать в медицине. Создание органических комплексов с биометаллами (селен, медь, кобальт, железо, цинк и т.д.) основывается на том, что эти комплексы более эффективно могут включаться в метаболизм, и усиливают биологическое воздействие. Такие соединения биометаллов могут воспроизводить химическое поведение металло-ферментов в клетке организма путем участия в процессах транспорта электронов и редокс-реакций, характерные для ферментов (Шахмардонова С.А. и соавт., 2016). Известно, что цинк растений используемой в пище менее доступен организму человека (так как фитин растений и овощей связывает цинк в труднорастворимые соединения) и организм получает цинк из продуктов животного происхождения (усваивается около 40% цинка Кожина Л.Ф. и соавт., 2018). По этим данным суточная потребность цинка для человека составляет 20-25 мг, а при его недостатке

наблюдается замедление роста, проявление полового инфантилизма у подростков, нарушения вкуса и обоняния.

Цинк является незаменимым элементом, который необходимо ежедневно получать с пищей, поскольку он не синтезируется в организме. Он играет ключевую роль в различных биологических процессах: участвует в клеточном метаболизме, заживлении ран, синтезе нуклеиновых кислот и белков, а также в процессах деления клеток. Кроме того, цинк обеспечивает нормальный рост и развитие организма, поддерживает здоровое протекание беременности и важен для правильного функционирования органов чувств, таких как обоняние и вкус [Choi S. et al., 2020].

Несмотря на то что в организме человека содержится всего от 1,5 до 2,5 граммов цинка, этот минерал является вторым по распространённости после железа и присутствует практически во всех тканях [Shatova O.P. et al., 2021]. Примерно 90% цинка находится в скелетных мышцах и костях, а 95% связано с внутриклеточными белками и клеточными мембранами. Лишь около 0,1% общего количества цинка в организме обнаруживается в плазме крови [Shatova O.P. et al., 2021]. Наибольшее количество цинка содержится в таких органах, как поджелудочная железа, семеники, печень. Многие продукты питания богаты цинком, обеспечивая организм необходимым количеством этого микроэлемента. Суточная потребность в цинке составляет от 10 до 15 мг (Kondaiah P. et al., 2019). Среди основных источников цинка выделяются мясо и птица, такие морепродукты, как устрицы, крабы и тунец, а также говядина и индейка. Зерновые и бобовые культуры—включая пшеничные, рисовые и ржаные отруби, зерна злаков и сушёный горох—также богаты цинком. Кроме того, этот элемент присутствует в дрожжах, какао, корне имбиря, луке-порее, грибах и картофеле. Молочные продукты, такие как коровье молоко, сыр чеддер и швейцарский сыр, являются дополнительными источниками цинка (Shatova O.P. et al., 2021). Усвоение цинка в организме—процесс сложный и многогранный, во многом зависящий от взаимодействия с другими микроэлементами. Во время абсорбции в кишечнике между цинком и медью

устанавливается определенное соотношение. Цинк может снижать усвоение меди, поскольку медь и железо конкурируют с ним за связывание с металлотионеином—белком, который переносит цинк в клетки кишечника. Поэтому избыточное содержание меди в пище и воде способно привести к дефициту цинка в организме [Kondaiah P. et al., 2019]. В кровеносной системе цинк преимущественно связывается с альбумином, основным белком плазмы, хотя некоторая его часть присутствует и в свободной форме [Kambe T. et al., 2021]. Это связывание играет ключевую роль в транспортировке и распределении цинка по различным тканям и органам

Уникальное значение цинка как эссенциального микроэлемента и важное значение имидазола в организме определяют перспективность создания новых лекарственных средств (Parshina L.N. et al., 2011). В настоящее время известны свыше 300 металлоэнзимов (Brocard A. et al., 2011) и более 2000 различных факторов транскрипции белков, которые взаимодействуют с цинком (Prasad A.S., 2012). Цинк как металл участвует в работе более 300 ферментных систем (Шахмардонова С.А. и соавт., 2016) и входит в состав около 80 ферментов (Кожина Л.Ф., 2018), а по другим данным и даже более 100 ферментов (Choi S. et al., 2020) и является активным участником биохимических процессов (Brocard A. et al., 2011; Kelleher S.L. et al., 2011). Цинк участвует не только в биохимических процессах, но и в регуляции активности полимераз (ДНК и РНК), цитохромов дыхательной системы, каталазы, цитохромоксидазы, карбоангидразы и др. (Murray R. et al., 2012; Капилевич Л.В, 2016. -151 с.; Шахмардонова С.А. и соавт., 2016; Baynes J.W. et al., 2018; Michalczyk K. et al., 2020; Nelson D. et al., 2021). Карбоангидраза с молекулярной массой 30000 и содержащий один ион Zn^{2+} на молекулу широко распространен в растениях, животных и бактериях и играет очень важную роль в физиологической обеспеченности жизнеобеспечения (Хлебникова А.Н. и соавт., 2013). Цинк является первичным индуктором синтеза защитных белков клетки металлотионеинов (Прасад А.С., 2011; Кутяков В.А. и соавт., 2014). Цинк участвует в процессе образования и проявления активности гормонов многих

желез внутренней секреции (щитовидная железа, поджелудочная железа, тимус) (Шахмардонова С.А. и соавт., 2016). В эксперименте установлено, что цинк участвует в процессах связывания инсулина с гепатоцитами, а также синтезе липопротеинов (Russell S.T. et al., 2010). Установлено, что инсулин синтезируется в панкреатических бета-клетках островков Лангерганса в твердой форме в виде кристаллов цинк-инсулина (2:6) (Dodson, G. et al., 2011; Шейбак В.М., 2015.). Цинк важен для нормального функционирования тимуса и формирования клеточного иммунитета, продукции цитокинов и развитию резистентности к различным инфекциям (Бао В. et al., 2011), а также проявляет противовирусное действие, повышает сопротивляемость организма к различным инфекционным возбудителям (бактериям, простейшим, грибам) и тем самым понижает уровень заболеваемости (пневмонией, туберкулезом, корью и т.д.) (Волосовец А.П. и соавт., 2012). При воспалительных заболеваниях предстательной железы, при гиперплазии и злокачественном перерождении тканей предстательной железы наблюдается снижение уровня цинка (Винаров А.В., 2011; Саяпина И.Ю. и соавт., 2015). Особо важно содержание цинка наряду с другими элементами и витаминами в период беременности, коррекция микронутриентного состава способствует повышению комплаентности женщин и минимизирует вероятность возникновения осложнений беременности (Ших Е.В. и соавт., 2017).

Как видно тесная связь цинка с клетками и тканями организма, его ферментами и гормонами может сильно влиять на все виды обмена в организме, на кислительно-восстановительных процессов, а также функции и работы печени в первую очередь. В развивающихся странах более 4% заболеваемости и смертности детей раннего возраста связывают с недостатком цинка. Дефицит цинка в организме человека может привести к множеству серьезных заболеваний и нарушений здоровья. Среди них—тяжелые формы анемии, быстрое наступление усталости и вялости, выпадение волос (алопеция), ухудшение обоняния и вкуса, задержки в росте и развитии, гипогонадизм, различные кожные нарушения и аномалии, проблемы с заживлением ран,

хронические воспалительные процессы, заболевания печени, дисфункции головного мозга и нейропсихологические расстройства, такие как эмоциональная нестабильность, раздражительность и депрессия. Кроме того, дефицит цинка может вызвать бесплодие как у мужчин, так и у женщин, а также привести к другим видам заболеваний и нарушений [Matteo Cassandri et al., 2017].

Исследования показали, что у детей из бедных слоёв общества, страдающих от постоянного недоедания—особенно в регионах Индии, Африки, Южной Америки и Юго-Восточной Азии—приём цинка в качестве пищевой добавки сокращает продолжительность эпизодов инфекционной диареи. В этих научных работах дети получали от 4 до 40 мг цинка в форме ацетата и глюконата (сульфата) цинка, что свидетельствует о значительной пользе цинковой терапии в подобных условиях [Black R.E., 1998].

На основе цинка разрабатываются и выпускаются десятки препаратов для лечения и профилактики заболеваний у людей. Соединения цинка в лекарственных препаратах вошли в разделе «A12 Минеральные добавки», в которой выделена отдельная рубрика «A12CB Препараты цинка (цинк сульфат, цинк глюконат, цинко-протеинный комплекс», в разделе «A16 Прочие препараты для лечения заболеваний ЖКТ и нарушения обмена веществ», (цинк ацетат), в разделе «B05 Плазмозамещающие и перфузионные растворы» (цинк хлорид, цинка сульфат), в разделе «C05 Средства для лечения геморроя и анальных трещин для местного применения (цинка препараты), в разделе «D02 Дерматопротекторы» (препараты цинка), в разделе «D09 перевязочный материал (бинты с препаратами цинка), в разделе «D11 Прочие препараты для лечения заболеваний кожи» (пиритион цинк), в разделе «S01 Препараты для лечения заболеваний глаз (препараты содержащие цинк). Цинк присутствует во многих витаминно-минеральных комплексах, а также в некоторых БАДах (преимущественно в виде таблеток и капсул): Био-Макс (2 мг), компливит (2 мг), компливит триместрум 1-й триместр (6 мг), компливит триместрум 2-й

триместр (7 мг), компливит триместрум 3-й триместр (8 мг), селмевит (2 мг), Линекс® Иммуно (18,50 мг цинка оксида), В-МИН (А-LAB), витус М.

1.5. Стандартизация прополиса

Разработка вопросов стандартизации прополиса уделено много внимания, однако и из-за сложности состава продукта, разнообразие состава прополиса в зависимости от места сбора, сезона сбора и географических зон, разработок общих стандартов для данного продукта является сложной задачей. В Российской Федерации проведены попытки стандартизации прополиса на основе суммы содержания веществ входящих в состав продукта и основных природных источников сырья прополиса. Основным природным источником на территории России для прополиса являются такие растения как тополь, ива, сосна. Поэтому было установлено, что стандартизации сырья «Тополя почки «ангро»» (ФСП 42-03291682-01), препаратов тополя «Тополя настойка» (ФСП 42-03291747-01) и прополиса лучше всего проводить по содержанию суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в пересчете на государственный стандартный образец (ГСО) пиностробина (Р.№001373/01, ФС 42-0073-01) (Браславский Н.В. и соавт., 2013). По мере развития технологической возможности установлена перспективность использования метода ВЭЖХ для стандартизации почек тополя, прополиса и их препаратов (Браславский В.Б. и соавт., 2006; Браславский В.Б. и соавт., 2009). На основе современных методов качественного и количественного анализа (ТСХ, УФ-спектрофотометрии, электрофорез) разработаны новые подходы к стандартизации препаратов прополиса с использованием ГСО пиностробина (Браславский Н.В. и соавт., 2013).

Глава 2. Материал и методы исследования

2.1. Характеристика объекта исследования и методы экстракции

Исследуемый прополис был собран в течение 2018 по 2019 гг. на территории горных районов Республики Таджикистан: Тавилдаринский, Дарвазский и Ванджские районы. Места сбора условно были разделены на четыре зоны: Тавильдара, Сагирдашт, Дарваз и Вандж. Сбор производился летом в период с июля по сентябрь месяцы.

Сироп пропоцинка представляет собой смесь прополиса с сульфатом цинка и в 100 мл сиропа содержится: активное вещество – экстракт прополиса - 10 г (1:10) (экстрагент:80 % этиловый спирт) и 100 мг цинк сульфата, а также вспомогательные вещества: натрия бензоат, сироп сахарозы раствор 67%, лимонной кислоты моногидрат, вода очищенная. Плотность сиропа пропоцинка составляет 1,446, сухой остаток сиропа равняется 60-71%(таблица 2.1).

Таблица 2.1. Физико – химические свойства сиропа пропоцинка

Наименованные вещества	Цвет	Запах	Сухой остаток в %	Плотность
Водный настой прополиса	Жёлто-зелёный	Нежный ароматный	15-16	1,329
Спиртовой настой прополиса	Коричневый	Слегка ароматный	35-38	1,335
Сироп "Пропоцинк"	Бледно жёлтый	Слегка ароматный	60-71	1,446

2.2. Физико-химические характеристики объекта исследования

Физико – химические показатели были определены по методам указанной в ГФ 11. Измерение рН проводилось на приборе рН-метре производства METLER TOLEDO. Содержание микроэлементов определялись спектральным анализом на приборе ИСП-30.

2.3. Лабораторные животные и условия содержания

Эксперименты выполнены на половозрелых беспородных белых крысах, обоего пола массой 170-220 г и белых мышах массой 18-22 г. Животные

содержались в стандартных условиях вивария лаборатории фармакологии Института химии имени В.И.Никитина НАНТ, в соответствующих условиях согласно санитарным нормам, при свободном доступе к пище и воде и при естественной смене светово-темного режима, комнатной температуре ($22\text{°C}\pm 3\text{°C}$), относительной влажности ($65\pm 5\%$) (Западнюк И.П. и соавт., 1983). Крысы размещались в клетках со стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. Животные получали стандартную диету в соответствии с существующими нормами по питанию лабораторных животных, а для питья использовали автопоилки без ограничения количества воды (Белозерцевой И.В. и соавт., 2017). Клетки и подстил менялись один раз в неделю (ГОСТ 33215 – 2014; ГОСТ 33216 – 2014). Обращение с животными на всех этапах (содержания животных, моделирования патологических процессов, выведения из эксперимента) соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических экспериментах с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для проведения экспериментальной работы или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

2.4. Методы исследования острой токсичности

Определение острой токсичности пропоцинка проводилось согласно требованиям методических указаний по изучению общетоксического действия фармакологических веществ (Миронова А.Н. и соавт., 2012). Изучение острой токсичности пропоцинка проведено на белых мышах самках и самцах массой тела $22,5\pm 2,5$ г, белых крысах самках и самцах массой тела $200,5\pm 10$ г, по 6 голов в каждой группе, всего 60 мышей и 48 крыс. Величину LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄ изучали методом Кербера и методом пробит-анализа с использованием программы Excel и IBM SPSS Version 24. Достоверность различий несвязанных выборочных данных определяли методом непараметрической статистики (U-критерий Манна-Уинти).

2.5. Методы исследования раздражающего действия

Исследование проводилось на половозрелых молодых кроликах обоего пола с массой тела 2000 г до 2400 г. Акклиматизация и уход за животными осуществлялось в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 10993-2-2009. Раздражающее действие пропоцинка изучали методами накожных аппликаций и конъюнктивальной пробой (Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств/А.Н.Миронов. –М.:Гриф и К, 2012. -944 с; ГОСТ Р ИСО 10993.10-99).

2.6. Методы исследования хронической токсичности

Исследование безвредности пропоцинка в условиях хронического (шестимесячного) эксперимента проводили на 72 белых беспородных крысах самцах. Животные были распределены на четыре серии по 2 группы. Первую группу забывали на 150 сутки (для сбора материалов необходимые для проведения гемато- и биохимических анализов) и вторая группа, которая забивалась на 180 сутки (в основном собирались данные для морфологических и гистологических анализов). Эксперимент состоял из 8 серии животных, которые были условно распределены на две группы. Каждая группа состояла из четырех серии: 1 – контрольные, которым вводили воду очищенную внутривентриально в объеме 2 мл/кг массы тела; 2- белые крысы, получавшие внутривентриально пропоцинк в дозе 0,5 мл/кг массы тела; 3 – животные, получавшие аналогичным образом пропоцинк в дозе 1 мл/кг массы тела и 4 – серия составила животных, которые по той же схеме получали пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела. Токсичность пропоцинка оценивали согласно «Методическим рекомендациям по изучению общетоксического действия лекарственных средств» (Миронова А.Н. и соавт., 2012). Пропоцинк вводили животным в различных дозах (в дозе 0,5 мл/кг массы, которая составила 1/30 часть от LD50; в дозе 1 мл кг/массы тела, которая составила 1/20 часть от LD50 и в дозе 2 мл кг/массы тела, которая составила 1/10 часть от LD50). Такие манипуляции, как взвешивание, забора крови (гематология и биохимия) и эвтаназия проводили в утреннее время (от 7 до 8 часов) с животными натощак.

Доступ к пище был ограничен в течение как минимум 10 часов, без ограничения доступа к воде.

Эвтаназия животных осуществлялась согласно схеме эксперимента в соответствии с Директивой 2010/63/UE Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных опытах от 22.09.2010 г. Животные были эвтаназированы путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза.

2.6.1. Влияние пропоинка при многократном внутрижелудочном введении на биоэлектрическую активность миокарда и частоту дыхательных движений у белых крыс

Влияние пропоинка в разных дозах (0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела) на биоэлектрическую активность миокарда у белых крыс изучалось на наркотизированных (барбамил 50 мг/кг массы тела внутрибрюшинно) животных, с целью устранения стрессовых моментов и стойкого положения белых крыс на специальном столике. ЭКГ показания снимались во втором стандартном отведении на электрокардиографе ЭК4Т-02. Запись проводилась со скоростью ленты 50 мм/минута во втором стандартном отведении.

2.6.2. Влияние пропоинка при многократном внутрижелудочном введении на гематологические и биохимические показатели на 150 сутки эксперимента у белых крыс

Количество элементов периферической крови оценивали по количеству эритроцитов и лейкоцитов (подсчет в камере Горяева) лейкоцитарной формуле (в окрашенных мазках крови), количество тромбоцитов (в окрашенных мазках крови), гемоглобина (гемиглобин-цианидным способом) и цветового показателя (Меньшиков В.В. и соавт., 1987).

2.6.3. Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после внутрижелудочного введения пропоинка в различных дозах на 150 сутки эксперимента.

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе StatFax 3030 (USA) с использованием реагентов фирмы BioSystems

в сыворотке крови (пробирки со следом гемолиза для исследования не использовались). Кровь собирали путем декапитации животных в чистую пластмассовую пробирку. Для получения сыворотки, кровь центрифугировали 15 мин. при 3000 об/мин. Полученная сыворотка переносилась во вторичные пробирки, которые затем использовались для проведения анализов.

2.6.4. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на морфологическую структуру некоторых внутренних органов на 180 сутки эксперимента у белых крыс

Патоморфологическое исследование включало в себя некропсию, макроскопическое исследование внутренних органов, взвешивание органов и гистологическое исследование внутренних органов. После эвтаназии животные подвергались тщательному исследованию на предмет внешних патологических признаков. Затем проводилось исследование грудной и брюшной полости и макро- и микроскопическое исследование внутренних органов. Для проведения гистологического исследования внутренних органов изъятых во время некропсии органы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов (Гущин Я.А. и соавт., 2014) после чего по общепринятой методике заливали в парафин (Мужикян А.А. и соавт., 2014). После этого срезы толщиной 5-7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа при увеличении 50, 100, 200 и 400.

2.7. Формалиновый, гистаминовый, серотониновый модели и модели «ватных шариков»

Противовоспалительное действие пропоцинка изучали на различных моделях воспалительного процесса и все фазы воспалительной реакции (альтерация, экссудация и пролиферация) согласно требованиям и методам по изучению противовоспалительных свойств веществ (Миронова А.Н. и др., 2012; Хабриева Р.У. и др., 2005).

Для изучения антифлогистического действия пропоцинка на начало воспалительного процесса использовали модель острого асептического

воспаления (соответствующей альтеративной фазе процесса) путем вызова альтерации тканей подкожным введением 0,5 мл 9% уксусной кислоты с одновременным введением раствора декстрана в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно и изучение интенсивности процессов регенерации по динамике заживления кожно-мышечного дефекта. Объем пораженной ткани измеряли планиметрически на 7,14 и 21 сутки после введения повреждающего фактора. Животным опытных серий вводили пропоцинк в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела внутривентриально за 1 час до подкожной инъекции уксусной кислоты и далее один раз в сутки внутривентриально до 21 дня эксперимента. Эффект оценивался по степени уменьшения повреждения кожных покровов. В качестве сравнения использовали диклофенак, который также вводили внутривентриально в дозе 10 мг/кг массы тела по той же схеме.

Экссудативную фазу воспалительного процесса вызывали методом субплантарного введения флогогенных агентов (гистамин, серотонин, формалин). Формалин вводили субплантарно в объеме 0,1 мл 2% раствора, гистамин в объеме 0,1 мл 0,1% раствора, серотонин в объеме 0,1 мл 0,01%. Критерием оценки служил объем воспаленной лапки после введения флогогенных агентов через определенный промежуток времени. Измерение объема воспаленной лапки животных проводили онкометрическим методом. Пропоцинк вводили внутривентриально за 1 час до опыта однократно (модель гистаминовая, серотониновая) и в течение 3 дней (формалиновая модель) в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела внутривентриально.

Хроническое пролиферативное воспаление моделировали путем имплантации под кожу спины животных простерилизованных ватных шариков общей массой 10 мг. Участок кожи предварительно очищали от шерсти размером 2,5x2,5 см. Животным под барбитуровым наркозом с соблюдением асептики проводился разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 1 см вдоль позвоночника по верхне-наружной поверхности спины и тупым путем формировали полость для простерилизованных ватных шариков. На кожу после имплантации наложили несколько швов и обработали рану раствором йода.

Через 8 дней от начала имплантации ватных шариков животных умерщвляли (парами этилового эфира в эксикаторе) и извлекали ватных шариков с образовавшейся гранулемой вокруг них. Шарики после извлечения взвешивали на торсионных весах и затем высушивали до постоянной массы при 60°C и повторно взвешивали на тех же весах.

2.8. Статистические методы исследования

Методом вариационной статистики произведена обработка числовые данные, которые представляли в виде средней арифметической – M (*Mean*) и стандартного отклонения - σ (*StandartDeviation*). Для оценки достоверности различий несвязанных выборочных данных использовали метод непараметрической статистики Манна-Уинти, для определения достоверности нормально распределенных данных – t критерий Стьюдента. Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с помощью пакета программ Excel 2010 и IBM SPSS Statistics Version 23.

Глава 3. Технология получения сиропа прополиса и методы экстракции

Прополис был собран в период с 2018 по 2019 гг. на территории горных районов Республики Таджикистан: Тавилдаринский, Дарвазский и Ванджские районы. Места сбора условно были разделены на четыре участка: Тавильдара, Сагирдашт, Дарваз и Вандж (в дальнейшем участки обозначаются как участок 1, участок 2, участок 3 и участок 4 соответственно). После сбора прополиса очищали его от механических примесей. В каждом участке были отобраны по 7 ульев для проведения изучения физико-химических и органолептических свойств прополиса. Нами для проведения исследования физико-химических свойств прополиса из пасек на 4 участках, были отобраны по 12 образцов с каждого участка и объем выборки составил 84 образца. Все данные по каждому ульям объединены и обработаны. По внешнему виду прополис, собранный на пасеках представлял собой аморфную массу в виде комков и крошек, структура была плотная и неоднородная. По этим показателям между образцами прополиса собранных на всех участках, особых отличий не наблюдалось. Цвет прополиса зависел от районов сбора. Прополис, собранный с 1 участка имел преимущественно темно-зеленый цвет, а все остальные образцы (3-4 участки) имели бурый цвет с зеленоватым оттенком. Образцы прополиса имели горький (участок 1) и слегка жгучий (2,3,4 участки) вкус. Структура всех образцов были плотными и на разломе неоднородными. Консистенция образцов зависела от температуры окружающей среды. При температуре выше 20 и 25 градусов по Цельсию они становились мягкими и вязкими, а при низких температурах (ниже 15-10 градусов) они становились твердыми. Установлено, что показатели окисляемости прополиса и йодное число определяют биологическую активность продукта и характеризуют количество ненасыщенных соединений в нем. Как видно из данных приведенных в таблице 3.1, наименьший показатель ($16,50 \pm 0,38$) был у прополиса собранного на территории участка 1, а показатели окисляемости прополиса на территории 2-4 участков, был равен $17,33 \pm 0,28$ до $19,25 \pm 0,48$. Показатели окисляемости различных образцов

собранных на территории разных районов существенно не отличаются. Также нет существенной разницы по показателям йодного числа среди различных образцов прополиса. По полученным данным, йодное число составило от $77,83 \pm 0,38$ (1 участок) до $86,83 \pm 2,66$ (участок 3). Содержание воска в различных образцах прополиса составило от $23,33 \pm 0,64$ до $20,83 \pm 0,88$, а содержание механических примесей колеблется от $17,17 \pm 0,74$ до $19,08 \pm 0,96$. Все показатели исследованных образцов соответствуют нормативным актам, разработанным в ГОСТ 28886-90 (таблице 3.1.).

Таблица 3.1.-Физико-химические и органолептические свойства прополиса

Зона добычи сырья	Среднее количество на ульи в г	Окисляемость, с	Йодное число, %	Массовая доля воска, %	Массовая доля механических примесей, %
Участок 1	125	$16,50 \pm 0,38$	$77,83 \pm 1,15$	$23,33 \pm 0,64$	$18,75 \pm 0,80$
Участок 2	139	$17,33 \pm 0,28$	$85,25 \pm 2,09$	$21,00 \pm 0,88$	$18,00 \pm 0,75$
Участок 3	110	$19,25 \pm 0,48$	$86,83 \pm 2,66$	$20,83 \pm 0,88$	$19,08 \pm 0,96$
Участок 4	115	$18,83 \pm 0,51$	$84,08 \pm 2,37$	$21,08 \pm 0,69$	$17,17 \pm 0,74$

Содержание микроэлементов в прополисе из различных участках сбора приведены в таблица 3.2. Результаты приведенных в таблице данных показывают, что имеется небольшая разница по некоторым элементам, между образцами собранных на территории разных районов. Во всех образцах содержание меди и цинка преобладают над другими, а содержание железа и марганца относительно мало по сравнению с другими элементами(таблица 3.2.).

Таблица 3.2. - Содержание микроэлементов в прополисе полученных на различных участках

Микроэлемент	Единица измерения	Участок 1	Участок 2	Участок 3	Участок 4
Медь	мкг%	44,0-55,0	30,0-46,0	40,0-60,0	24,0-40,0
Марганец	мкг%	0,8-2,0	0,6-1,5	0,2-0,8	1,0-2,0
Цинк	мкг%	60,0-118,0	52,0-103,0	43,0-70,0	32,0-90,0
Никель	мкг%	9,0-28,0	8,0-35,0	6,0-42,0	15,0-123,0
Хром	мкг%	6,0-72,0	8,0-77,0	9,0-89,0	11,0-105,0
Железа	мг%	4,0-7,0	7,0-15,0	13,0-87,0	9,0-98,0
Титан	мкг%	следы-15,0	3,0-25,0	2,0-66,0	6,0-112,0

3.1. Подготовка сырья прополиса и правила приемки

Образцы прополиса были собраны на 4 участках, минимальный объем каждого образца составлял 25 г с каждого улья. Собранный из участка прополис был маркирован и составлялась партия. Каждая партия состояла из 12 образцов общим весом 300 г. Для физико-химического анализа образец отбирали из разных участков общего веса. Образцы отбирали точечными пробами массой не более 5 г, по 5-7 проб для одной объединенной пробы. Все пробы тщательно перемещивали и затем объединенная проба подвергалась физико-химическим исследованиям. Общая масса объединенной пробы ограничивалась 25 г. Измельчение пробы проводили при температуре ниже 10°C, после охлаждения в морозильной камере холодильника. Внешний вид проб прополиса оценивался при естественном освещении визуально. Запах и вкус оценивали органолептически.

Пробоподготовка. Прополис охлаждали при температуре ниже 10°C и перед проведением проб измельчали до однородной массы. Все измерения проводили в 3-х повторностях и результаты объединились и принимались усредненные числа.

Определение показателей окисляемости: проводили по ГОСТ 28886-2019. Прополис. Технические условия, стр.6-8 (Параграф 6.6). Определение показателя окисляемости (подлинности).

Определение массовой доли механических примесей и массовой доли воска проводили по ГОСТ 28886-2019. Прополис. Технические условия, стр.8-9 (Параграф 6.7.Определение массовой доли механических примесей и массовой доли воска).

Определение йодного числа: проводили по ГОСТ 28886-2019. Прополис. Технические условия, стр.13-14 (Параграф 8.10.Определение йодного числа).

3.2.Характеристика готового продукта

Прополис для приготовления средства «Пропоцинка-Х» по органолептическим и физико-химическим показателям должен соответствовать требованиям указанных в таблице 3.3.

Таблица 3.3.Физико-химические показатели сырья прополиса

Показатель	Требуемая характеристика
Внешний вид	Комки и крошки, мелко нарезанные
Цвет	Темно-зеленый или бурый цвет с зеленоватым или коричневыми оттенками
Запах	Характерный смолистый
Консистенция	Плотная и на изломе неоднородная
Структура	При температуре выше 20°С вязкая, а при ниже 15°С твердая
Вкус	Горький или жгучий
Окисляемость, с, не более	22,0
Йодное число, %, не менее	35,0
Массовая доля воска, %, не более	25,0
Массовая доля механических примесей, %, не более	20,0

3.3. Получение сиропа «Пропоцинк-Х»

Чтобы максимально сохранить жизненно важные биологически активные вещества и обеспечить физиологическую активность экстракта, водную вытяжку прополиса проводили по особой методике. В термос объёмом 0,5 литра заливали 400 мл кипячёной серебряной воды при температуре около 60 °С. К ней добавляли 100 граммов мелко измельчённого прополиса и тщательно перемешивали. Смесь настаивали в течение 24 часов, что способствовало эффективной экстракции активных компонентов.

После настаивания раствор охлаждали до тех пор, пока на поверхности водной фазы не образовывался тонкий слой восковых примесей. Эти примеси аккуратно удаляли, а оставшееся содержимое фильтровали через плотный бумажный или беззольный стеклянный фильтр. В результате получали прозрачный раствор жёлто-зелёного цвета с нежным смолистым ароматом (1). Данный экстракт использовали в качестве сырья для приготовления сиропа, в состав которого также входили этиловый спирт и сульфат цинк.

Для приготовления *спиртового раствора* прополиса сначала охлаждают и очищают твёрдую фазу прополиса. В тёмный стеклянный сосуд наливают 800 мл 80%-ного этилового спирта и добавляют 200 г мелко измельчённого прополиса. Смесь тщательно перемешивают для равномерного распределения компонентов. Использование тёмного стекла позволяет защитить раствор от воздействия света, сохраняя его полезные свойства. Затем сосуд оставляют на 2–3 дня при температуре 20–25 °С, периодически помешивая содержимое деревянной или стеклянной лопаточкой, чтобы усилить экстракцию активных веществ. По окончании настаивания раствор фильтруют через плотный бумажный фильтр в чистый и сухой тёмный стеклянный сосуд, удаляя оставшиеся твёрдые частицы. Полученный спиртовой раствор прополиса представляет собой прозрачную жидкость тёмно-бурого цвета с зеленоватым оттенком и характерным смолистым ароматом (таблица 3.4).

Таблица 3.4. Физико-химические характеристики сиропа «Пропоцинк-Х»

Вещества	Цвет	Запах	Сухой остаток в %	Плотность
Водный настой прополиса	Жёлто-зелёный	Нежный ароматный	15-16	1,3286
Спиртовой настой прополиса	Коричневый	Слегка ароматный	35-38	1,3345
Сироп "Пропоцинк"	Бледно жёлтый	Слегка ароматный	60-71	1,4461

Сухой остаток, как в водном, так и в спиртовом растворе прополиса определяли рефрактометрическим методом.

Сироп «Пропоцинк-Х» (далее именуемый «пропоцинк») был изготовлен следующим образом. В 200 мл раствора на водной основе, содержащего прополис с добавлением серебра (1), вводили 1 г сульфата цинка и 100 г сахара. Смесь затем подвергалась мед-ленному нагреванию на водяной бане до тех пор, пока сахар полностью не растворялся, при этом её регулярно перемешивали стеклянной палочкой. К охлаждённому сиропу добавляли 50 мл спиртового экстракта прополиса [2], что приводило к образованию продукта с умеренной вязкостью и светло-жёлтым оттенком [3]. Для определения содержания сухого остатка в водных и спиртовых растворах, а также непосредственно в сиропе, использовали рефрактометрический метод, обеспечивающий высокую точность измерений. Плотность полученного вещества измеряли с помощью пикнометра.

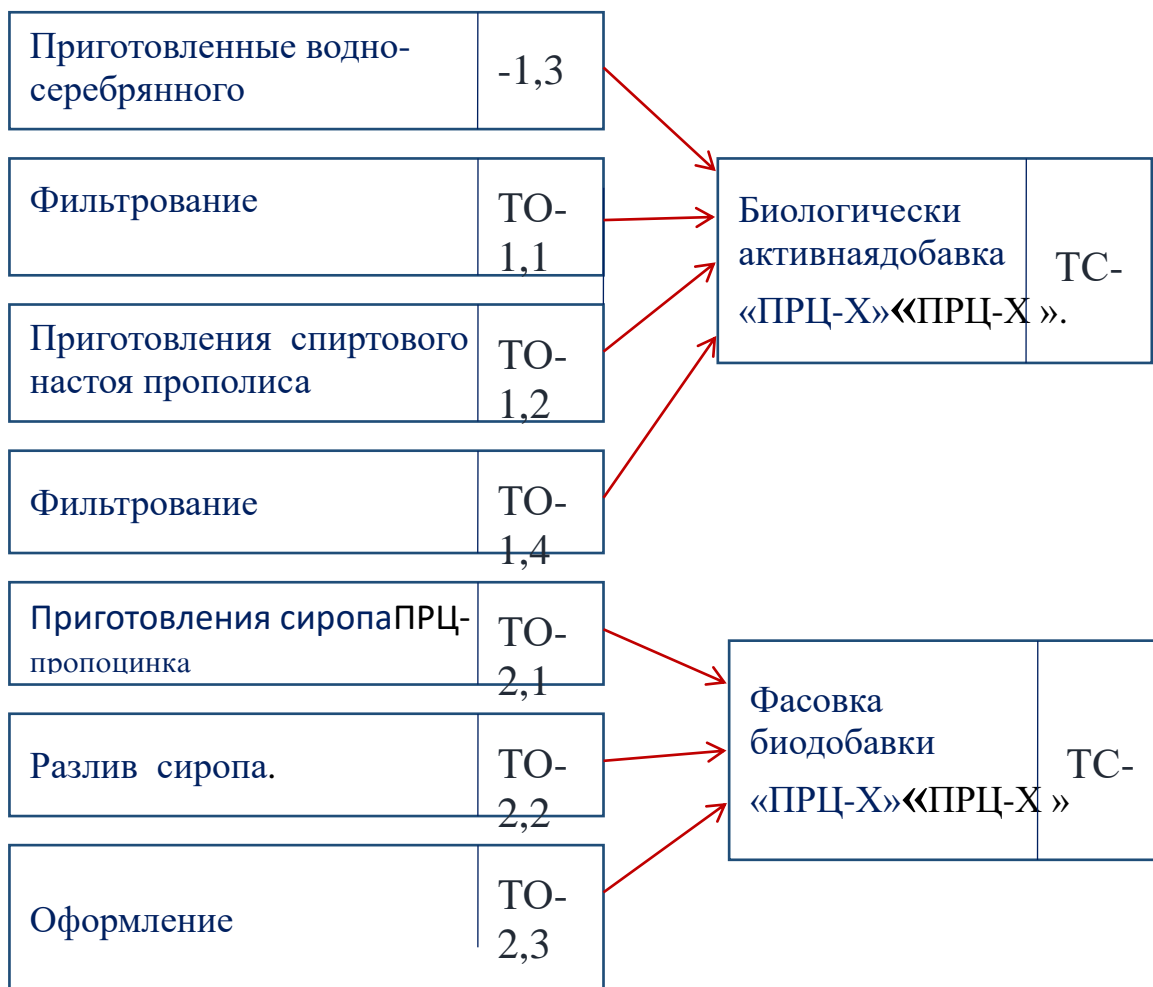


Рисунок 3.1. - Технологическая лабораторная схема получения сиропа «Пропоцинк-Х» (пропоцинк)

Глава 4. Определение острой и хронической токсичности, местно-раздражающего действия, алергизирующей активности, параметров доза-эффект

4.1. Результаты острой токсичности

Для исследования острой токсичности были проведены эксперименты с участием здоровых, половозрелых белых крыс и мышей обоего пола, принадлежащих к беспородным линиям. Эти животные отличались чистым и гладким шерстным покровом, а также нормальной двигательной активностью. Средняя масса тела составляла $200,5 \pm 10$ г для крыс и $22,5 \pm 2,5$ г для мышей. Эксперименты проводились в условиях вивария лаборатории фармакологии Института химии имени В.И. Никитина НАНТ, где строго соблюдались санитарные нормы. Животные содержались при комнатной температуре ($22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$), с искусственным освещением, обеспечивающим чередование 12 часов света и 12 часов темноты, и имели свободный доступ к пище и воде. Такие условия содержания позволяли минимизировать внешние факторы, способные повлиять на здоровье и поведение животных в ходе исследования. Животные получали стандартную диету в соответствии с существующими нормами по питанию лабораторных животных, а для питья использовали автопоилки без ограничения количества воды. Перед началом введения "Пропоцинка" животные прошли 14-дневный период карантина. Для идентификации они были промаркированы и содержались в индивидуальных клетках в течение последующих семи дней до начала дозирования. Однократно, один раз в сутки, препарат вводили внутривентрикулярно с помощью медицинского шприца, оснащённого атравматичным металлическим зондом с оливой на конце. Максимальный объем пропоцинка, который был введен за один раз, не превышал $2,5 \text{ мл}/100 \text{ г}$ массы тела для белых крыс и $0,5 \text{ мл}/20 \text{ г}$ массы тела белых мышей. Наряду с животными опытных серий, получавших пропоцинк, в аналогичных условиях содержали животных контрольной группы. В первые сутки после внутривентрикулярного введения пропоцинка животные наблюдались ежечасно. В течение 14 дней проводились ежедневные

визуальные наблюдения за общим состоянием животных, чтобы выявить возможные признаки токсического действия испытуемого вещества. Оценка включала широкий спектр показателей. Особое внимание уделялось характеру двигательной активности: отмечались случаи угнетения поведения и двигательных реакций (седация), активации поведения (стимуляция), а также изменения в интенсивности движений (гипо- или гиперактивность). Проверяли наличие неврологических нарушений, таких как координационные расстройства, судороги и тремор. Важной частью исследования было изучение рефлекторных реакций. Оценивали реакцию на болевые и световые раздражители, а также на тактильные (прикосновение к коже) и звуковые стимулы (постукивание по клетке). Проводились тесты на корнеальный рефлекс (прикосновение ватной палочкой к главному яблоку), ушной рефлекс (прикосновение ватной палочкой к ушной раковине) и рефлекс Штрауба, который определяется визуально по специфическому изгибу и напряжению приподнятого хвоста. Помимо этого, фиксировали потребление корма и воды, изменения массы тела и другие показатели, которые могли свидетельствовать о токсическом воздействии. Дополнительно учитывались частота и глубина дыхательных движений, а также ритм сердечных сокращений, так как эти физиологические параметры могут указывать на наличие токсического действия испытуемого вещества.

Изучение острой токсичности пропоцинка проведено на белых мышках самках и самцах массой тела $22,5 \pm 2,5$ г, белых крысах самках и самцах массой тела $200,5 \pm 10$ г, по 6 голов в каждой группе, всего 60 мышей и 48 крыс. Пропоцинк вводили опытным сериям внутрижелудочно и всем контрольным животным вводили аналогичный объем воды. При однократном внутрижелудочном введении пропоцинка мышам и крысам в дозах 5 и 7,5 мл/кг массы тела пропоцинк не вызывает гибель животных (таблица 4.1). В первые часы после введения пропоцинка наблюдалось незначительное беспокойство животных, снижалось потребление корма, что вероятно было связано со стрессом (введением пропоцинка). Такая же реакция наблюдалась при введении

контрольным животным воды. При пероральном введении более высоких доз отмечалось гибель животных, количество вымерших животных нарастало по мере увеличению дозы пропоцинка. Гибель животных после введения препарата отмечалось в основном первые 3 суток. У выживших животных в течение последующих 1-2 суток наблюдалось небольшое торможение и раздражение, уменьшение двигательной активности. В последующие сутки до 14 дня не было выявлено изменений в поведенческих реакциях, двигательной активности, потребления корма и воды. Летальный исход у мышей и крыс после внутрижелудочного введения пропоцинка наблюдалось после введения в дозе 10 мл/кг массы тела. Животные начали гибнуть через 4-10 часов после введения пропоцинка, у животных в течение этого времени наблюдалось выраженное возбуждение, проявлявшиеся быстрыми движениями в клетке, отмечалось повышенная возбудимость и реакция на внешние раздражители. В дальнейшем возбуждение переходило в угнетение двигательной активности, дыхание становилось частым и поверхностным, животные падали, принимали боковое положение и погибали в течение 1-2 часов (таблица 4.1).

Таблица 4.1. Результаты исследования острой токсичности при внутрижелудочном введении пропоцинка у белых мышей и белых крыс

№ серия	Мыши				№ п/п	Крысы			
	Доза мл/кг	Количество животных в группе	Гибель животных	% смертности		Доза мл/кг	Количество животных в группе	Гибель животных	% смертности
1	5	10	0	0	1	5	10	0	0
2	7,5	10	0	0	2	7,5	10	0	0
3	10	10	1	10	3	10	10	1	10
4	12,5	10	1	10	4	12,5	10	2	20
5	15	10	1	10	5	15	10	5	50
6	17,5	10	4	40	6	17,5	10	7	70
7	20	10	5	50	7	20	10	7	70
8	22,5	10	5	50	8	22,5	10	10	100
9	25	10	8	80					
10	27,7	10	10	100					

В экспериментах на мышах при однократном внутрижелудочном введении пропоцинка в дозах от 2,5 до 27,7 мл/кг массы тела было установлено, что летальные исходы у животных начинают наблюдаться при дозе 10 мл/кг. Для определения величин LD₁₆, LD₅₀ и LD₈₄ использовали методы Кербера и пробит-анализа, обрабатывая полученные данные с помощью программ Excel и IBM SPSS Version 24. Применение этих статистических методов позволило точно оценить токсичность препарата и определить дозы, при которых гибнет определённый процент подопытных животных (таблица 4.2.).

Таблица 4.2.-Показатели смертности и пробит анализа при внутрижелудочном введении белым мышам Пропоцинк в дозах от 5мл/кг массы тела до 27,5мл/кг массы тела

Доза мл/кг	Log ₁₀	Процент смертности	Пробит анализ
5	0,70	0	0,00
7,5	0,88	0	0,00
10	1,00	10	3,72
12,5	1,10	10	3,72
15	1,18	10	3,72
17,5	1,24	40	4,75
20	1,30	50	5,00
22,5	1,35	50	5,00
25	1,40	80	5,84
27,7	1,44	100	8,09

Токсичность пропоцинка была исследована путём введения различных доз препарата мышам и наблюдения за уровнем смертности. При максимальной дозе 27,7 мл/кг все животные погибли, что свидетельствует о высокой летальности на этом уровне концентрации. При дозе 25 мл/кг смертность составила 80% среди подопытных животных. Средние дозы 20 и 22,5 мл/кг массы тела привели к гибели 50% мышей. Более низкие дозы—10, 12,5 и 15 мл/кг—вызывали смерть у 10% особей.

Эти результаты позволили определить, что среднесмертельная доза (LD₅₀) пропоцинка при внутрижелудочном введении мышам составляет от 18,33 мл/кг массы тела (рассчитано методом пробит-анализа в программе Excel) до 19,89 мл/кг (определено по методу Кербера). Значения LD₁₆, LD₅₀ и LD₈₄, вычисленные различными методами, представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3. - Показатели LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄ при внутрижелудочном введении пропоцинк белым мышам вычисленные методами Кербера и пробит-анализа (на базе программы Excel и программе IBM SPSS Statistics Version 23) в остром эксперименте

Метод Кербера		Пробит - анализ в программе Excel		Пробит - анализ в программе IBM SPSS Statistics Version 23				Разница показателей LD ₅₀ между статистическими методами в мл/кг и %					
Показатели	Значение	Показатели	Значение	Показатели	Значение	Нижняя граница	Верхняя граница	Между методом Кербера и Excel		Между методом Кербера и IBM SPSS		Между Excel и IBM SPSS	
	мл/кг							мл/кг	мл/кг	мл/кг	мл/кг	%	мл/кг
LD ₁₆	11,93	LD ₁₆	14,46	LD ₁₆	13,15	10,13	15,09	2,53	21	1,22	10	1,31	9
LD ₅₀	19,89	LD ₅₀	18,33	LD ₅₀	19,49	17,38	21,99	2,58	8	3,74	2	-1,16	6
LD ₈₄	27,47	LD ₈₄	23,24	LD ₈₄	26,71	23,32	34,56	-4,23	15	-0,76	3	-3,47	15

Как видно из данных таблицы 4.3, показатели токсичности, полученные с использованием разных методов анализа, не имеют существенных различий между собой.

Показатели токсичности в диапазоне от LD_{0,010} до LD₉₉, рассчитанные с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics Version 23, представлены в таблице 4.4. Значения LD₁₆ и LD₈₄ в этой таблице отсутствуют, так как они были определены методом интерполяции данных. При

сравнении результатов, полученных методом Кербера и пробит-анализом в программе IBM SPSS Statistics Version 23, обнаруживается минимальная разница всего в 2%. В то же время, различия между методом Кербера и пробит-анализом, проведённым в программе Excel, составляют 8%. Сопоставление двух пробит-анализов, выполненных в Excel и IBM SPSS Statistics Version 23, показывает расхождение в 6%.

Таблица 4.4.-Показатели LD0,010 - LD99 при внутрижелудочном введение пропоинка белым мышам вычисленные методом пробит-анализа на базе программы IBM SPSS Statistics Version 23 в остром эксперименте

Confidence Limits						
Таблица 4.4.	Probability	95% Confidence Limits for Conc			95% Confidence Limits for log(Conc) ^a	
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound
Probit	0,1	12,607	9,49	14,583	2,534	2,25
	0,15	13,696	10,779	15,593	2,617	2,378
	0,2	14,628	11,901	16,48	2,683	2,477
	0,45	18,632	16,548	20,906	2,925	2,806
	0,5	19,44	17,379	21,992	2,967	2,855
	0,55	20,283	18,196	23,205	3,01	2,901
	0,75	24,417	21,645	30,139	3,195	3,075
	0,8	25,835	22,694	32,817	3,252	3,122
	0,85	27,593	23,94	36,304	3,318	3,176
	0,9	29,977	25,557	41,3	3,4	3,241

В проведённых экспериментах с однократным внутрижелудочным введением Пропоинка белым мышам и крысам было установлено, что при дозах от 5 до 7,5 мл/кг массы тела летальных исходов не наблюдается. Однако при повышении дозы свыше 7,5 мл/кг у крыс отмечалась гибель животных: при дозе 12,5 мл/кг смертность составила 20%, при 15 мл/кг—50%, а при 17,5 и

20 мл/кг—70%. Полная гибель животных (100%) наблюдалась при введении дозы 22,5 мл/кг массы тела.

Для определения величин LD_{16} , LD_{50} и LD_{84} использовали метод Кербера и пробит-анализ, применяя программы Excel и IBM SPSS Statistics Version 23. В ходе исследований выяснилось, что при введении низких доз (5 и 7,5 мл/кг массы тела) признаки интоксикации отсутствовали, хотя у животных наблюдалось кратковременное беспокойство. Однако при применении средних и высоких доз отмечалась гибель части подопытных особей. Смертность составляла 10% при дозах выше 10 мл/кг массы тела. У животных получавших более высокие дозы пропоцинка в каждой серии процент смертности нарастал и составил 20% при введении пропоцинка в дозе 12,5 мл/кг, 50% при введении пропоцинка в дозе 15 мл/кг массы и 100% при введении пропоцинка в дозе 22,5 мл/кг массы тела (таблица 4.5).

Таблица 4.5.-Показатели смертности и пробит анализа при введении белым крысам пропоцинк в дозах от 500 мл/кг массы тела до 6000 мл/кг массы тела

Доза мг/кг	Log10	Процент смертности	Пробит анализ
5	0,70	0	0
7,5	0,88	0	0
10	1,00	0	0
12,5	1,10	20	4,16
15	1,18	50	5,00
17,5	1,24	70	5,52
20	1,30	70	5,52
22,5	1,35	100	8,09

В ходе исследования острой токсичности пропоцинка при его введении выбранным способом были определены среднесмертельные дозы (LD_{50}) с использованием различных методов расчёта. Значения LD_{50} , полученные

методом Кербера, а также пробит-анализом с применением программ Excel и IBM SPSS Statistics Version 23, составили 15,75 мл/кг, 16,12 мл/кг и 15,29 мл/кг массы тела соответственно. Эти результаты представлены в таблице 4.6 и показывают высокую согласованность между различными методами вычисления. Небольшие различия в значениях LD₅₀ свидетельствуют о надёжности и воспроизводимости применённых методик, что важно для оценки токсичности препарата.

Таблица 4.6. - Показатели LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄ при внутрижелудочном введении пропоцинок белым крысам вычисленные методами Кербера и пробит-анализа (на базе программы Excel и программе IBM SPSS Statistics Version 23) в остром эксперименте

Метод Кербера		Пробит - анализ в программе Excel		Пробит - анализ в программе IBM SPSS Statistics Version 23				Разница показателей LD ₅₀ между статистическими методами в мл/кг и %					
		Показатели	Значение мл/кг	Показатели	Значение мл/кг	Нижняя граница мл/кг	Верхняя граница мл/кг	Между методом Кербера и Excel		Между методом Кербера и IBM SPSS		Между Excel и IBM SPSS	
мл/кг	%							мл/кг	%	мл/кг	%		
LD16	9,75	LD16	13,49	LD16	11,65	9,28	13,28	3,74	38	1,90	19	1,84	14
LD50	15,75	LD50	16,12	LD50	15,29	13,60	17,08	0,37	-2	0,46	3	0,83	5
LD84	21,08	LD84	19,25	LD84	21,20	18,65	27,36	-1,83	9	0,12	1	-1,95	-10

Показатели острой токсичности у белых крыс, охватывающие диапазон от LD_{0,010} до LD₉₉, были рассчитаны с помощью статистической программы IBM SPSS Statistics Version 23 и представлены в таблице 4.7. Значения LD₁₆ и

LD₈₄ в этой таблице отсутствуют, поскольку они были определены методом интерполяции данных на основе проведённых экспериментов.

Таблица 4.7. Показатели LD_{0,010} - LD₉₉ при внутрижелудочном введении пропоцинк белым крысам вычисленные методом пробит-анализа на базе программы IBM SPSS Statistics Version 23 в остром эксперименте

Confidence Limits						
Таблица 4.7.	Probability	95% Confidence Limits for Conc			95% Confidence Limits for log(Conc)a	
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound
Probit	0,10	10,662	7,938	12,286	2,367	2,072
	0,15	11,424	8,873	12,977	2,436	2,183
	0,20	12,068	9,678	13,575	2,491	2,27
	0,45	14,762	13	16,412	2,692	2,565
	0,50	15,293	13,6	17,082	2,727	2,61
	0,55	15,844	14,19	17,826	2,763	2,653
	0,75	18,491	16,612	22,081	2,917	2,81
	0,80	19,381	17,316	23,721	2,964	2,852
	0,85	20,474	18,134	25,846	3,019	2,898
	0,90	21,936	19,172	28,861	3,088	2,953

По результатам изучения острой токсичности пропоцинка при внутрижелудочном введении на двух видах лабораторных животных обоего пола определены переносимые, токсичные и летальные дозы пропоцинка.

Результаты экспериментов на белых мышах позволили определить значение LD₅₀ при введении пропоцинка внутрь желудка. Используя метод Кербера, был получен показатель 19,89 мл/кг массы тела. Пробит-анализ, проведённый с помощью программы Excel, показал результат 18,33 мл/кг, тогда

как анализ, выполненный в IBM SPSS Statistics Version 23, дал значение 19,49 мл/кг (с доверительным интервалом от 17,38 до 21,99 мл/кг).

Для показателя LD16, то наблюдались следующие различия: при расчёте методом Кербера было получено значение 11,93 мл/кг массы тела, тогда как пробит-анализ на базе Excel дал результат 14,46 мл/кг. При использовании IBM SPSS Statistics Version 23 показатель составил 13,15 мл/кг (с диапазоном от 10,13 до 15,09 мл/кг)

В ходе экспериментов с белыми крысами при внутрижелудочном введении пропоцинка были получены значения LD₅₀ и LD₈₄, которые варьировались в зависимости от применяемого метода анализа. Значение LD₅₀, определённое методом Кербера, составило 15,75 мл/кг массы тела. Пробит-анализ, проведённый с использованием программы Excel, показал результат 16,12 мл/кг. В то же время, пробит-анализ в программе IBM SPSS Statistics Version 23 определил LD₅₀ как 15,29 мл/кг, находящийся в диапазоне от 13,60 до 17,08 мл/кг массы тела.

Что касается LD₈₄, то и здесь наблюдались различия в зависимости от метода. Метод Кербера дал значение 27,47 мл/кг, тогда как пробит-анализ на базе Excel определил его как 23,24 мл/кг. Пробит-анализ в IBM SPSS Statistics Version 23 показал значение LD₈₄ равным 26,71 мл/кг с интервалом от 23,32 до 34,56 мл/кг.

Результаты для LD16 показали следующее распределение. При расчётах методом Кербера было получено значение 9,75 мл/кг массы тела. Пробит-анализ, выполненный с использованием программы Excel, дал более высокое значение — 13,49 мл/кг. При применении пробит-анализа через программу IBM SPSS Statistics Version 23 был установлен показатель 11,65 мл/кг, с доверительным интервалом, варьирующимся от 9,28 до 13,28 мл/кг.

Что касается LD84, то по методу Кербера оно составило 21,08 мл/кг массы тела, результат пробит-анализа в программе Excel составил 19,25 мл/кг, а по данным программы IBM SPSS Statistics Version 23 значение LD84 достигло 21,20 мл/кг, с диапазоном от 18,65 до 27,36 мл/кг массы тела.+

В результате проведенных экспериментальных исследований были определены токсикологические свойства пропоцинка при внутрижелудочном введении для белых мышей и крыс. Установлено, что при однократном пероральном введении препарата белым мышам усредненный показатель ЛД₅₀ на основе трех методов определения существенно не отличаются и составил 19,24 мл/кг для белых мышей и 15,72 мл/кг для белых крыс.

4.2. Результаты хронической токсичности

Результаты изучения хронической токсичности пропоцинка в 6 месячном опыте

Исследование безвредности пропоцинка в условиях хронического (шестимесячного) эксперимента проводили на 72 белых беспородных крысах самцах. Животные были распределены на четыре серии по 2 группы. Первую группу забивали на 150 сутки (для сбора материалов необходимые для проведения гемато- и биохимических анализов) и вторая группа, которая забивалась на 180 сутки (в основном собирались данные для морфологических и гистологических анализов). В исследовании участвовали восемь серий животных, которые были условно разделены на две основные группы. Каждая группа включала по четыре серии:

- Контрольная серия: животным внутрижелудочно вводили очищенную воду в объёме 2 мл/кг массы тела.
- Вторая серия: белые крысы получали пропоцинк внутрижелудочно в дозе 0,5 мл/кг массы тела.
- Третья серия: животные аналогично получали пропоцинк, но в дозе 1 мл/кг массы тела.
- Четвёртая серия: по той же схеме крысам вводили пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела.

Таким образом, каждая группа состояла из контрольной серии и трёх экспериментальных серий с различными дозами пропоцинка, что позволило сравнить эффекты препарата в зависимости от дозировки (таблица 4.8).

Таблица 4.8.-Характеристика исследуемых групп животных в хроническом эксперименте

№ п/п	Количество белых крыс	Исследуемый объект	Доза, мл/кг массы тела	День эвтаназии
1	6	Вода очищенная	2	150 - й день эксперимента
2	10	Пропоцинк	0,5	
3	10	Пропоцинк	1	
4	10	Пропоцинк	2	
5	6	Вода очищенная	0	180 - й день эксперимента
6	10	Пропоцинк	0,5	
7	10	Пропоцинк	1	
8	10	Пропоцинк	2	

Исследование было направлено на оценку потенциальных вредных эффектов пропоцинка при длительном внутрижелудочном введении белым беспородным самцам крыс. Для наблюдения дозозависимых эффектов препарат вводили в дозах 0,5 мл/кг (около 1/30 от LD₅₀), 1 мл/кг (примерно 1/20 от LD₅₀) и 2 мл/кг массы тела (приблизительно 1/10 от LD₅₀). Такой подход позволил определить наиболее чувствительные к действию пропоцинка органы и системы, а также исследовать возможность обратимости вызванных повреждений в хроническом эксперименте (таблица 4.9).

Основными задачами данного исследования были:

- Оценка потенциального повреждающего действия пропоцинка при его длительном внутрижелудочном введении.
- Идентификация органов и тканей, наиболее чувствительных к воздействию препарата.
- Изучение обратимости вызванных повреждений для оценки возможности восстановления функций после прекращения воздействия

Таблица 4.9.-Дозы пропоцинка в хроническом эксперименте с учетом показателей острой токсичности

Дозы при длительном внутрижелудочном введении	Дозы токсичности установленные в остром эксперименте и выбор доз для хронической токсичности на основе ЛД (указано в частях)								
	Крысы	Мыши	Приближенная пропорциональная часть от LD50	Крысы	Мыши	Приближенная пропорциональная часть от LD50	Крысы	Мыши	Приближенная пропорциональная часть от LD50
	LD50 (усредненная)			LD16 (усредненная)			LD84 (усредненная)		
	16	19	13	12	21	26			
0,5 мл/кг массы	31	38	30 часть	26	23	20 часть	41	52	50 часть
1 мл/кг массы	16	19	20 часть	13	12	10 часть	21	26	20 часть
2 мл/кг массы	8	10	10 часть	7	6	5 часть	10	13	10 часть

Материалы и методы исследования. Для исследования влияния пропоцинка на организм самцов белых беспородных крыс препарат вводили внутрижелудочно в трёх различных дозировках: 0,5 мг/кг, 1 мл/кг и 2 мл/кг массы тела.

Общее количество животных участвовавшие в эксперименте составили 72 белых крыс самцов. Дизайн эксперимента представлен в таблице 4.10.

На всем протяжении опыта проводили наблюдения за изменением внешнего вида, шерстяного покрова, поведения животных, массы тела и функции органов и систем, а в конце опыта после умерщвления крыс, внутренние органы подвергались гисто-морфологическим исследованиям. Токсическое влияние пропоцинка определяли по признакам и срокам развития клинических проявлений интоксикации, путем анализа массы тела и

внутренних органов, гематологических и биохимических показателей сыворотки крови, показателей мочи и электрокардиографии, оценка других органов, анализа потребления животными корма и воды, а также патоморфологические исследования внутренних органов.

Таблица 4.10.-Схема проведения манипуляций и исследований в хроническом опыте (пропоцинк внутривентриально в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела).

№ п/п	№ серии животных	Количество животных	Проведенные манипуляции и исследования	Дни исследования
1	Все	72	Введение пропоцинка внутривентриально	Ежедневно, один раз в сутки с 1 по 179 сутки
2	Все	72	Оценка потребления корма и воды	ежемесячно до 150 сутки
3	Все	72	Взвешивание	Вначале опыта и ежемесячно до 150 сутки
4	Все	72	ЭКГ, частота дыхательный движений	150 сутки
5	1,2,3,4	6+30	Анализ периферической крови	150 сутки
6	1,2,3,4	6+30	Биохимия крови	150 сутки
7	1,2,3,4	6+30	Барбамилова проба	150 сутки
8	5,6,7,8	6+30	Исследование массы внутренних органов	180 сутки
9	5,6,7,8	6+30	Морфологические исследования внутренних органов	180 сутки

Такие манипуляции, как взвешивание, забор крови (гематология и биохимия) и эвтаназия проводили в утреннее время (от 7 до 8 часов) с животными натощак. Доступ к пище был ограничен в течение как минимум 10 часов, без ограничения доступа к воде.

Эвтаназия осуществлялась согласно схеме эксперимента в соответствии с Директивой 2010/63/UE Европейского Парламента и Совета Европейского

Союза по охране животных, используемых в научных опытах от 22.09.2010 г. Животные были эвтаназированы путем их помещения в камеру, содержащую пары эфира для наркоза.

4.2.1. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на динамику потребления корма и воды у белых крыс

При пероральном введении пропоцинка подопытным крысам и введение очищенной воды контрольным животным в течение первых 10-15 минут наблюдалась заметная тревожность в поведении крыс. Нами не отмечено различий между животными контрольной и опытных серий по характеру стула, шерстяного покрова и двигательной активности на всем протяжении эксперимента.

На фоне внутрижелудочного введения пропоцинка в указанных дозах в течение 150 дней опыта, гибель животных отсутствовала. В дальнейшем этот показатель не учитывался, так как часть животных забивали на 150 сутки проведения опыта.

Анализ потребления корма и воды крысами показал, что при введении пропоцинка на протяжении всего опыта не оказало влияния на потребление корма и воды животными. Оценка индивидуального поведения животных показала, что длительное внутрижелудочное введение пропоцинка не оказало негативного влияния на локомоторную, исследовательскую активность и физиологическое состояние животных.

4.2.2. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на массу тела белых крыс

Массу тела белых крыс измеряли в начале опыта до введения пропоцинка и затем через каждый 30 дней до 180 суток у животных с 5 по 8 серии, так как этих животных умерщвляли на 180 сутки эксперимента а внутренние органы после аутопсии подвергались морфологическим исследованиям. В таблице 4.11. представлены данные по динамике массы тела, абсолютный прирост живой массы, среднесуточный прирост живой массы и относительный прирост массы (по методу Броди) у экспериментальных животных.

Таблица 4.11.-Прирост массы тела белых крыс (5-8 серии) в течение проведение эксперимента и внутрижелудочного введения пропоцинка в различных дозах

Серия опытов и дозы в мл/кг массы тела	Начала	30 день	60 день	90 сутки	120 сутки	150 сутки	180 сутки
Контроль	190,4±3, 6	249,6±3, 3	320,7± 7,4	352,8± 11,2	378,2 ±14,2	394,5± 13,1	411,3 ±14,2
Абсолютный прирост живой массы,г	0	59	71	32	25	16	17
Среднесуточный прирост живой массы, г	0	2	2	1	1	1	1
Относительный прирост массы тела по методу Броди,%	0	27	51	60	66	70	73
Пропоцинк 0,5 мл/кг	190,0±4, 1	253,9±4, 5	328,3± 10,1	362,0± 13,1	391,7 ±15,6	409,5± 16,1	425,6 ±16,2
Абсолютный прирост живой массы,г	0	64	74	34	30	18	16
Среднесуточный прирост живой массы, г	0	2	2	1	1	1	1
Относительный прирост массы тела по методу Броди,%	0	29	53	62	69	73	77
Пропоцинк 1 мл/кг	200,7±5, 1	255,2±6, 2	325,3± 11,2	353,8± 15,1	378,3 ±14,2	392,7± 18,1	405,9 ±17,5
Абсолютный прирост живой массы,г	0	55	70	29	25	14	13
Среднесуточный прирост живой массы, г	0	2	2	1	1	0	0
Относительный прирост массы тела по методу Броди,%	0	24	47	55	61	65	68
Пропоцинк 2 мл/кг	180,9±3, 1	230,8±7, 3	299,5± 9,8	326,4± 10,9	348,5 ±16,3	361,9± 15,5	373,6 ±16,9
Абсолютный прирост живой массы,г	0	50	69	27	22	13	12
Среднесуточный прирост живой массы, г	0	2	2	1	1	0	0
Относительный прирост массы тела по методу Броди,%	0	24	49	57	63	67	70

Данные полученные в эксперименте соответствовали закону нормального распределения. Масса тела белых крыс разных серий до начала эксперимента существенно не отличались друг от друга. У белых крыс разной серии статистически значимо отличались от исходной в сторону увеличения, начиная с 30 сутки. Значимых отличий от контрольной группы и испытуемыми сериями не выявлено.

4.2.3. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на биоэлектрическую активность миокарда и частоту дыхательных движений у белых крыс

Исследование влияния пропоцинка на биоэлектрическую активность миокарда у белых крыс проводилось с использованием различных дозиро-вок препарата (0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела). Эксперименты проводились на животных, находящихся под наркозом (внутрибрюшное введение барбитала в дозе 50 мг/кг массы тела). Снятие ЭКГ осуществлялось во втором стандартном отведении с использованием электрокардиографа ЭК4Т-02. Запись данных велась при скорости протяжки ленты 50 мм/мин. После получения показателей ЭКГ проводился детальный анализ зубцов и интервалов: интервал от начала зубца Р до начала зубца Q позволял оценить время прохождения возбуждения от предсердий до желудочков; сегмент от начала до конца зубца Р отражал продолжительность деполяризации и распространения возбуждения по предсердиям. Также оценивались интервалы PQ, QT, ST, комплекс QRS, а также зубцы Р и Т (таблица 4.12).

Интервал QT указывает на продолжительность электрической систолы желудочков. Измеряется от начала комплекса QRS до окончания зубца Т. В нашем опыте это интервал у всех серий животных существенно не отличался друг от друга. У животных контрольной группы интервал QT составил 223 ± 13 мсек, тогда как у крыс, получавших пропоцинк в дозе 0,5 мл/кг, он увеличился до 229 ± 12 мсек. В группах, которым вводили дозы 1 и 2 мл/кг, значения составили 221 ± 10 мсек и 219 ± 11 мсек, соответственно.

Таблица 4.12.-Результаты влияния пропоцинка в разных дозах при внутрижелудочном введении на показатели работы сердца белых крыс на 150 сутки исследования ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели ЭКГ	Единица измерения	Вода очищенная	Пропоцинк 0,5 мл/кг	Пропоцинк 1 мл/кг	Пропоцинк 2 мл/кг
		2 мл/кг массы тела	0,5 мл/кг массы тела	1 мл/кг массы тела	2 мл/кг массы тела
ЧСС	число/мин	325.50 ± 5.86	333.67 ± 6.19	327.50 ± 9.29	326.17 ± 5.64
RR	мсек	250.83 ± 14.93	260.17 ± 5.78	252 ± 4.24	253.67 ± 7.74
P	мсек	27.83 ± 2.48	31.83 ± 2.32	33.17 ± 2.93	33.33 ± 3.33
PQ	мсек	50.5 ± 3.94	53.67 ± 4.55	52.67 ± 3.44	51.33 ± 3.39
QRS	мсек	32.67 ± 2.73	34 ± 2.61	30 ± 3.16	29.67 ± 3.14
QT	мсек	226.83 ± 2.48	229.67 ± 4.55	227.83 ± 4.22	222.33 ± 3.27
ST	мВ	0.04 ± 0	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
QT/RR	мсек	0.91 ± 0.05	0.88 ± 0.04	0.9 ± 0.03	0.88 ± 0.03

Нами для выявления характера изменений интервала QT был использован метод Базетта. Данный метод позволяет характеризовать этот интервал. У контрольной серии крыс данный показатель равнялось 0,83 мсек, у животных опытных серий она равнялась 0,85 мсек (0,5 мл/кг); 0,89 мсек (1 мл/кг) и 0,87 сек (2 мл/кг). Данный показатель свидетельствует об отсутствии различий между опытными и контрольными сериями животных и вообще по анализам электрокардиографических показателей животных опытных серий и контрольной серий крыс не обнаружено различий и патологических изменений зубцов и интервалов ЭКГ. Данные соответствовали закону нормального распределения. При длительном введении пропоцинка, продолжавшемся 150 дней, влияние на основные параметры электрокардиограммы и частоту

сердечных сокра-щений не было обнаружено в экспериментальных группах (ANOVA, $p > 0,05$).

Таблица 4.13.-Результаты статистической обработки показателей кардиограммы у белых крыс в программе MS Excel с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки)

Модули разности между средними	Расчет	MSR	корень (MSR/n)	Коэффициент перерасчета	крит.точка	Наличие отличий
ЧСС						
x1-x2	8,17	47,658	2,818	2,90	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	2,00			0,71	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,67			0,24	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	6,17			2,19	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	1,33			0,47	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	1,33			0,47	3,10	Отличие не имеется
RR						
x1-x2	9,33	83,550	3,732	2,50	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	1,17			0,31	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	2,83			0,76	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	8,17			2,19	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	1,67			0,45	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	1,67			0,45	3,10	Отличие не имеется
P						
x1-x2	4,00	7,792	1,140	3,51	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	5,33			4,68	3,10	Отличие имеется*
x1-x4	5,50			4,83	3,10	Отличие имеется*
x2-x3	1,33			1,17	3,10	Отличие не имеется

Продолжение таблицы 4.13

$ x_2-x_4 $	0,17			0,15	3,10	Отличие не имеется
$ x_3-x_4 $	0,17			0,15	3,10	Отличие не имеется
PQ						
$ x_1-x_2 $	3,17	14,875	1,575	2,01	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_3 $	2,17			1,38	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_4 $	0,83			0,53	3,10	Отличие не имеется
$ x_2-x_3 $	1,00			0,64	3,10	Отличие не имеется
$ x_2-x_4 $	1,33			0,85	3,10	Отличие не имеется
$ x_3-x_4 $	1,33			0,85	3,10	Отличие не имеется
QRS						
$ x_1-x_2 $	1,33	8,533	1,193	1,12	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_3 $	2,67			2,24	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_4 $	3,00			2,52	3,10	Отличие не имеется
$ x_2-x_3 $	4,00			3,35	3,10	Отличие имеется*
$ x_2-x_4 $	0,33			0,28	3,10	Отличие не имеется
$ x_3-x_4 $	0,33			0,28	3,10	Отличие не имеется
QT						
$ x_1-x_2 $	2,83	13,817	1,517	1,87	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_3 $	1,00			0,66	3,10	Отличие не имеется
$ x_1-x_4 $	4,50			2,97	3,10	Отличие не имеется
$ x_2-x_3 $	1,83			1,21	3,10	Отличие не имеется
$ x_2-x_4 $	5,50			3,62	3,10	Отличие имеется*
$ x_3-x_4 $	5,50			3,62	3,10	Отличие имеется*

Продолжение таблицы 4.13

ST						
x1-x2	0,0003	0,000	0,002	0,16	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,0018			0,88	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,0047			2,24	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,0015			0,72	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,0028			1,36	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,0028			1,36	3,10	Отличие не имеется
QT/RT						
x1-x2	0,023	0,001	0,015	1,57	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,002			0,16	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,030			1,99	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,021			1,41	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,027			1,83	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,027			1,83	3,10	Отличие не имеется

Примечания: x1- первая серия животных; x2- первая серия животных; x3- первая серия животных; x4- первая серия животных; * - различия статистически не значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки $p < 0,05$

Таким образом, введение пропоцинка в различных дозах не оказывало достоверного влияния на показатели электрокардиограммы и число сердечных сокращений у животных в эксперименте.

Влияние пропоцинка на частоту дыхательных движений изучали на 150 сутки опыта и результаты анализа показывают, что ЧДД контрольных животных существенно не отличаются от покателя животных опытных серий (таблица 4.14.).

Таблица 4.14.-Результаты влияние пропоцинка в разных дозах при внутрижелудочном введении на ЧДД у белых крыс на 150 сутки исследования ($M \pm m$, $n=6$)

Серия опытов и дозы в мл/кг массы тела	ЧДД у белых крыс через		
	1 месяц	3 месяц	6 месяц
Вода очищенная 2 мл/кг	128 ± 4,52	132,33 ± 4,76	132,5 ± 5,75
Пропоцинк 0,5 мл/кг	130,33 ± 5,75	131,33 ± 6,38	133 ± 5,87
Пропоцинк 1 мл/кг	129,33 ± 7,00	131,17 ± 5,78	131,83 ± 4,45
Пропоцинк 2 мл/кг	130 ± 5,90	133,17 ± 5,91	132,83 ± 4,31

Таблица 4.15.-Результаты статистической обработки показателей ЧДД у белых крыс в программе MSExcel с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки)

Модули разности между средними	Расчет	MSR	корень (MSR/n)	Коэффициент перерасчета	крит. точка	Наличие отличий
1 месяц						
x1-x2	2,33	34,33	2,39	0,98	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	1,33			0,56	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	2,00			0,84	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	1,00			0,42	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,33			0,14	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,67			0,28	3,10	Отличие не имеется
3 месяц						
x1-x2	1,00	32,92	2,34	0,43	3,10	Отличие не имеется

Продолжение таблицы 4.15

x1-x3	1,17			0,50	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,83			0,36	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,17			0,07	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	1,83			0,78	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	2,00			0,85	3,10	Отличие не имеется
x1-x2	0,50	26,46	2,10	0,24	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,67			0,32	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,33			0,16	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	1,17			0,56	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,17			0,08	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	1,00			0,48	3,10	Отличие не имеется

Примечание: - x1- первая серия животных; x2- первая серия животных; x3- первая серия животных; x4- первая серия животных; * - различия статистически не значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки $p < 0,05$

Данные при обработке соответствовали закону нормального распределения. При статистическом анализе полученных данных с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) нами не было установлено достоверного влияния пропоцинка на частоту дыхательных движений у экспериментальных животных на все сроки исследования. Все показатели находились в пределах физиологической нормы, которая по данным разных авторов составляет от 80 до 150 (Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств // ФГБУ «НЦЭМСП», под редакцией Миронова А.Н., том 1, 2012, 942 с), от

4.2.4. Влияние пропоцинка при многократном внутрижелудочном введении на гематологические и биохимические показатели на 150 сутки эксперимента у белых крыс

В таблице 4.16. представлены гематологические показатели белых крыс на 150 сутки эксперимента.

Таблица 4.16.-Гематологические показатели белых крыс после внутрижелудочного введения пропоцинк в различных дозах на 150 сутки эксперимента

Показатели	Единицы измерения	Вода очищенная 2 мл/кг массы тела	Пропоцинк 0,5 мл/кг массы тела	Пропоцинк 1 мл/кг массы тела	Пропоцинк 2 мл/кг массы тела
Лейкоциты	10 ⁹ /л	12,33±0,16	12,73±0,08	12,33±0,41	12,33±0,23
Лимфоциты	%	71,28±0,17	68,69±0,28	65,80±0,72	69,00±0,76
Эозинофилы	%	5,20±0,14	4,76±0,27	4,63±0,31	5,32±0,22
Гранулоциты	%	21,60±0,47	20,98±0,70	21,72±0,46	22,53±0,10
Эритроциты	10 ¹² /л	7,62±0,27	7,48±0,20	7,52±0,16	7,73±0,16
Гемоглобин	г/л	158,00±2,10	157,83±1,72	157,17±3,31	155,00±5,10
Тромбоциты	10 ⁹ /л	894,00±29,11	823,33±54,04	836,83±38,93	848,50±33,54

Примечание - *- различия статистически значимы по сравнению с контролем, тест Тьюки, $p < 0,05$.

Первичные данные соответствовали закону нормального распределения признаков. Статистическая обработка данных с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки) на 150 сутки эксперимента выявил статистически значимые различия по приведенным показателям (таблица 4.17). Однако выявленное различие в показателях клеток крови в указанных сериях составили не выходили за пределах физиологических норм и не имели клинически значимое значение. Оценка гематологических показателей периферической крови белых крыс показала, что тестируемое вещество пропоцинк не оказывает отрицательное влияние на показателей периферической крови. Были оценены такие показатели периферической крови у белых крыс, как лейкоциты, лимфоциты, эозинофилы, гранулоциты, эритроциты, тромбоциты и гемоглобин.

Таким образом, пропоцинк при многократном внутрижелудочном введении в различных дозах не оказывал влияния на показатели крови у белых крыс в эксперименте.

Таблица 4.17.-Результаты статистической обработки показателей крови белых крыс в программе MSeXcel с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки)

Модули разности между средними значениями	Расчет t	MSR	корень (MSR/n)	Коэффициент т перерасчета	Критическая точка	Наличие отличий между средними значениями групп
Лейкоцитов						
x1-x2	0,40	0,062	0,102	3,92	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	1,02			9,97	3,10	Отличие имеется*
x1-x4	0,33			3,27	3,10	Отличие имеется*
x2-x3	1,42			13,89	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	0,07			0,65	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	1,35			13,24	3,10	Отличие имеется*
Лимфоциты						
x1-x2	2,60	0,304	0,225	11,53	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	5,48			24,34	3,10	Отличие имеется*
x1-x4	2,28			10,14	3,10	Отличие имеется*
x2-x3	2,89			12,81	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	0,31			1,39	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	3,20			14,21	3,10	Отличие имеется*
Эозинофилов						
x1-x2	0,43	0,059	0,0990	4,38	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	0,57			5,73	3,10	Отличие имеется*
x1-x4	0,12			1,18	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,13			1,35	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,55			5,56	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,68			6,91	3,10	Отличие имеется*
Гранулоцитов						
x1-x2	0,62	0,235	0,1977	3,12	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	0,12			0,59	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,93			4,72	3,10	Отличие имеется*
x2-x3	0,73			3,71	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	1,55			7,84	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,82			4,13	3,10	Отличие имеется*

Продолжение таблицы 4.17

Эритроцитов						
x1-x2	0,13	0,042	0,084	1,60	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,10			1,20	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,12			1,40	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,03			0,40	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,25			2,99	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,22			2,59	3,10	Отличие не имеется
Гемоглобина						
x1-x2	0,17	11,083	1,359	0,12	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,83			0,61	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	3,00			2,21	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,67			0,49	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	2,17			1,59	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	2,17			1,59	3,10	Отличие не имеется
Тромбоцитов						
x1-x2	70,67	1602,18 3	16,341	4,32	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	57,17			3,50	3,10	Отличие имеется*
x1-x4	45,50			2,78	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	13,50			0,83	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	25,17			1,54	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	11,67			0,71	3,10	Отличие не имеется

Примечание: - x1- первая серия животных; x2- первая серия животных; x3- первая серия животных; x4- первая серия животных; * - различия статистически не значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки $p < 0,05$

В таблице 4.18. представлены данные по влиянию пропозинка на биохимические показатели сыворотки крови белых крыс на 150 сутки внутрижелудочного введения препарата.

Первичные данные соответствовали закону нормального распределения признаков. Статистический анализ полученных биохимических показателей приведен с использованием однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки) на 150 сутки проведения опытов не выявил статистически значимых межгрупповых различий.

Таблица 4.18.-Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после внутрижелудочного введения пропоцинка в различных дозах на 150 сутки эксперимента

Показатели крови	Показатели нормы для крыс	Вода очищенная 2 мл/кг массы тела	Пропоцинк 0,5 мл/кг массы тела	Пропоцинк 1 мл/кг массы тела	Пропоцинк 2 мл/кг массы тела
Мочевина	3-7	4,93±0,36	4,63±0,37	4,68±1,13	4,88±1,11
АСТ	91-160	132,83±7,94	126,17±7,03	133,67±20,39	126,33±17,63
АЛТ	30-74	48,70±4,10	45,33±9,11	42,00±8,92	47,83±8,82
Холестерин	1,3-2,5	1,92±0,56	1,83±0,45	2,03±0,35	1,93±0,72
Триглицериды	0,5-1,3	0,78±0,10	0,90±0,28	0,93±0,19	0,83±0,31
Общий белок	53-85	74,71±5,91	68,50±8,24	73,67±7,42	74,00±7,48
Альбумины	28-39	33,65±4,05	35,33±2,50	35,67±1,51	35,17±2,32
Глобулины	14-57	37,98±11,00	41,83±6,59	33,50±10,09	37,17±9,45
Глюкоза	4-15'	8,97±1,20	9,78±3,30	8,62±2,48	9,15±2,71
Билирубин общий	до 9	4,68±0,59	6,80±1,37	5,12±1,92	5,98±1,59
Общие липиды	1,5-6,5	3,95±0,95	3,92±1,04	3,82±1,35	3,30±0,93

Все показатели не имели клинический значимости, так как они находились в пределах физиологической нормы (таблица 4.19.).

Таблица 4.19.-Результаты статистической обработки биохимических показателей крови белых крыс в программе MSExcel с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки)

Модули разности между средними значениям и в группах	Расчет	MSR	корень (MSR/n)	Коэффициент перерасчета	Критическая точка	Наличие отличий между средними значениями групп
Мочевина						
x1-x2	0,30	0,747	0,353	0,84	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,25			0,05	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,05			0,01	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,05			0,01	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,20			0,04	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,20			0,04	3,10	Отличие не имеется

Продолжение таблицы 4.19

АСТ						
x1-x2	6,67	209,7 17	5,912	1,13	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,83			0,14	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	6,50			1,10	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	7,50			1,27	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	7,33			1,24	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	7,33			1,24	3,10	Отличие не имеется
АЛТ						
x1-x2	3,37	64,30 3	3,274	1,03	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	6,70			2,05	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,87			0,26	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	3,33			1,02	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	5,83			1,78	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	5,83			1,78	3,10	Отличие не имеется
Холестерин						
x1-x2	0,08	0,292	0,221	0,38	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,12			0,53	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,02			0,08	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,20			0,91	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,10			0,45	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,10			0,45	3,10	Отличие не имеется
Триглицериды						
x1-x2	0,13	0,055	0,096	1,31	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,16		0,00	1,65	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,06		0,00	0,61	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,03			0,35	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,10			1,04	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,10			1,04	3,10	Отличие не имеется
Общий белок						
x1-x2	6,21	53,48 7	2,986	2,08	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	1,04		0,00	0,35	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,70		0,00	0,24	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	5,17			1,73	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,33			0,11	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,33			0,11	3,10	Отличие не имеется
Альбумины						
x1-x2	1,68	7,572	1,123	1,50	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	2,02		0,00	1,80	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	1,52		0,00	1,35	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,33			0,30	3,10	Отличие не имеется

Продолжение таблицы 4.19

x2-x4	0,50			0,45	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,50			0,45	3,10	Отличие не имеется
Глобулины						
x1-x2	3,85	88,90 5	3,849	1,00	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	4,48		0,00	1,16	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,82		0,00	0,21	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	8,33			2,16	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	3,67			0,95	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	3,67			0,95	3,10	Отличие не имеется
Глюкоза						
x1-x2	0,82	6,458	1,037	0,79	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,35			0,34	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,18			0,18	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	1,17			1,12	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,53			0,51	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,53			0,51	3,10	Отличие не имеется
Билирубин						
x1-x2	2,12	2,107	0,593	3,57	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	0,43			0,73	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	1,30			2,19	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	1,68			2,84	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,87			1,46	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,87			1,46	3,10	Отличие не имеется
Общие липиды						
x1-x2	0,03	1,171	0,442	0,08	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,13			0,30	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,65			1,47	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,10			0,23	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,52			1,17	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,52			1,17	3,10	Отличие не имеется

Примечание: - x1- первая серия животных; x2- первая серия животных; x3- первая серия животных; x4- первая серия животных; * - различия статистически не значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки $p < 0,05$

4.2.5. Влияние пропозинка при многократном внутрижелудочном введении на морфологическую структуру некоторых внутренних органов на 180 сутки (6 месяцев) эксперимента у белых крыс

Патоморфологические исследования животных в конце эксперимента (через 6 месяцев) проведенном после эвнатазии, показало следующее.

При визуальном макроскопическом осмотре установлено, что крысы правильного телосложения, удовлетворительного питания. Шерсть животных имела опрятный вид, чистая, без очагов облысения. Зубы целые, сохранены.

Видимые слизистые оболочки бледно-розовой окраски, блестящие и чистые. Половые органы развиты правильно, деформаций или отека конечностей нет.

При вскрытии грудной полости легкие оказались спавшимися, их поверхность имела бледно-розовый оттенок. На разрезе ткань легких также была бледно-розового цвета с однородной структурой. Слизистая оболочка крупных бронхов была гладкой, бледно-розовой окраски и не проявляла видимых патологических изменений. Осмотр грудной и брюшной областей не выявил нарушений в расположении внутренних органов; они находились в нормальном анатомическом положении. Подмышечные, паховые и подколенные лимфоузлы сохраняли обычную овальную и круглую форму, имели однородный желтовато-бледный цвет и умеренную плотность, без признаков увеличения или воспаления. Щитовидная железа плотно прилегала к гортани, имея стандартные размеры и плотность, с розовато-красноватой окраской. Тимус был нормальной формы, беловато-желтоватого цвета и умеренной плотности. Слизистая оболочка трахеи характеризовалась бледно-розовой окраской, без очагов кровоизлияний или других патологических изменений. Сердце имело обычную форму и размеры; миокард на разрезе был коричневатого цвета и плотной консистенции, соответствуя норме. Селезенка обладала темно-вишневой окраской, на разрезе имела рыхлую консистенцию, с ровной поверхностью и сглаженными краями, что указывает на отсутствие патологий. При осмотре внутренних органов патологий не обнаружено. Печень выглядела нормально: капсула тонкая и прозрачная, а на разрезе ткань имела коричневато-бурый цвет и умеренную плотность. Желудок сохранял обычные форму и размеры; при вскрытии по малой кривизне граница между безжелезистой и железистой частями была слабо различима. Слизистая оболочка желудка была бледно-розовой, сглаженной, без выраженных складок

и без признаков патологических изменений. Слизистые оболочки тонкого и толстого кишечника не проявляли видимых изменений. Поджелудочная железа располагалась в брыжейке: левая доля прилежала к двенадцатиперстной кишке, правая — к желудку; орган имел желтовато-белый цвет. Почки были обычной формы с гладкой поверхностью; на разрезе чётко визуализировались корковое и мозговое вещества. Форма, размеры и плотность надпочечников и яичек соответствовали контрольным значениям. Влияние пропоцинка на массово-весовые коэффициенты некоторых внутренних органов представлено в таблице 4.20.

Показатели массы тела, полученные непосредственно перед умерщвлением животных на 180 сутки от начала эксперимента, были использованы для расчета процентного отношения массы органов к массе тела. Результаты показали, что существенной разницы между массово-весовыми характеристиками опытных и контрольных серий не имеются (таблица 4.20).

Таблица 4.20.-Результаты влияния пропоцинка на весовые коэффициенты некоторых внутренних органов на 180 сутки эксперимента

Серия опытов и дозы	Общий вес	Сердце	Легкие	Тимус	Печень	Селезенка	Почки	Надпочечники	Семенники
Вода очищенная 2 мл/кг	411.5 ± 11.17	0.371 ± 0.017	0.518 ± 0.014	0.078 ± 0.007	2.965 ± 0.011	0.291 ± 0.006	0.731 ± 0.027	0.025 ± 0.003	0.776 ± 0.021
Пропоцинк 0,5 мл/кг	424.67 ± 26.47	0.379 ± 0.016	0.562 ± 0.028	0.086 ± 0.014	3.014 ± 0.086	0.318 ± 0.013	0.755 ± 0.035	0.029 ± 0.003	0.808 ± 0.041
Пропоцинк 1 мл/кг	414.33 ± 10.54	0.359 ± 0.023	0.508 ± 0.036	0.077 ± 0.007	3.003 ± 0.157	0.293 ± 0.012	0.694 ± 0.066	0.029 ± 0.004	0.747 ± 0.052
Пропоцинк 2 мл/кг	402.83 ± 34.22	0.364 ± 0.022	0.528 ± 0.022	0.069 ± 0.004	3.092 ± 0.134	0.284 ± 0.018	0.689 ± 0.037	0.02 ± 0.002	0.769 ± 0.041

При обработке полученных данных методом однофакторного анализа (ANOVA) влияния фактора введения пропоцинка в различных дозах, которые

могли быть, имеет достоверное отличие от контроля, не выявлено. Только в одном случае наблюдается различие весового коэффициента легких и селезенки контрольной серии от весовых коэффициентов животных серий получавших пропоцинк в дозе 0,5 мл/кг массы тела (таблица 4.21).

Таблица 4.21.-Результаты статистической обработки массо-весовых показателей внутренних органов белых крыс в программе MSExcel с применением однофакторного анализа (ANOVA, критерий Тьюки)

Модули разности между средними	Расчет	MSR	корень (MSR/n)		критическая точка	Наличие отличий
Общий вес						
x1-x2	13,167	526,850	9,371	1,405	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	2,833			0,302	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	8,667			0,925	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	10,333			1,103	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	21,833			2,330	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	11,500			1,227	3,10	Отличие не имеется
Сердце						
x1-x2	0,008	0,000	0,008	0,974	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,012			1,471	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,007			0,911	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,020			2,444	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,015			1,885	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,005			0,559	3,10	Отличие не имеется
Легкие						
x1-x2	0,045	0,001	0,011	4,171	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	0,010			0,930	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,010			0,961	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,055			5,102	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	0,035			3,210	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,020			1,892	3,10	Отличие не имеется
Тимус						
x1-x2	0,008	0,000	0,004	2,219	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,001			0,324	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,009			2,404	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,009			2,542	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,017			4,622	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,007			2,080	3,10	Отличие не имеется

Продолжение таблицы 4.21

Печень						
x1-x2	0,049	0,013	0,046	1,069	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,037			0,814	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,127			2,778	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,012			0,256	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,078			1,708	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,090			1,964	3,10	Отличие не имеется
Селезенка						
x1-x2	0,026	0,000	0,005	5,071	3,10	Отличие имеется*
x1-x3	0,002			0,353	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,007			1,316	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,025			4,718	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	0,033			6,387	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,009			1,669	3,10	Отличие не имеется
Почки						
x1-x2	0,025	0,002	0,018	1,383	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,037			2,075	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,042			2,355	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,062			3,458	3,10	Отличие имеется*
x2-x4	0,067			3,739	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,005			0,280	3,10	Отличие не имеется
Надпочечники						
x1-x2	0,004	0,00001	0,001	3,036	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,004			2,656	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,006			4,174	3,10	Отличие имеется*
x2-x3	0,001			0,379	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,010			7,210	3,10	Отличие имеется*
x3-x4	0,009			6,831	3,10	Отличие имеется*
Семенники						
x1-x2	0,032	0,002	0,017	0,003	3,10	Отличие не имеется
x1-x3	0,028			0,003	3,10	Отличие не имеется
x1-x4	0,007			0,001	3,10	Отличие не имеется
x2-x3	0,061			0,006	3,10	Отличие не имеется
x2-x4	0,039			0,004	3,10	Отличие не имеется
x3-x4	0,022			0,002	3,10	Отличие не имеется

Примечание: - x1- первая серия животных; x2- первая серия животных; x3- первая серия животных; x4- первая серия животных; * - различия статистически не значимы по сравнению с контрольными животными, тест Тьюки $p < 0,05$

Некоторые внутренние органы после умерщвления белых крыс подвергнуты морфо-гистологическим исследованиям. Внутренние органы (сердце, легкие, желудок, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники,

семенники) у животных опытных и контрольных серий после умерщвления изымались, затем фиксировались в заранее приготовленному раствору нейтрального формалина (10%). Материал готовили по стандартной методике (Семченко В.В. и др., 2006). Заливку осуществляли в парафин. Срезы изготавливали на санном микротоме (толщина среза 5 мкм). Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Микропрепараты просматривали в световой микроскоп.

Гистологическое исследование сердце, легкие, вилочковая железа, печени, желудка, селезенки, щитовидной железы, надпочечники животных, получавших пропоцинк, в сравнение с животными контрольной группы показало отсутствие особенностей строения, свидетельствующих о патологических изменениях.

Сердце. В контрольной и опытных сериях наблюдается признаки полнокровие сосудов. Структура сердечных миоцитов сохранена у всех животных. На микропрепаратах у животных подопытных и контрольных групп наблюдали типичное строение всех оболочек сердца. Толщина эпикарда соответствовала норме для животных данного вида. Его соединительнотканная основа не имела лейкоцитарной инфильтрации. Количество жировой ткани было обычным. Пикнотически измененных ядер кардиомиоцитов не наблюдали. В интерстициальной ткани миокарда обнаруживались участки с умеренно расширенными мелкими сосудами. Строение сердечной мышцы выглядело типичным для белых крыс. Признаки воспаления и некроза отсутствовали.

Легкие. У небольшой части животных контрольной серии (3 случая) и опытных серий (3 серия – 2 случая, 4 – серия – 3 случая) отмечались признаки перибронхиального отека. В слизистой и подслизистой оболочках бронхов разных калибров наблюдали участки лимфоцитарной инфильтрации невысокой степени. Межуточная ткань не имела признаков патологии. В остальном морфологическая картина легких контрольных и опытных животных существенно не отличались.

При светооптическом исследовании препаратов тимуса интактных и контрольных белых крыс были обнаружены все структурные компоненты, присущие данному органу: тимусные доли были окружены соединительнотканной капсулой, от которой отходят септы, разделяющие корковое вещество тимуса на доли. Тимус (вилочковая железа) у контрольной группы животных густо инфильтрирована лимфоцитами. Определяются корковое и мозговое вещество. Корковое вещество инфильтрировано малыми лимфоцитами. В средней части мозгового вещества определяются слоистые эпителиальные тельца. В органе контрольных и подопытных животных большой объем занимает междольковая жировая ткань. Размер долек также не отличается в контроле и опытной группе. Корковое и мозговое вещество дольки отчетливо различимы на микропрепаратах. Морфологическая картина опытных серий отличается от контрольной небольшой активностью лимфоцитов.

Печень белых крыс, получавшие пропоцинк в различных дозах, макроскопически выглядела как у животных контрольной серии.

Гистологически печень опытных серий также особенно не отличалась от печени контрольных серий.

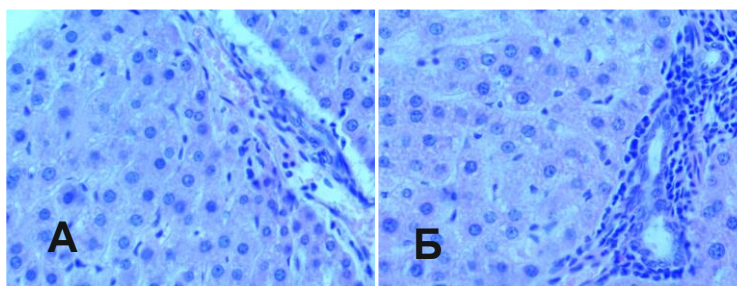


Рисунок 4.1.-Срез печени крыс, получавших пропоцинк (А) и животных контрольной группы (Б). Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

В единичных случаях отмечалась полнокровие вен портального тракта. Также как в контрольной серии были единичные случаи гранулематоза. В 2,5, 6 случаях контрольной серии, 5, 6 случае 3 серии и 5, 6 случае 4 серии отмечались незначительные увеличения полиплоидных гепатоцитов. Дольковое строение печени выражено нечетко как у контрольной, так и у опытных серий

белых крыс. Отмечается выраженная активность звездчатых эндотелиальных клеток (клеток Купфера) и активность гепатоцитов в большинстве случаев у животных, получавших пропоцинк.

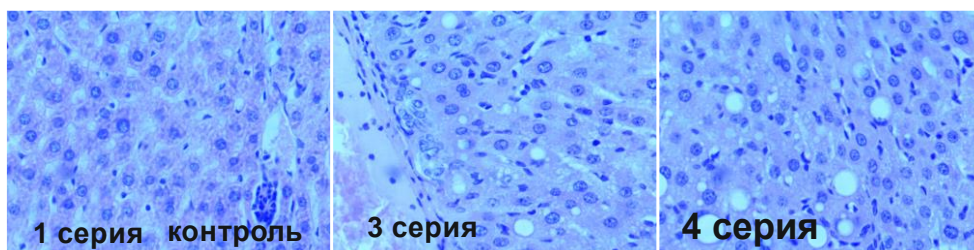


Рисунок 4.2.-Срез печени крыс, получавших пропоцинк (3 и 4 серия) и контрольной серии (1 серия). Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

На рисунок 4.3. приводится гистологическая структура интактной крысы, где печень покрыта тонкой соединительнотканной капсулой. Видно, что балочное строение долек сохранено и они расположены радиально в дольке. Цитоплазма клеток печени мелкозернистая и базофильна. Ядра гепатоцитов имеют четкую круглую форму с хорошо заметными ядрышками, нормохромные. У белых крыс контрольной серии и белых крыс опытных серий ядра гепатоцитов и цитоплазма печеночных клеток существенно морфологически не отличались. В одном поле зрения у крыс контрольной и опытных серий отмечалось небольшое снижение количество двухядерных клеток, что отмечалось даже у тех животных, которым внутрижелудочно вводили дистиллированную воду. Белые крысы, которые получали пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела в течение 180 суток наблюдались митозы (в среднем по 2-3 митозы на 30 полей зрения). Для примера приводим морфологическую картину среза печени белой крысы, которым вводили внутрижелудочно пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела в течение 180 суток (рисунок 4.3).

Желудок. В желудке крыс опытной и контрольной группы хорошо видны все оболочки. Внутренняя стенка желудка у белых крыс все серии разделяются на две половины. Железистый слой: выделяются простые трубчатые железы, глубини ямок некоторых из них превышают $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{3}$ их высоты, стенки у них покрыты эпителиальными клетками (рисунок 4.4).

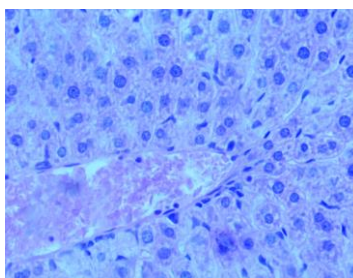


Рисунок 4.3.-Срез печени крысы контрольной серии. Цитоплазма гепатоцитов базофильная. Ядра круглые, нормохромные. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

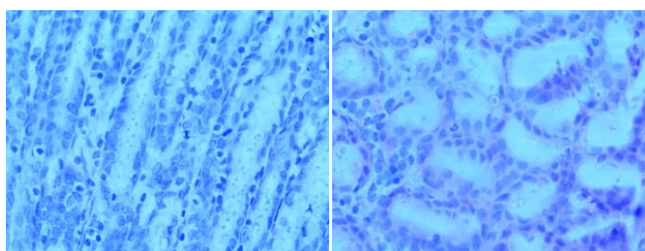


Рисунок 4.4.-Стенка железистой части желудка. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Слизистая рубцовой части желудка выстлана многослойным плоским ороговевающим эпителием (рисунок 4.5).

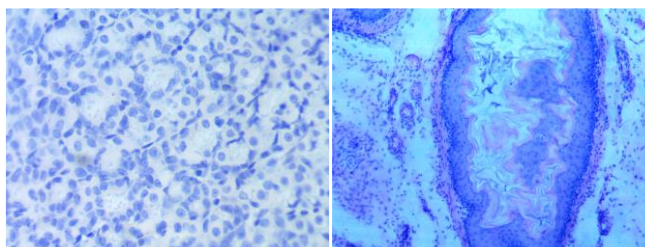


Рисунок 4.5.-Слизистая рубцовая часть желудка. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Слизистый слой желудка белых крыс опытных животных с гиперхромными клетками и хорошо просматриваются складки и покрыта цилиндрическим эпителием. Цитоплазма и ядра железистых клеток желудка опытных серий и контрольной серии существенно не отличаются. Отмечались небольшие дистрофии клеток желез дна желудка и некоторая гипо- (и гипер-) – хромии ядра клеток у всех животных (рисунок 4.6).

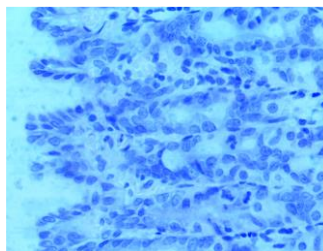


Рисунок 4.6.-Стенка рубцовой части желудка. Внешние слои плоского эпителия десквамированы. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

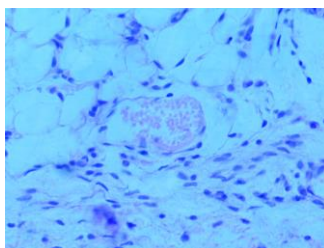


Рисунок 4.7.-Проопцик внутрижелудочно. Отмечается единичные случаи легкой дистрофии железистых клеток дна органа. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Почка. При макроскопическом исследовании почек контрольной и опытных серий видимых отличий не зарегистрировано. Морфология почечных телец у животных контрольной серии и опытной серии не отличались от нормы. Ткань почек контрольной серии животных однородная, клубочки нормальные, артериальные сосуды спавшиеся, венозно – полнокровные. Ткань почек опытной серии животных также однородная, в отдельных канальцах (1 случай – 2 серия, 4,5 случаи – 4 серия) обнаружены белковые массы, артериальные сосуды спавшиеся, венозные – полнокровные. В канальцевом аппарате (2,3 случаи контрольной серии, 1 случай – 2 серия, 4,5 случаев – 4 серия) наблюдается гидропическая дистрофия эпителия канальцев.

На рисунке 4.8. приводится гистоархитектоника почек животных контрольной серии. Почка снаружи покрыта соединительнотканной капсулой с единичными гладкомышечными клетками. Просветы канальцев расширены, оптически пустые, просветы капсул клубочков хорошо визуализируются и большей частью широкие (рисунок 4.8.).

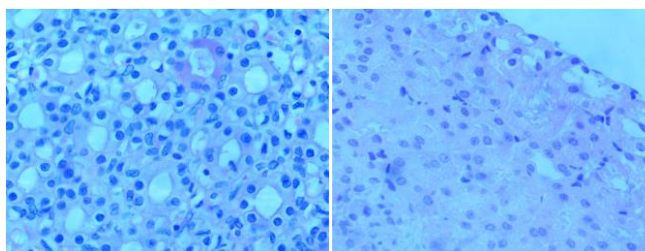


Рисунок 4.8.-Корковый слой почки интактной крысы. Просвет капсул клубочков хорошо различим. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Просветы проксимальных канальцев обычно хорошо видны, несмотря на то что эпителиальные клетки, выстилающие их, высокие, с мелкозернистой цитоплазмой и нечеткими границами. Ядра этих клеток имеют круглую форму, а их хроматин различим.

В дистальных канальцах почек эпителиальные клетки кубической формы со слегка базофильной цитоплазмой выстилают стенки. Ядра здесь преимущественно овальные, местами встречаются и круглые, при этом хроматин хорошо различим. Просветы дистальных канальцев также отчётливо заметны (рисунок 4.9).

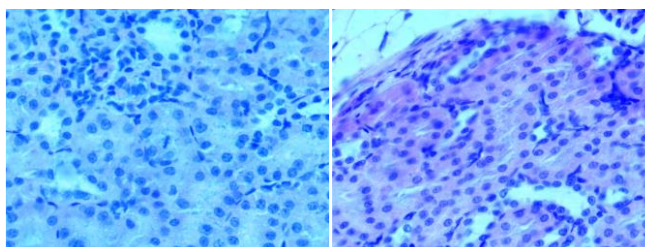


Рисунок 4.9.-Корковый слой почки интактной крысы. Проплиферация клеток мезангима более выражена, чем в предыдущем случае. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

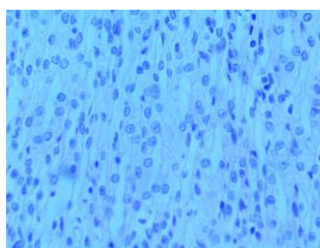


Рисунок 4.10.-Мозговой слой почки интактной крысы. Просветы прямых канальцев различимы. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Прямые каналцы почек у белых крыс выстланы кубическим эпителием, местами – плоским. Цитоплазма мелкозернистая, слабо базофильная. Ядра нормохромные и круглые. Просвет каналцев почек хорошо отличается (рисунок 4.11).

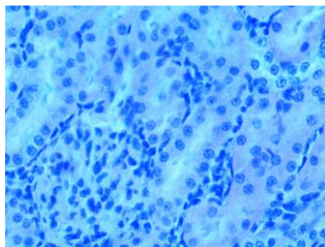


Рисунок 4.11.-Просветы собирательных каналцев почки интактной крысы также хорошо различимы. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Селезенка. Наблюдается выраженное полнокровие синусов и кровеносных сосудов красной пульпы у всех животных. В отдельных случаях в красной пульпе (5 – в контроле, 2,3 – во 2 серии, 4, 5 – в 3 серии) отмечались очаговые скопления лимфоцитов. У животных контрольной серии лимфатические фолликулы имели реактивные центры. Центральная артерия расположена эксцентрично. У большинства животных опытных серий наблюдалось увеличение лимфатических фолликулов.

Исследование выявило различия в количестве лимфоидных фолликулов в селезёнке животных в зависимости от дозы пропоцинка. В серии, где животным вводили пропоцинк в дозе 1 мл/кг массы тела ежедневно в течение 180 суток, число фолликулов составляло от 5 до 7. В другой серии, с дозой 2 мл/кг массы тела, этот показатель увеличивался до 10–12. Дополнительно, количество герминативных центров в группе, получавшей более высокую дозу, варьировало от 4 до 6. Несмотря на эти количественные изменения, морфологическая структура селезёнки у опытных животных не отличалась от контрольной группы: орган имел нормальную консистенцию и демонстрировал тёмно-красный цвет на разрезе. В контрольной серии число фолликулов составило меньше 3. Кровонаполнение синусов и их просвет у животных опытных и контрольной серии друг от друга не отличались. Также мегакариоцитов также между сериями (опытных и контрольной) существенно

не отличались. Следует однако подчеркнуть, что число мегакариоцитов у белых крыс, которым вводили пропоцинк в дозе 1-2 мл/кг массы тела в течение 6 месяцев отмечались незначительно больше, чем у животных контрольной серии (в среднем 0,31 в одном поле зрения опытной серии, против 0,18 в контрольной серии).

Лимфоузел. Структура лимфоузла у животных опытной серии была похожа морфологически на структуру животных контрольной серии. В корковом веществе лимфотические узелки в контроле и в опыте содержали центры размножения. Кровонаполнение сосудов лимфатических узлов у животных опытных и контрольных серии умеренное и не отличается друг от друга. При исследовании препаратов от животных, которым на протяжении шести месяцев вводили пропоцинк в дозах 1–2 мл/кг массы тела, было установлено, что число митозов в большинстве серий не превышало 7–10 на серию. Однако в единственном случае среди серии животных, получавших пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела, наблюдалось выраженное полнокровие сосудов лимфатического узла. В этой серии количество митозов достигало максимальных значений — 22–28 на один герминативный центр. Гистоархитектоника лимфоузлов оставшиеся животных опытных серии ни чем не отличались от животных контрольной серии.

Приводим один из срезов лимфоузла интактной группы (рисунок 4.12).

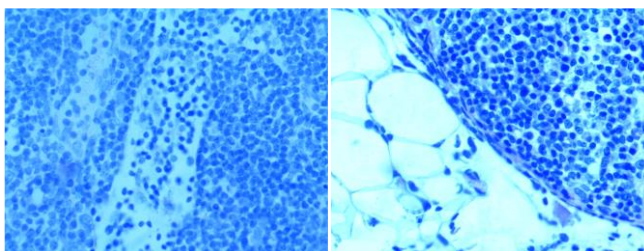


Рисунок 4.12.-Лимфатический узел. Увеличение объектив – 16, окуляр 7

Щитовидные железы опытных крыс через 180 сутки от начала опыта сохраняют дольчатое строение. Величина долек различны, состоят из мелких и средней величины фолликулами. У животных получавших пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела в течение 6-х месяцев (3,5 - во второй серии животных и 2,3 - во четвертой серии) наблюдается увеличение размеры фолликул по периферии

долек по сравнению с животными контрольной серией. В остальные сериях дольчатая структура и величина фолликул опытных и контрольной серии были сопоставимы. Фолликулы зрелые, форма в большинстве случаев овальная (местами круглая), выстланы кубическим эпителием (рисунок 4.13).

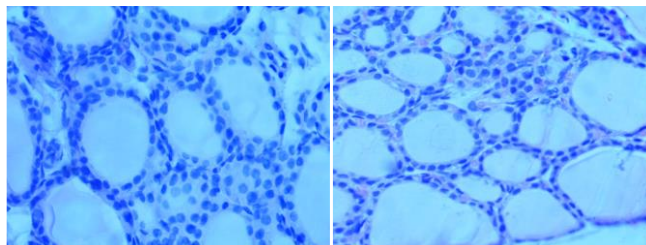


Рисунок 4.13.-Срез лимфоузла интактной крысы. Ободок из зрелых лимфоцитов местами прерывается. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

Картина обособленная островков из парафолликулярного эпителия и, их дифференцировка в микрофолликулы не имели отличие от животных контрольной серии. Только у одного животного получавших пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела в течение 6 месяцев обнаруживалось образование дочерних фолликул (рисунок 4.14).

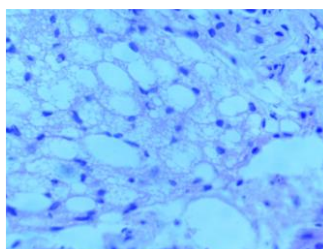


Рисунок 4.14.-Срез лимфоузла опытной серии (4-серия). Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

В одной случае серии животных получавших пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела в течение 6 месяцев была обнаружена десквамация интрафолликулярного эпителия в полость фолликулы (рисунок 4.15).

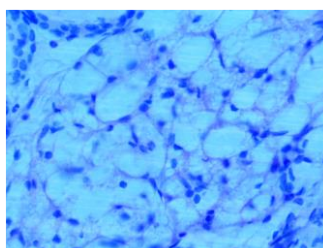


Рисунок 4.15.-Срез лимфоузла опытной серии (4-серия). Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

При морфологическом исследовании надпочечников белых крыс опытных серий и животных контрольной серии установлено, что границы коркового и мозгового вещества хорошо отличаются, капсула соединительнотканная выражена хорошо, существенных отличий по морфологическим показателям между сериями не обнаруживаются. При исследовании животных, которым внутрижелудочно вводили пропоцинк в дозах 1 и 2 мл/кг массы тела, были обнаружены случаи кровонаполнения сосудов по сравнению с контрольной группой. В серии с дозой 1 мл/кг зафиксирован один такой случай, тогда как в серии с дозой 2 мл/кг—два случая. Кроме того, в одном случае при дозе 2 мл/кг массы тела, применявшейся на протяжении шести месяцев, наблюдалось умеренное расширение капиллярных синусов по сравнению с контрольными животными (рисунок 4.16).

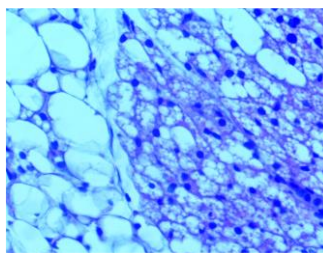


Рисунок 4.16.-Образование дочерних фолликул в одном случае, где крыса получала пропоцинк 2 мл/кг массы тела – 6 месяцев. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

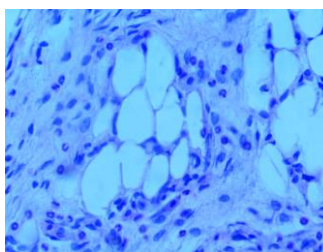


Рисунок 4.17.-Срез надпочечника крысы (часть коркового и мозгового слоев), получавшей пропоцинк 2 мл/кг массы тела также в течение 6- месяцев. Отмечается незначительное расширение синусоидов сетчатой зоны. Увеличение объектив – 16, окуляр 7.

На основании морфологических исследований некоторых внутренних органов после внутрижелудочного введения пропоцинка в течение 180 суток установлено, что данное вещество не оказывает существенное действие на исследуемых органов белых крыс. Морфологическая картина исследованных органов животных опытных серий не отличалась от контрольной серии.

Указанные выше изменения обнаруженные в цитоархетектонике внутренних органов белых крыс после внутрижелудочного введения пропоцинка в течение шести месяцев отмечались в единичных случаях, а также отмечались в большинстве случаев у животных контрольной серии крыс.

Результаты гистологического исследования внутренних органов белых крыс перорально получавших пропоцинк в дозах 0,5 мл/кг массы, 1 и 2 мл/кг массы свидетельствуют об отсутствии существенных патологических изменений в микроструктуре изученных органов по сравнению с животными контрольной серии. Данные морфологического исследования внутренних органов свидетельствуют о том, что пропоцинк не влияет отрицательно на гистологическую архитектуру вилочковой железы, сердца, легких, печени, селезенки, желудка, кишечника и надпочечников у белых крыс при шестимесячном внутрижелудочном введении. В целом проведенное гистоморфологическое исследование органов животных подопытных серий позволяет сделать заключение о достаточной безопасности испытуемого вещества.

Таким образом, полученные нами физиологические, биохимические и морфологические результаты свидетельствуют о том, что пропоцинк в пределах оптимальных терапевтических дозах как при однократном, так и при длительном внутрижелудочном введении не оказывает отрицательного влияния на основные функции отдельных внутренних органов и организма животных в целом.

4.3. Результаты местно-раздражающего действия

В последние годы развития фармакологии всечаще обращают внимание вопросу создания новых не только высокоэффективных, но и безопасных лекарственных препаратов (Shakouri A. Etal., 2018; Meng Z. Etal., 2018). Многие лекарственные препараты химического синтеза, животного и растительного происхождения сопровождаются теми или иными побочными эффектами (Дрици М.Д., Климова Т.М., 2019). Известно, что наименьшим побочными эффектами обладают лекарственные препараты натурального (растительного и животного) происхождения. Поэтому остается актуальной задачей поиска новых высокоэффективных лекарственных веществ на базе природного сырья (Сидельников Н.И., 2013; Рогалева Е.В. и соавт., 2020).

4.3.1. Оценка местно-раздражающего действия пропоцинка на кожу

Животные были разделены на две серии: контрольные и опытные. В эксперименте были использованы по 6 кроликов в каждой группе. В эксперименте участвовали только животные со здоровой кожей (без видимых повреждений и царапин). Заблаговременно до начала проведения опытов кожу очищали от шерсти. Участок очищенной от шерсти составила площадью 10x10 см по обеим сторонам от позвоночника по середине тела. На выстриженном участках по правой и левой стороны на площади 25x25 мм наносили по 1 мл сиропа пропоцинка и рядом на расстоянии 2,5-3,0 см наносили дистиллированную воду таким же образом. Сверху место нанесения покрывали кусочками ватных шариков (у животных опытной серии смачивали шариков предварительно пропоцинком, а у контрольной водой). Участки с обеих сторон фиксировали окклюзионной повязкой. Время экспозиции составила 4 часа, после чего пропоцинк смывали теплой мыльной водой с поверхности кожи. Наблюдение за реакцией кожи кроликов осуществляли при естественном освещении. Состояние кожи оценивали через 1, 6, 12, 24 и 72 часа после удаления веществ.

Критерии оценки местно-раздражающего действия пропоцинка на коже представлены в таблице 4.22.

Таблица 4.22.-Критерий оценки местно-раздражающего действия пропоцинка при однократном применении на кожные покровы кроликов (согласно требованиям ГОСТ ГОСТ ISO 10993-2-2009)

Реакция	Оценка в баллах
Эритема и образование струпа	
Отсутствие эритемы	0
Очень слабая эритема (едва заметная)	1
Хорошо различимая эритема	2
Умеренная эритема	3
Резко выраженная эритема (темно-красная) с образованием струпа	4
Образование отека	
Отсутствие отека	0
Очень слабый отек (едва заметный)	1
Заметный отек, выступающий над поверхности кожи и имеющий четко выраженные границы	2
Умеренный отек (выступающий над поверхностью кожи около 1 мм)	3
Выраженный отек (распространенный, выступающий над поверхностью кожи более чем на 1 мм)	4
Максимально возможное число баллов	8

Согласно полученным данным при однократном нанесении пропоцинка в объеме 1 мл на 2,5 см² кожи кроликов, не вызывает повреждения кожи в виде эритемы и отека кожи. Также не наблюдается изменения со стороны физиологических параметров (пульс, дыхание, температура). Результаты опыта по изучению местно-раздражающего действия приведены в таблице 4.23.

Таблица 4.23.-Результаты местно-раздражающее действие пропоцинка на кроликах

Исследуемые показатели	Время наблюдения (часы)									
	3		6		12		24		72	
	Группы животных									
	Контроль	Пропоцинк	Контроль	Пропоцинк	Контроль	Пропоцинк	Контроль	Пропоцинк	Контроль	Пропоцинк
Гибель животных	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Эритемы	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Продолжение таблицы 4.23

Отек	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Пульс	132,5	130,3	135,3	135,1	137,5	138,1	134,0	135,5	138,6	139,0
	0 ±	3 ±	3 ±	7 ±	0 ±	7 ±	0 ±	0 ±	7 ±	0 ±
	3,23	3,62	4,53	3,54	4,08	3,66	2,97	4,18	5,74	7,83
Дыхание	51,83	53,33	49,33	50,67	47,33	50,33	48,67	47,83	50,33	49,33
	± 4,22	± 3,49	± 4,49	± 4,39	± 2,87	± 3,85	± 2,87	± 3,78	± 4,68	± 2,54
Температура, °C	38,57	38,32	38,40	38,30	38,47	38,55	38,48	38,57	38,40	38,55
	± 0,34	± 0,45	± 0,33	± 0,31	± 0,44	± 0,28	± 0,23	± 0,36	± 0,18	± 0,24

Таким образом, при изучении местно-раздражающего действия пропоцинка установлено, что пропоцинк не обладает местно-раздражающим действием.

4.3.2. Оценка местно-раздражающего действия пропоцинка на слизистые оболочки глаз

Местнораздражающее влияние на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба). Для проведения опыта были использованы здоровые кролики ($n=3$) массой тела 2,0-2,5 кг, которые предварительно находились на карантине в течение четырнадцати дней. Для оценки влияния пропоцинка на слизистые оболочки глаз пропоцинк вводили однократно вытянутым тонким концом глазной пипетки под верхнее веко в количестве 3 капель (правого глаза) и аналогичным образом вводили дистиллированную воду под верхнее веко левого глаза. Влияние пропоцинка на слизистую оболочку глаз у кроликов исследовалось с применением методики, предложенной А. Majda и К. Chrusaieleska. В ходе офтальмологического осмотра анализировалось состояние слизистой оболочки глаза и век, а также возможные изменения, такие как инъекция сосудов склеры и роговицы, и интенсивность слезоотделения. Все изменения оценивались по бальной шкале, разработанной А. Majda и К. Chrusaieleska в 1973 году, с целью детального анализа воздействия препарата на ткани глаза (1973) (таблица 4.24).

Таблица 4.24.-Таблица оценок местно-раздражающего действия в баллах

Степень интенсивности реакции на раздражение у кроликов	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Отсутствие реакции	0	отсутствует
Гиперемия – нет	0	отсутствует
Гиперемия слабой выраженности	1	слабый
Гиперемия средней выраженности	2	слабый
Выраженная гиперемия	4	слабо выраженный
Лакримация – нет	0	отсутствует
Лакримация слабо выражена	1	слабый
Лакримация средней выраженности	4	слабо выраженный
Лакримация выраженная	5	умеренный
Нагноение отсутствует	0	отсутствует
Гнойные выделения	6	выраженный
Нагноение выраженное, истечение гноя на кожные покровы	10	сильно выраженный
Повреждение роговицы средней выраженности	6	Выраженный
Повреждение роговицы разлитое, помутнение выраженное	0	отсутствует
Отек век отсутствует	0	отсутствует
Отек век выражен	10	сильно выраженный

Учитывали реакции через 1, 3, 6, 12, 24, 48 и 72 часов после инстилляций препарата. Значения всех показателей суммировали, и затем рассчитывали средний суммарный балл для каждой группы. Животные содержались в одинаковых условиях. Установлено, что при однократном нанесении пропоцинка на слизистые оболочки глаз кроликов через несколько минут животные начали проявлять беспокойство, наблюдались попытки расчеса глаз. Результаты проведенного эксперимента на кроликах приведены в таблицы 4.25.

Таблица 4.25.-Результаты однократного нанесения пропоцинка на конъюнктиву глаз кроликов в баллах

Кролики	Серия	Критерии оценки	Сроки наблюдения после нанесения, ч							Суммарный средний балл реакции	Степень выраженности эффекта
			1	3	6	24	48	72	Усредненный эффект		
1	Контроль (левый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	нет эффекта
		Отек век	0	0	0	0	0	0	0,0		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		

Продолжение таблицы 4.25

	Пропоцинк (правый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	1	1	0	0	0	0	0,3	0,50	слабый
		Отек век	0	1	0	0	0	0	0,2		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		
2	Контроль (левый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	нет эффекта
		Отек век	0	0	0	0	0	0	0,0		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		
	Пропоцинк (правый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	0	1	1	0	0	0	0,3	0,50	слабый
		Отек век	0	0	1	0	0	0	0,2		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		
3	Контроль (левый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	нет эффекта
		Отек век	0	0	0	0	0	0	0,0		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		
	Пропоцинк (правый глаз)	Гиперемия конъюнктивы и роговицы	1	1	0	0	0	0	0,3	0,67	Слабый
		Отек век	0	1	1	0	0	0	0,3		
		Выделение	0	0	0	0	0	0	0,0		

В дальнейшем животные успокаивались и наблюдалось слабая гиперемия сосудов роговицы глаз и через 3 часа небольшой отек век. Однако эти явления быстро проходили и через 6 часов от начала нанесения явления гиперемии роговицы и отек век глаз кроликов полностью исчезли.

Таким образом, при нанесении пропоцинка на слизистые оболочки глаз кроликов, в начале первых часов наблюдения, наблюдаются признаки легкого раздражения, которые быстро проходят.

Глава 5. Исследование адаптогенных свойств пропоцинка

Преимуществом разработки адаптогенов на основе растительного и минерального сырья является то, что природное сырье обладает широким спектром фармакологической активности при низкой токсичности с возможностью длительного приема этих средств с минимальным риском возникновения побочных явлений. Известным и классическим представителем растительных адаптогенов является корень растения семейства аралиевых – женьшень (*Panax Ginseng*), который богат такими активными веществами, как панаксин, панаксовая кислота, панаквилон, панацен, гинзенин, сапонины (Студенцов Е.П., и соавт., 2013). Адаптогены в отличие от других лекарственных препаратов не влияют на организм, находящийся в нормальных условиях, а проявляют защитное действие при чрезмерных физических и психоэмоциональных нагрузках (Крендаль Ф.П. и соавт., 2007). В медицинскую практику термин «адаптоген» был введен профессором Лазаревым Н.В. Идея Лазарева Н.В. заключалась в том, «...что существует большой класс соединений (адаптогенов), приводящих организм к состоянию неспецифическо- повышенной сопротивляемости при различных болезнях и неблагоприятных условиях окружающей среды». С другой стороны считается, что поиск потенциально перспективных естественных адаптогенов (вырабатываемых в организме или изначально существующих в природе) должен проводиться в естественной среде. Особое место эти вещества занимают при профилактике и лечении различных заболеваний, которые вызываются различными факторами на производстве и в быту (повышенная или пониженная влажность, барометрические факторы, температурный режим, ультрафиолетовое и инфракрасное излучение и т.д.). Сюда можно отнести также факторы химико-токсического воздействия (токсико-аллергические, канцерогенные и т.п.); разнообразные биологические агенты (патогенные микробы и вирусы); физиологические факторы (гипо- или гипердинамия). К адаптогенным препаратам в начале 70-х годов были выдвинуты общие требования, которые обобщены в нескольких пунктах: 1) в терапевтических

дозах они не должны вызывать существенных сдвигов в физиологических функциях организма здорового человека; 2) они должны оказывать неспецифическое действие (повышать сопротивляемость к широкому набору факторов различной природы (физической, химической, биологической и т.д.). 3) при многократном приеме их защитный эффект должен нарастать; 4) нормализующий эффект адаптогенов не должен быть зависимым от направленности предшествующих патологических изменений; 5) в широком диапазоне доз устойчивый эффект не должен зависеть от сезона (Петровский А.К. и соавт., 2017). Согласно данным некоторых ученых, лучше всего эти требования соответствуют следующим препаратам, как экстракт элеутерококка, настойка женьшеня, дибазол и пантокрин (Брехман И.И.,1987; Федоров В.Н.,1999). Существенный интерес к адаптогенам растительного происхождения с годами увеличивается. С одной стороны по данным ряда исследователей (Барнаулов О.Д., 2011; Барнаулов О.Д.,2014; Поспелова М.Л.,2011) их действие сопоставимо с действием синтетических препаратов, а с другой стороны препараты растительного происхождения имеют преимущества (физиологичность «мягкость» действия, низкая токсичность, очень редкое или отсутствие побочных эффектов и т.д.) (Горбач Т.В. и соавт.,2017; Косман В.М., Карлина М.В. и соавт., 2015; Цывунин В.В. и соавт., 2013; Доровских В.А. и соавт.,2015; Симонова Н.В. и соавт., 2016). На современном рынке большинства стран мира адаптогены представлены широким ассортиментом лекарственных препаратов и биологически активных добавок как синтетического, так и природного происхождения [Комаров А.К. и соавт., 2018]. Синтетические адаптогены, главным образом производные мелатонина, используются для нормализации биоритмов и улучшения сна. К природным адаптогенам относятся препараты животного происхождения, например пантокрин, а также растительные средства, такие как аралия маньчжурская, женьшень настоящий, левзея сафлоровидная, лимонник китайский, родиола розовая, элеутерококк колючий и другие. Эти натуральные препараты

традиционно применяются для повышения сопротивляемости организма к стрессовым факторам и улучшения общего самочувствия.

Целью настоящего исследования явилось определение адаптогенного действия пропоцинка и его влияние на устойчивость животных к гипоксии и стрессу.

Исследование адаптогенного действия пропоцинка проводилось на белых крысах массой 180–220 г и белых мышках массой 18–22 г. Эти животные содержались в виварии с естественным освещением, где температура воздуха поддерживалась на уровне 22 ± 3 °С, а относительная влажность составляла $62 \pm 12\%$. Им предоставлялся свободный доступ к воде, и они получали стандартный рацион питания, соответствующий их физиологическим потребностям.

Для оценки перспективности применения пропоцинка в качестве адаптогенного препарата необходимо сравнивать его действие с признанными адаптогенными средствами. Согласно справочнику Видаль «Лекарственные препараты в России» и Государственному реестру лекарственных средств, адаптогены классифицируются в нескольких клинико-фармакологических группах: «фитопрепараты общетонизирующего действия», «адаптогенные препараты» и «поливитамины с макро- и микроэлементами и биогенными адаптогенами» [Комаров А.К. и соавт., 2018]. Кроме того, в системе АТХ они отнесены к группе А13А, обозначающей «общетонизирующие препараты». Однако для оценки изучаемого средства как адаптогена его фармакологическая активность должна быть соотнесена с активностью эталонного препарата при его применении в стандартной дозе и в той же модели опыта и должна выражаться в «эталонных» единицах (Новиков В.С. и соавт., 2021). Авторы в статье подробно останавливаются на методологию исследования процесса адаптации и разрабатывают принципы оценки. В проведенном эксперименте мы учитывали эти принципы. В качестве эталонного препарата в статье рекомендуются следующие лекарственные препараты: экстракт корней женьшеня китайского сухого (внутрижелудочно, 5 мг/кг); экстракт корневища

элеутерококка колючего сухой (внутрижелудочно, 10 мг/кг); экстракт корней радиолы розовой сухой (внутрижелудочно, 1 мг/кг) и т.д. В наших экспериментах в качестве препарата сравнения был выбран доступный для нас аптечный лекарственный препарат: экстракт радиолы розовой (официальный препарат 1:1) (в дальнейшем радиолы розовой). В настоящее время разработан проект фармакопейной статьи на виды сырья, содержащие фенилпропаноиды, которые вошли в Государственную фармакопею Российской Федерации 23 издания, в том числе ФС 2.5.0036.15 «Родиолы розовой корневища и корни» (Куркин В.А. и соавт., 2016).

В наших опытах мы исследовали адаптогенные свойства пропоцинка на нескольких моделях, которые в данное время были доступны к выполнения задач в наших условиях. Согласно Новикову В.С., 2021 и соавторами, наиболее часто об адаптогенной активности препаратов судят по их способности повышать экспресс адаптации к гипоксической гипоксии (Новиков В.С. и соавт., 2021).

Опыты проводили на белых крысах массой 180-220 г и белых мышках массой 18-22 г. В каждой серии после рандомизации было по 6 животных. Все препараты вводили внутрижелудочно, а контрольной серии вводили аналогичной объем крахмального клейстера. Животные были разделены на 10 экспериментальных групп, каждая из которых подвергалась одинаковым моделям воздействия. Первая группа состояла из интактных животных, которые не подвергались никакому внешнему воздействию. В контрольной группе, второй по счету, животным ежедневно вводили крахмальный клейстер в дозе 5 мл/кг в течение пяти дней. В третьей группе крысам однократно вводили пропоцинк в количестве 1 мл/кг массы тела. В четвертой группе препарат вводился в той же дозировке, но на протяжении 5 дней подряд. Пятая и шестая группы состояли из животных, которым также вводили пропоцинк, но в более высокой дозе — 5 мл/кг массы тела, при этом способ введения оставался внутрижелудочным. Животные из седьмой, восьмой, девятой и десятой групп получали препарат сравнения — родиолу розовую. В седьмой и

восьмой группах родиола вводилась в дозе 1 мл/кг массы тела однократно на протяжении 5 дней, тогда как в девятой и десятой группах её дозировка увеличивалась до 5 мл/кг, также вводимая однократно на протяжении 5 дней.

5.1. Влияние пропоцинка на устойчивость животных к кислороддефицитным состояниям различного происхождения.

5.1.1. Нормобарическая гипоксия с гиперкапнией

В лабораторных условиях была смоделирована нормобарическая гипоксия, характеризующаяся гипоксемией и гиперкапнией при сохранении нормального общего барометрического давления. Для этого искусственно понижали парциальное давление кислорода в вдыхаемом воздухе. Данная модель создавалась путем помещения животных под стеклянным колпаком с притертым низом и расположенном на стеклянной основе. Герметичность создавалась за счет нанесения вазелина между двумя основами. Сравнение действия пропоцинка проводили в сравнении с экстрактом родиолы розовой (официальный препарат 1:1). Всех животных распределили на десять групп, каждая из которых представляла отдельную серию эксперимента. Первая и вторая группы состояли из интактных животных и контрольной группы соответственно. Животным контрольной группы ежедневно в течение пяти дней вводили крахмальный клейстер в одинаковом объеме тем же способом, обеспечивая стандартизированное воздействие. Третья и четвертая группы крысам однократно внутрижелудочным путем вводили пропоцинк по дозировкам 1 и 5 мл/кг массы тела. В отличие от них, пятая и шестая группы получали тот же препарат и те же дозировки, но введение осуществлялось ежедневно на протяжении пяти дней, что позволяло оценить как однократное, так и повторное воздействие пропоцинка. Седьмая по десятую группы включали белых крыс, которым внутригрудным путем вводили экстракт родиолы розовой. В седьмой и восьмой группах экстракт применяли однократно по дозам 1 и 5 мл/кг массы тела, тогда как в девятой и десятой группах крысам назначали тот же экстракт в тех же дозах, но ежедневно в течение пяти дней. Все препараты вводились на основе крахмального

клеястера. При однократном введении вводили все вещества за 45 минут до опыта, а при многократном приеме последнее введение веществ, проводили за 60 минут до начала эксперимента. Такой подход позволял сравнить эффекты экстракта родиолы розовой при различной частоте введения.

Исследования показали, что при внутрижелудочном введении пропоцинка и родиолы розовой в дозах 1 и 5 мл/кг массы тела, белые крысы значительно увеличивают продолжительность жизни в условиях гипоксической гиперкапнии. Особенно выраженный эффект удлинения жизни наблюдался у животных, которым однократно вводили пропоцинк в дозе 5 мл/кг, а также у тех, кто получал препарат многократно в дозах 1 и 5 мл/кг массы. В этих группах продолжительность жизни увеличилась на 16–21% по сравнению с контрольной группой. (таблица 5.1.).

Таблица 5.1.-Сравнительное влияние пропоцинка и экстракта родиолы розовой на выживаемость белых крыс при гипоксической гиперкапнии

Исследуемые вещества	Дозы в мл/кг	Однократное внутрижелудочное введение		Пятидневное внутрижелудочное введение	
		Кол-во животных в серии	Продолжительность жизни животных, в мин	Кол-во животных в серии	Продолжительность жизни животных, в мин
Интактные	0	6	125,17 ± 10,78		
Контрольные (крахмальный клейстер), в/ж, в течение 5 дней	5 мл/кг	6		6	124,17 ± 8,57
Пропоцинк	1 мл/кг	6	140,17 ± 15,57	6	147,00 ± 14,91*
Пропоцинк	5 мл/кг	6	144,50 ± 11,31*	6	150,50 ± 15,15*
Экстракт родиолы розовой (официальный препарат) (1:1)	1 мл/кг	6	137,33 ± 13,52	6	144,33 ± 11,52*
Экстракт родиолы розовой (официальный препарат) (1:1)	5 мл/кг	6	143,00 ± 14,72*	6	146,33 ± 11,40*

Наибольшее удлинение жизни белых крыс было зафиксировано в се-рии, получавших пропоцинк по 5 мл/кг массы тела в течение пяти дней, что привело к увеличению продолжительности жизни на 21% ($p < 0,05$). Схожие результаты были получены при введении родиолы розовой, где продолжи-тельность жизни увеличилась на 15–18% ($p < 0,05$). Максимальный эффект в этой категории наблюдался у крыс, которым экстракт родиолы розовой вво-дили по 5 мл/кг массы тела в течение пяти дней, что обеспечило увеличение продолжительности жизни на 18% ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты эксперимента на модели гипоксической гиперкапнии у белых крыс показывают, что пропоцинк и экстракт родиолы розовой удлиняют жизни животных и оказывают адаптогенное действие.

5.1.2. Гемическая гипоксия

Модель гемической гипоксии основана на использовании веществ, превращающих гемоглобин в метгемоглобин. В настоящее время известны огромное количество веществ и соединений, которые выключают гемоглобин из процесса переноса кислорода путем окисления молекулы атома железа в его составе. В результате наступает нехватка кислорода в котором нуждаются клетки и нарушается окислительно-восстановительный процесс. Наступает фаза накопления недоокисленных продуктов и гипоксия тканей и клеток организма. При продолжительном нехватке кислорода наступает гибель клеток. Общий принцип переноса кислорода в крови описан во многочисленных руководствах. Метгемоглобинообразователи тормозят кислородную функция гемоглобина и вызывают гемическую (кровяную) гипоксию. Нитрит натрия при взаимодействии с гемоглобином, образует метгемоглобин, который не может переносить кислород. Симптомы отравления возникают при повышении содержания метгемоглобина в крови до 30%, а при достижении 50% уровня, наступает летальный исход (Жадан О.Н. и соавт., 2017).

Животные были распределены на 10 серий где исследовалось действие пропоцинка в сравнении с экстрактом родиолы розовой. Характер введения, дозировка и серии были аналогичны предыдущему эксперименту. Первую

серию составили животные интактные, а вторая серия составила контрольной серии, где животным вводился внутрижелудочно крахмальный клейстер. Третья и четвертая серия животных получали пропоцинк в дозах 1 и 5 мл/кг массы внутрижелудочно, а пятая и шестая серии получали аналогичным образом экстракт родиолы розовой .

В отличие от гипоксической гиперкапнии, которая вызывалась путем размещения животных в закрытом безкислородном пространстве, в этом опыте гемическая гипоксия вызывалась путем однократного внутрибрюшинного введения нитрита натрия. Как следует из данных таблиц 5.2, однократная внутрибрюшинная инъекция нитрита натрия в дозе 350 мг/кг массы вызвала летальный исход у животных в среднем через $17,33 \pm 2,25$ минут (таблица 5.2).

Таблица 5.2.-Сравнительное изучение влияние пропоцинка и экстракта родиолы розовой на выживаемость белых крыс при гемической гипоксии

Исследуемые вещества	Однократное внутрижелудочное введение		Пятидневное внутрижелудочное введение	
	Кол-во животны х в серии	Продолжительнос ть жизни животных, в мин	Кол-во животны х в серии	Продолжительнос ть жизни животных, в мин
Интактные	6	$17,00 \pm 1,41$		
Контрольные (крахмальный клейстер), 5 мл/кг (в/ж) в течение 5 дней + 350 мг/кг нитрита натрия, в/б			6	$17,33 \pm 2,25$
Пропоцинк, 1 мл/кг (в/ж), однократно + 350 мг/кг нитрита натрия, в/б	6	$22,00 \pm 2,00^*$	6	$23,17 \pm 2,48^*$
Пропоцинк 5 мл/кг (в/ж), однократно+ 350 мг/кг нитрита натрия, в/б	6	$22,83 \pm 1,47^*$	6	$23,83 \pm 0,98^*$
Экстракт родиолы розовой (официальный препарат) (1:1)1мл/кг(в/ж),однократ но+ 350 мг/кг нитрита натрия, в/б	6	$21,00 \pm 1,90$	6	$22,33 \pm 2,25^*$
Экстракт родиолы розовой(официальный препарат) (1:1),5мл/кг (в/ж), однократно+ 350 мг/кг нитрита натрия, в/б	6	$21,17 \pm 2,32$	6	$23,00 \pm 1,79^*$

У животных контрольной серии в отличие от интактной серии внутрижелудочно вводили крахмальный клейстер и обе серии получали внутрибрюшинно гематотоксин. В среднем в обеих сериях отличие в сроках летальности практически не наблюдалось ($17,33 \pm 2,25$ и $17,00 \pm 1,41$ минут). Предварительное введение пропоцинка и родиолы розовой оказывают протективное действие и удлиняют продолжительность жизни животных. Предварительное внутрижелудочное введение пропоцинка в дозах 1 и 5 мл/кг массы в однократной дозе и за один час до инъекции гематотоксина удлиняло продолжительность жизни на 27% и 32% (3 и 4 серия животных соответственно) по сравнению с контролем. Пятидневное введение пропоцинка способствовало еще большему удлинению продолжительности жизни у белых крыс (5 и 6 серия и соответственно на 32% и 38%). Аналогичным образом удлиняет жизни животных экстракт родиолы розовой (7,8, 9 и 10 серии эксперимента). Достоверное удлинение жизни животных на 29% и 33% ($p < 0,05$) наблюдалось в 8 серии (экстракт родиолы розовой вводился по 1 мл/кг массы в течение 5 дней) и 10 серии животных (экстракт родиолы розовой вводился по 5 мл/кг массы в течение 5 дней).

Таким образом, результаты эксперимента показывают, что пропоцинк оказывает активное антигипоксическое действие. Наиболее выраженное действие, пропоцинк, как и экстракт родиолы розовой оказывает при длительном введении.

5.2. Исследование актопротекторной активности пропоцинка

5.2.1. Оценка действия пропоцинка на физическую выносливость

Исследование влияния пропоцинка на физическую выносливость проводили на 60 белых мышах весом 18-22 г. Эксперименты велись в больших аквариумах (60x30x30 см), которые наполовину были заполнены водопроводной водой с температурой воды 16-17⁰С. Животным к корню хвоста был прикреплен груз составляющий от 10% массы тела. Из каждой серии по 1 животному были запущены в свободное плавание до момента наступления погружения на дно аквариума. Время от начала до

наступления утопления было фиксировано и считается, как продолжительность плавания у белых мышей. Полученные результаты эксперимента представлены в таблица 5.3. В ходе исследования было установлено, что продолжительность плавания интактных крыс ($16,00 \pm 0,89$) практически совпадает с показателями контрольной группы, которой в течение пяти дней вводили крахмальный клейстер по 5 мл/кг массы тела ($15,50 \pm 1,87$). Между крысами из серий 3, 7 и 9, получавшими однократно пропоцинк в дозе 1 мл/кг массы или экстракт родиолы розовой в дозах 1 и 5 мл/кг массы, статистически значимых различий не выявлено.

Таблица 5.3.-Сравнительное влияние пропоцинка и экстракта родиолы розовой на продолжительность плавания белых мышей

Исследуемые вещества	Дозы в мл/кг	Однократное внутрижелудочное введение		Пятидневное внутрижелудочное введение	
		Кол-во животных в серии	Продолжительность плавания животных, в мин	Кол-во животных в серии	Продолжительность плавания животных, в мин
Интактные	0	6	$16,00 \pm 0,89$		
Контрольные (крахмальный клейстер), в/ж, в течение 5 дней	5 мл/кг			6	$15,50 \pm 1,87$
Пропоцинк	1 мл/кг	6	$21,17 \pm 2,67$	6	$23,50 \pm 2,35^*$
Пропоцинк	5 мл/кг	6	$21,83 \pm 1,72^*$	6	$24,00 \pm 1,67^*$
Экстракт родиолы розовой (официальный препарат) (1:1)	1 мл/кг	6	$20,33 \pm 1,75$	6	$22,17 \pm 2,48^*$
Экстракт родиолы розовой (официальный препарат) (1:1)	5 мл/кг	6	$21,50 \pm 2,59$	6	$22,67 \pm 2,42^*$

Однако, применение пропоцинка в различных дозировках и режимах введения существенно увеличивало продолжительность плавания белых мышей: однократное введение 5 мл/кг массы привело к увеличению времени плавания на 41%, пятиразовое введение по 1 мл/кг массы — на 52%, а многократное введение 5 мл/кг массы — на 55% ($p < 0,05$). Аналогично, экстракт родиолы розовой, вводимый однократно в дозе 5 мл/кг массы или многократно по 1 и 5 мл/кг массы, повысил продолжительность плавания на 39–46% ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты экспериментальных исследований демонстрируют, что пропоцинк, а также экстракт родиолы розовой удлиняют продолжительность плавания белых мышей и это действие лучше проявляется при длительном введении препаратов.

Глава 6. Противовоспалительные свойства пропоцинка

Патофизиологические аспекты воспалительного процесса достаточно глубоко разработаны (The 12thWorldCongressonInflammation., 2015; Астраханцева И.В. и др.2020; Майбородин И.В и др. 2019; Туманов А.В. и др. 2020) и имеются общепринятые методики по изучению противовоспалительного действия таких веществ (Миронова А.Н. и др. 2012; Хабриева Р.У. и др., 2005). Эти обстоятельства способствуют в настоящее время поиску новых лекарственных веществ природного происхождения с противовоспалительной активностью.

Сироп пропоцинка представляет собой смесь прополиса с сульфатом цинка и в 100 мл сиропа содержится: активное вещество – экстракт прополиса - 10 г (1:10) (экстрагент:80 % этиловый спирт) и 100 мг цинк сульфата, а также вспомогательные вещества: натрия бензоат, сироп сахарозы раствор 67%, лимонной кислоты моногидрат, вода очищенная. Плотность сиропа пропоцинка составляет 1,446, сухой остатка сиропа равняется 60-71% (таблица 6.1.).

Таблица 6.1.-Физико – химические свойства сиропа пропоцинка

Наименованные веществ	Цвет	Запах	Сухой остаток в %	Плотность
Водный настой прополиса	Жёлто-зелёный	Нежный ароматный	15-16	1,329
Спиртовой настой прополиса	Коричневый	Слегка ароматный	35-38	1,335
Сироп "Пропоцинк"	Бледно жёлтый	Слегка ароматный	60-71	1,446

Эксперименты по изучению противовоспалительных свойств пропоцинка выполнены на 150 белых крысах обоего пола массой тела 200-230 г. Противовоспалительное действие пропоцинка изучали на различных моделях воспалительного процесса и всех фазах воспалительной реакции (альтерация, экссудация и пролиферация) согласно требованиям и методам по изучению противовоспалительных свойств веществ (Миронова А.Н.. и др., 2012; Хабриева Р.У. и др.,2005).

Для изучения антифлогистического действия пропоцинка на начало воспалительного процесса использовали модель острого асептического воспаления (соответствующей альтеративной фазе процесса) путем вызова альтерации тканей подкожным введением 0,5 мл 9% уксусной кислоты с одновременным введением раствора декстрана в дозе 300 мг/кг внутривнутрибрюшинно и изучение интенсивности процессов регенерации по динамике заживления кожно-мышечного дефекта. Объем пораженной ткани измеряли планиметрически на 7,14 и 21 сутки после введения повреждающего фактора. В эксперименте, направленном на оценку защитного действия пропоцинка на кожу белых крыс, препарат вводили внутривнутрижелудочно в дозах 0,5, 1 и 2 мл/кг массы тела. За один час до подкожной инъекции уксусной кислоты, служившей моделью для индуцирования кожных повреждений, животные получали пропоцинк, после чего его введение продолжали ежедневно в течение 21 дня. Эффективность препарата оценивали по степени уменьшения повреждений кожных покровов. Для сравнительного анализа использовали диклофенак, который вводили аналогичным образом внутривнутрижелудочно в дозе 10 мг/кг массы тела.

По результатам проведенных исследований были установлены следующие значения LD50 для белых крыс: при использовании метода Кербера показатель составил 15,75 мл/кг массы тела, пробит-анализ в программе Excel дал результат 16,12 мл/кг, а анализ, выполненный с помощью IBM SPSS Statistics Version 23, показал значение 15,29 мл/кг (с диапазоном от 13,60 до 17,08 мл/кг) (таблица 6.2). Как видно из приведенных данных таблицы вычисленные показатели по разным методикам не имеют существенное отличие и находятся очень близко друг от друга. Вычисленные показатели по методикам Кербера (15,75 мл/кг массы) и по методу пробит анализа на базе программы IBM SPSS Statistics Version23 (15,29) практически не отличаются друг от друга, хотя показатели вычисленные на базе программы Excel немного завишают этих результатов.

Среднее значение LD50 для белых крыс, вычисленное по результатам трёх различных методов, составило 15,72 мл/кг массы тела. В дальнейшем исследовании изучалось влияние пропоцинга на животных при введении доз, которые составляли 1/30, 1/20 и 1/10 от указанного среднего значения летальной дозы. Это соответствовало дозировкам 0,5 мл/кг, 1 мл/кг и 2 мл/кг массы тела соответственно.

Таблица 6.2. Показатели LD₅₀ у белых крыс проведенным различными методами (метод Кербера, пробит анализом (на базе программы Excel и IBM SPSS Statistics Version 23))

Метод Кербера		Пробит - анализ в программе Excel		Пробит - анализ в программе IBM SPSS Statistics Version 23	
Показатели	Значение	Показатели	Значение	Показатели	Значение
	мл/кг		мл/кг		мл/кг
LD50	15,75	LD50	16,12	LD50	15,29

По подсчетам проведенными нами и указанные в таблице, для удобства эксперимента это составило 0,5 мл/кг массы тела, 1 мл/кг массы тела и 2 мл/кг массы тела, что и составило в пропорциях 1:31 часть; 1:16 часть и 1:8 часть соответственно, что теоритически приближается к вышеописанным пропорциям (1:30, 1:20 и 1:10 части)(таблица 6.3.).

Таблица 6.3.- Показатели и подбор дозы вводимых препаратов белым крысам из расчета LD₅₀

Показа тели	Часть от усередненного показателя LD ₅₀ на базе трех методик (15,72)	Часть от LD ₅₀ приближенная к десятичному значению
0,5	31	30
1	16	20
2	8	10

Для белых крыс LD₅₀ составил 15,72 мл/кг массы тела (усреднённое значение от LD₅₀, который был определен тремя разными методами: методом Кербера, пробит-анализом в программе Excel 2010

и IBM SPSS Statistics Version 23. Доза 0,5 мл/кг массы пропоцинка составила 1/31 части от LD50, дозы 1 мл/кг массы и 2 мл/кг массы пропоцинка составили соответственно 1/20 части и 1/30 части от средне смертельной летальной дозы. Для сравнения использовался диклофенак, который применялся в дозе 10 мг/кг массы тела. Эта дозировка была рассчитана как 1/80 часть от средней смертельной дозы пропоцинка, используя метод интерполяции на основе данных, представленных в литературных источниках (Акулина И.В. и др., 2011). Такой подход позволил оценить относительную токсичность и эффективность пропоцинка по сравнению с известным противовоспалительным препаратом.

Таблица 6.4.-Сопоставимости дозы диклофенака и пропоцинка на основе вычисленных показателей средней смертельной дозы и литературных источников

Вещество	Часть от LD50	мг/кг
Диклофенак	1/30 часть от LD50	23,6
	1/80 часть от LD50	10
Вещество	Часть от LD50	мл/кг
Пропоцинк	1/10 часть от LD50	2
	1/20 часть от LD50	1
	1/30 часть от LD50	0,5

Дозы 23,6 мг/кг массы тела для диклофенака и 0,5 мл/кг массы тела для пропоцинка составляющие 1/30 части от средне смертельной летальной дозы были наиболее сопоставимы для сравнительного анализа противовоспалительных действий обоих препаратов. Однако учитывая сравнительно сильную сторону противовоспалительного действия диклофенака и учитывая его синтетическое происхождения, нами для приемлемого изучения сравнительных свойств была выбрана доза 10 мг/кг массы тела для диклофенака и все дозы указанные в таблице для пропоцинка (таблица 6.3. и 6.4).

На экссудативную фазу воспалительного процесса влияние пропоцинк изучали методом субплантарного введения флогогенных агентов (гистамин, серотонин, формалин). Формалин вводили субплантарно в объеме 0,1 мл 2% раствора, гистамин в объеме 0,1 мл 0,1% раствора, серотонин в объеме 0,1 мл 0,01%. Критерием оценки служил объем воспаленной лапки после введения флогогенных агентов через определенный промежуток времени. Измерение объема воспаленной лапки животных проводили онкометрическим методом. Пропоцинк вводили внутривентриально за 1 час до опыта однократно (модель гистаминовая, серотониновая) и в течение 3 дней (формалиновая модель) в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела внутривентриально.

Хроническое пролиферативное воспаление моделировали путем имплантации под кожу спины животных простерилизованных ватных шариков общей массой 10 мг. Участок кожи предварительно очищали от шерсти размером 2,5x2,5 см. Животным под барбитуровым наркозом с соблюдением асептики проводился разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 1 см вдоль позвоночника по верхне-наружной поверхности спины и тупым путем формировали полость для простерилизованных ватных шариков. На кожу после имплантации наложили несколько швов и обработали рану раствором йода. Через 8 дней от начала имплантации ватных шариков животных умерщвляли (парами этилового эфира в эксикаторе) и извлекали ватные шарики с образовавшейся гранулемой вокруг них. Шарики после извлечения взвешивали на торсионных весах и затем высушивали до постоянной массы при 60°C и повторно взвешивали на тех же весах. Животные были распределены на четыре серии по 6 животных в каждой серии. В течение 7 дней животным опытных серий однократно внутривентриально вводили пропоцинк в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы эквивалентных дозам исходя из средней смертельной дозы (1/30 от LD₅₀, 1/20 от LD₅₀, 1/10 от LD₅₀), а животным контрольной серии по той же схеме вводили дистиллированную воду в дозе 2 мл/кг массы тела. Животным группы сравнения вводили диклофенак в дозах, эквивалентных по токсичности (1/80 от LD₅₀, соответственно 10 мг/кг массы тела). Эффективность препарата

на пролиферативную фазу оценивали по разнице между массой влажной и сухой гранулемы и исходной массы ватного шарика, а экссудативную по разнице между массой влажной и высушенной гранулемы.

6.1. Исследование влияние пропоцинка на фазу альтерации

Чтобы исследовать влияние пропоцинка на фазу альтерации у белых крыс, проводили введение препарата внутрижелудочно в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела за час до применения флогогенных агентов, причём процедуры проводились на 7-й, 14-й и 21-й дни эксперимента для отслеживания динамики эффекта. В качестве контрольного препарата для сравнительного анализа использовали диклофенак—широко известное противовоспалительное средство—который также вводили внутрижелудочно, но в фиксированной дозе 10 мг/кг массы тела. Динамика изменения площади повреждения кожи у белых крыс показаны в таблице 6.5.

Таблица 6.5.-Влияние пропоцинка при в/ж введении на альтерацию и регенерацию при остром асептическом воспалении у белых крыс

Серия опытов и дозы	Число животных в группе	Прирост объема,%	Площадь альтерации в мм.кв.		
			7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
Контроль	6	Площадь некротизированной ткани, см.кв	412,55±21,6	264,57±18,7	161,95±18,4
Пропоцинк 0,5 мл/кг + уксусная кислота 0,5 мл 9% раствор	6	Площадь некротизированной ткани, мм.кв	343,46±23,9	220,34±18,5	125,56±15,6
		Степень уменьшения повреждения кожных покровов, %	17	17	22
Пропоцинк 1 мл/кг + уксусная кислота 0,5 мл 9% раствор	6	Площадь некротизированной ткани, мм.кв	329,42±18,5*	198,39±16,4*	119,59±13,5
		Степень уменьшения повреждения кожных покровов, %	20	25	26
Пропоцинк 2 мл/кг + уксусная кислота 0,5 мл 9% раствор	6	Площадь некротизированной ткани, мм.кв	298,54±17,9*	162,49±13,5*	102,26±10,4*
		Степень уменьшения повреждения кожных покровов, %	28	39	37

Продолжение таблицы 6.5

Диклофенак 10 мг/кг + уксусная кислота 0,5 мл 9% раствор	6	Площадь некротизированной ткани, мм.кв	211,35±21,3*	121,59±14,5*	78,24±12,7*
		Степень уменьшения повреждения кожных покровов, %	49	54	52

Примечание.*- различия достоверны при $P < 0,05$: - по отношению к контролю

Данные таблицы свидетельствуют, что во всех испытуемых дозах опытных серий и препарата сравнения идет в той или иной степени ограничение повреждения тканей в очаге воспаления и заживления раневой поверхности. Пропоцинк при внутрижелудочном введении в дозе 1 и 2 мл/кг массы тела достоверно уменьшает площадь раны на все сроки исследования. Пропоцинк введенный в дозе 1 мл/кг массы уменьшает степень повреждения тканей на 20 -26%, а в дозе 2 мл/кг массы тела на 28 – 39%. Диклофенак введенный таким же образом в дозе 10 мг/кг массы тела уменьшает на все сроки исследования площади повреждения более чем на половину (таблица 6.5).

6.2. Исследование влияние пропоцинка на фазу экссудации

Влияние пропоцинка на экссудативную фазу воспаления исследовали на бе-лых крысах, вводя флогогенные агенты — гистамин, серотонин и формалин — под апоневроз задней лапки. Результаты этих исследований приведены в таблицах 6.6.-6.8. и рисунок 6.1. В результате проведенных исследований было установлено, что при дозировке пропоцинка 2 мл/кг массы тела наблюдалось значительное уменьшение воспалительного отёка лап у животных на 30–55% на всех этапах наблюдения. Препарат проявил надёжные противовоспалительные свойства при использовании со всеми перечисленными агентами. Однако наиболее выраженный эффект отмечался при формалиновом отёке во всех применённых дозах (таблица 6.7), тогда как при введении гистамина противовоспалительное действие было наименее заметным. В то же время введение пропоцинка в меньшей дозе — 0,5 мл/кг мас-сы тела — приводило к уменьшению отека лапок на 20–29%, однако эти из-менения не были статистически значимыми ($p > 0,05$) по сравнению с кон-трольной группой

животных (таблица 6.6). Установлено, что прирост объема лапок отмечается сильно в первые часы опыта. Максимальное увеличение отека лапок наблюдается при введение гистамина и серотонина через 1 час от начала введения, а при формалиновой модели через 24 часа от начала под апоневрозного введения последнего (рисунок 6.1).

Установлено, что при внутрижелудочном введение пропоцинка за час до введения гистамина препарат оказывает заметное противовоспалительное действие.

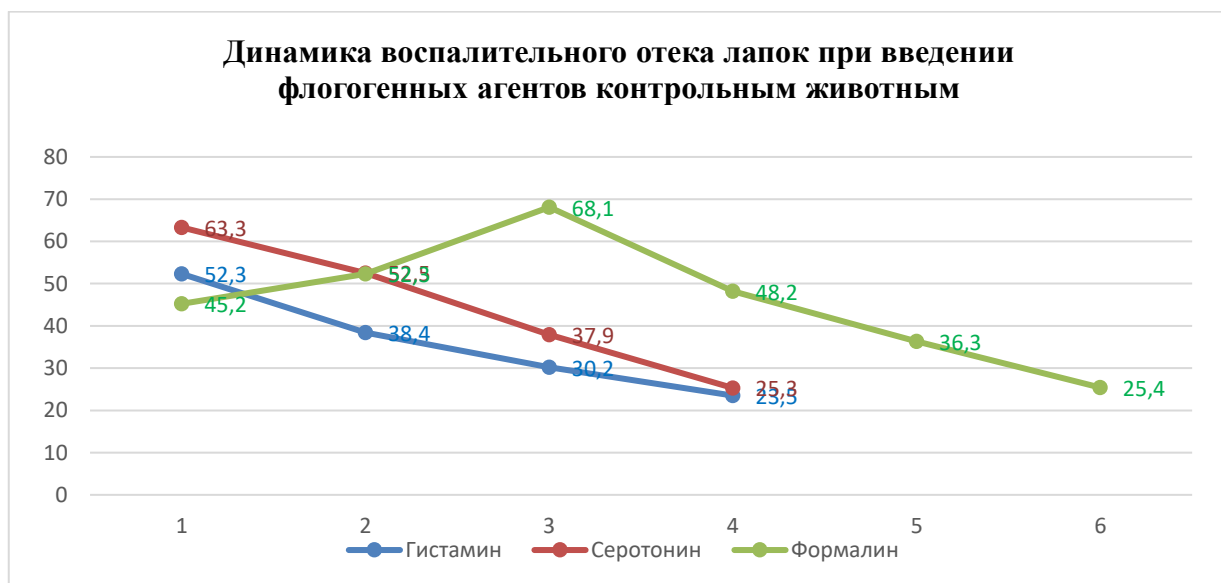


Рисунок 6.1.-Динамика нарастания отека лапок после введения флогогенных агентов (гистамин 0,1 мл 0,1% раствора, серотонин 0,1 мл 0,01% раствора и формалин 0,1 мл 2% раствора)

У контрольной серии крыс прирост объема лапок через час был максимальным ($52,3 \pm 5,6\%$), а у животных, которые получали пропоцинк в дозе 0,5 мл/кг массы отек лапок при измерении составил $41,9 \pm 4,9\%$ ($P > 0,05$), в серии, где пропоцинк вводили в дозе 1 мл/кг массы и 2 мл/кг массы степень нарастания отека лапок был резко уменьшен и составил соответственно $38,3 \pm 3,6\%$ и $36,5 \pm 4,1\%$. При введении пропоцинка в дозе 2 мл/кг массы тела наблюдалось значительное снижение отёка лап у животных на всех этапах исследования. В начале эксперимента, спустя 1 час, отёк уменьшался на 30%, а к концу наблюдения, через 6 часов, снижение достигало 55%. Несмотря на то

что пропоцинк проявляет более выраженное противоотечное действие на поздних стадиях после введения флогогенного агента, его эффективность во все периоды наблюдения остаётся ниже, чем у диклофенака. Однако при гистаминовом отеке отмечается активное антифлогогенное действие пропоцинка (таблица 6.6).

Внутрижелудочное введение пропоцинка в дозах 0,5;1 и 2 мл/кг массы оказывало активное тормозящее действие на серотониновый отек лапок у белых крыс.

Таблица 6.6.-Влияние пропоцинка на экссудативную фазу воспаления у белых крыс на моделях гистаминового отека

Серия опытов и дозы	Число животных в группе	Прирост объема, %	Прирост объема лапок в процентах к исходному после введения гистамина, через, ч			
			1	2	3	6
Контроль	6	Прирост объема отечной лапки, %	52,3±5,6	38,4±7,2	30,2±5,2	23,5±4,6
Пропоцинк 0,5 мл/кг + гистамин 0,1 мл 0,1% раствор	6	Прирост объема отечной лапки, %	41,9±4,9	29,8±3,5	22,4±3,6	16,8±3,2
		Степень угнетения отека лапки, %	20	22	26	29
Пропоцинк 1 мл/кг + гистамин 0,1 мл 0,1% раствор	6	Прирост объема отечной лапки, %	38,3±3,6	25,3±3,7	15,4±3,1*	11,9±2,9
		Степень угнетения отека лапки, %	27	34	49	49
Пропоцинк 2 мл/кг + гистамин 0,1 мл 0,1% раствор	6	Прирост объема отечной лапки, %	36,5±4,1*	24,9±3,9	15,8±3,0*	10,5±2,5*
		Степень угнетения отека лапки, %	30	35	48	55
Диклофенак 10 мг/кг+ гистамин 0,1 мл 0,1% раствор	6	Прирост объема отечной лапки, %	33,7±4,9*	20,2±3,8*	13,5±2,7*	9,7±2,1*
		Степень угнетения отека лапки, %	36	47	55	59

Примечание.*- различия достоверны при $P < 0,05$: - по отношению к контролю.

Наиболее активно на воспаление воздействует пропоцинк в дозе 2 мл/кг массы тела, где отек лапок уменьшается на 13,2-31,5% ($P<0,05$), в дозах 0,5 и 1 мл/кг массы наблюдается уменьшение отека лапок в пределах 17-31% ($P>0,05$) и 22-51% ($P<0,05$). Диклофенак проявляет сильное противовоспалительное действие и подавляет нарастание отека лапок в пределах 50-68% ($P<0,05$) (таблица 6.7).

Таблица 6.7.-Влияние пропоцинка на экссудативную фазу воспаления у белых крыс в модели серотонинового отека

Серия опытов и дозы	Число животных в группе	Прирост объема, %	Прирост объема лапок в процентах к исходному после введения серотонина, через, ч			
			1	2	3	6
Контроль	6	Прирост объема отеочной лапки, %	63,3±7,1	52,5±5,4	37,9±4,2	25,3±3,1
Пропоцинк 0,5 мл/кг + серотонин 0,1 мл 0,01% раствор	6	Прирост объема отеочной лапки, %	43,5±4,9*	41,5±4,8	31,3±3,9	20,8±2,9
		Степень угнетения отека лапки, %	31	21	17	18
Пропоцинк 1 мл/кг + серотонин 0,1 мл 0,01% раствор	6	Прирост объема отеочной лапки, %	30,9±3,3*	36,7±3,5*	29,6±3,1	15,4±2,5*
		Степень угнетения отека лапки, %	51	30	22	39
Пропоцинк 2 мл/кг + серотонин 0,1 мл 0,01% раствор	6	Прирост объема отеочной лапки, %	30,5±3,2*	31,5±3,4*	22,5±2,8*	13,2±2,2*
		Степень угнетения отека лапки, %	52	40	41	48
Диклофенак 10 мг/кг+ серотонин 0,1 мл 0,01% раствор	6	Прирост объема отеочной лапки, %	31,9±4,8*	21,3±3,7*	12,2±2,8*	8,5±1,9*
		Степень угнетения отека лапки, %	50	59	68	66

Примечание.*- различия достоверны при $P<0,05$: - по отношению к контролю.

Для исследования влияния пропозинка на экссудативную фазу воспаления применялась модель формалинового отека лапок у белых крыс. Степень выраженности отека оценивалась измерением объема лапок онкометрическим методом (таблица 6.8).

Таблица 6.8.-Влияние пропозинка на экссудативную фазу воспаления у белых крыс в моделях формалинового отека

Серия опытов и дозы	Число животных в группе	Прирост объема, %	Прирост объема отежной конечности в процентах к исходному после введения формалина, через, ч					
			3	6	24	48	72	96
Контроль	6	Прирост объема отежной лапки, %	45,2±5,1	52,3±6,2	68,1±6,4	48,2±5,6	36,3±4,1	25,4±3,7
Пропозинк 0,5 мл/кг + формалин 0,1 мл 2% раствор	6	Прирост объема отежной лапки, %	28,5±2,7*	39,4±4,7	49,4±4,9*	41,2±4,5	20,8±2,7*	19,2±2,2
		Степень угнетения отека лапки, %	37	25	27	15	43	24
Пропозинк 1 мл/кг + формалин 0,1 мл 2% раствор	6	Прирост объема отежной лапки, %	22,1±2,2*	31,4±3,8*	40,2±4,1*	33,5±4,2	19,4±2,8*	14,3±2,4*
		Степень угнетения отека лапки, %	51	40	41	30	47	44
Пропозинк 2 мл/кг + формалин 0,1 мл 2% раствор	6	Прирост объема отежной лапки, %	22,3±2,8*	30,4±3,2*	39,5±3,8*	29,4±3,5*	22,5±3,1*	13,1±2,2*
		Степень угнетения отека лапки, %	51	42	42	39	38	48
Диклофенак 10 мг/кг+ формалин 0,1 мл 2% раствор	6	Прирост объема отежной лапки, %	20,1±2,9*	25,4±3,4*	33,9±4,0*	23,4±3,6*	18,5±2,9*	10,1±2,1*
		Степень угнетения отека лапки, %	56	51	50	51	49	60

Примечание.*- различия достоверны при P<0,05: - по отношению к контролю.

Измерения проводились как до введения провоспалительного агента, так и через 3, 6, 24, 48, 72 и 96 часов после инъекции формалина под субплантарный апоневроз. Пропоцинк вводился внутривентрально в дозах 0,5; 1 и 2 мл/кг массы тела за один час до введения формалина. В ходе эксперимента после инъекции формалина у белых крыс на 3-й час наблюдался отек лапок, достигающий $45,2 \pm 5,1\%$. Со временем отек постепенно усиливался, достигнув максимума в $68,1 \pm 6,4\%$ через 24 часа. Пропоцинк продемонстрировал эффективное и статистически значимое снижение объема отека лапок на всех этапах исследования и при всех применённых дозах. При внутривентральном введении пропоцинка в дозе 0,5 мл/кг массы тела воспалительный отек лапок уменьшился на 15–43% ($P < 0,05$). Более высокие дозы — 1 мл/кг и 2 мл/кг массы тела — обеспечивали снижение отека на 30–51% и 38–51% соответственно ($P < 0,05$). Результаты полученные нами показывают, что пропоцинк в первой половине наблюдения (от начала до конца первых суток) влияет на нарастание отека более эффективно (подавление отека наблюдается на 37% (доза 0,5 мл/кг массы) и на 51% (при введении в дозах 1 и 2 мл/кг массы) ($P < 0,05$). Противовоспалительное действие пропоцинка сохраняется до конца наблюдения (до конца 4 суток).

6.3. Исследование влияния пропоцинка на пролиферативную фазу воспаления

После изучения действия пропоцинка на альтернативную и экссудативную фазы воспаления, нами было проведено исследование по изучению влияния пропоцинка на пролиферативную фазу воспаления (после имплантации ватных шариков (10 мг) под кожу белых крыс). Результаты влияния пропоцинка на хроническую стадию воспаления (пролиферативную стадию) показывают, что пропоцинк во всех дозах и на все сроки исследования проявляет активное противовоспалительное действие. Выраженность пролиферативной фазы воспалительной реакции оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массы ваты, а степень экссудации по разнице между массой влажной и сухой гранулемы на 8 сутки после имплантации ватных шариков. Внутривентральное введение пропоцинка белым

крысам в дозе 0,5 мл/кг массы уменьшает массу гранулем на 32,08%, в дозе 1 и 2 мл/кг массы тела на 42,18% и 46,74% соответственно ($P < 0,05$) (таблица 6.9.). Как видно из данных таблицы отмечается дозозависимое действие сиропа пропоцинк на пролиферативную стадию воспаления. Наиболее сильное отмечается действие пропоцинка в дозе 2 мл/кг массы животных, а наименьшее в дозе 0,5 мл/кг массы животных.

Таблица 6.9.-Влияние пропоцинка на пролиферативную фазу воспаления у белых крыс (по 6 животных в группе)

Серия опытов и дозы	Масса в мг и степень уменьшения массы в %	Имплантант				Степень угнетения образования гранулем, %
		Влажная масса, мг	Сухая масса, мг	Разность массы влажной и сухой гранулемы, мг (влияние на экссудативный процесс)	Разность массы сухой гранулемы и исходной массы, мг (влияние на пролиферацию)	
Контроль (ватный шарик 10 мг)	Масса в мг	305,05±12,32	78,55±6,54	226,55±8,96	68,50±7,95	
Пропоцинк 0,5 мл/кг + ватный шарик 10 мг	Масса в мг	235,32±13,12*	53,32±4,81*	181,98±7,85*	43,32±6,52*	32,08
	Степень уменьшения массы, %	23	32	20	37	
Пропоцинк 1 мл/кг + ватный шарик 10 мг	Масса в мг	210,5±10,23*	45,39±4,12*	165,11±7,21*	35,39±4,32*	42,18
	Степень уменьшения массы, %	31	42	27	48	
Пропоцинк 2 мл/кг + ватный шарик 10 мг	Масса в мг	190,8±7,23*	41,81±4,22*	148,99±6,95*	31,81±4,25*	46,74
	Степень уменьшения массы, %	37	47	34	54	
Диклофенак 10 мг/кг + ватный шарик 10 мг	Масса в мг	150,35±10,25*	38,42±4,21*	111,93±8,62*	28,42±3,56*	51,06±4,98
	Степень уменьшения массы, %	51	51	51	59	

Примечание.*- различия достоверны при $P < 0,05$: - по отношению к контролю.

Исследования показали, что предварительное внутрижелудочное введение пропоцинка обеспечивает значительное и статистически достоверное противовоспалительное действие. Наиболее выраженный эффект против воспаления наблюдался при дозировках пропоцинка, составляющих 1/20 и 1/10 от LD50, что свидетельствует о высокой эффективности препарата в этих дозах. При моделировании острого асептического воспаления пропоцинк проявляет антиальтеративные свойства, способствуя не только снижению воспалительной реакции, но и ускоряя регенерацию повреждённых тканей. Это приводит к более быстрому заживлению кожи и более полному восстановлению патологических процессов.

Глава 7. Обсуждение результатов исследования

Разработка новых лекарственных препаратов, фитопрепаратов и биологически активных добавок составляет основу фармацевтической промышленности, составляет существенную часть дохода бюджета любой страны и главное имеет существенное значение в укреплении здоровья и качества жизни населения.

Требования к лекарственным препаратам заключается в том, что они должны иметь высокую фармакологическую активность, низкую токсичность и финансовую доступность для широких масс населения. Разрабатываются новые природные соединения, выделяются из растительного мира новые активные вещества, на базе этих соединений и суммарных веществ создаются новые лекарственные препараты. Фармацевтическая промышленность Таджикистана находится в период своего становления и формируются начальные этапы его развития. В аспекте быстрой индустризации республики эта часть промышленности становится важной отраслью и привлекательным для отечественных и зарубежных инвесторов. Одним из привлекательных продуктов, которая имеет потенциальную сырьевую базу промышленных масштабов, является прополис. Прополис как известный продукт является перспективным антимикробным и противовирусным препаратом применяемым для комбинированного лечения многих заболеваний, из-за широкого спектра действия. Как известно, в настоящее время разные биоактивные вещества, содержащиеся в растениях, используются в качестве лекарственных препаратов, потому что являются высокоэффективными, обладают широким диапазоном действия и незначительным токсическим воздействием на организм (Шалдаева Т.М., 2013).

В современном арсенале лекарственных препаратов, которые предназначены для лечения больных, не менее 25 % средств приходится на природные препараты растительного происхождения (Булаев ВМ и соавт., 2011).

Исходя из изложенного проведено изучение новой комбинации на

основе природного вещества – прополиса и химического элемента цинка. Данный состав показал, себя безопасным и эффективным, а также перспективным в дальнейшем для изучения и внедрения в лечебно-профилактическую практику. Проведен целый ряд опытов по изучению как химического состава, так и биологической активности прополиса. Разработана технология получения данного состава. Установлено, что химический состав прополиса зависит от растений, климатических зон и факторов, сезона сбора и состояния окружающей среды, местности, где пчелы собирают прополис (Santos, F.A. et al., 2003; Viuda-Martos et al., 2008). В основном он состоит из смолы и растительных бальзамов (50%), воск (30%), эфирных и ароматических масел (10%), пыльцы (5%) и других различных субстанций, которые включают органические соединения и минералы (5%) (Burdock, G.A., 1998; Tytkowski B., 2010). Поэтому изучение токсичности продукта со сложным химическим составом и многообразными фармакологическими свойствами, является важным этапом при рекомендации прополиса в медицинскую промышленность. Многочисленные исследования были посвящены оценке токсических свойств прополиса. В 2007 году Jasprica и соавторы изучали влияние ежедневного потребления прополиса на протяжении 30 дней у здоровых людей. Их выводы показали, что длительный прием этого вещества не оказывает существенного воздействия на какие-либо параметры крови [Jasprica et al., 2007]. Ранее, в 1993 году, Arvouet Grand и коллеги обнаружили, что пероральная ЛД₅₀ прополиса у мышей превышает 7340 мг/кг массы тела. Грубоочищенный этанольный экстракт прополиса был отнесен к классу 5 (ЛД₅₀ > 2000 мг/кг), что соответствует самому низкому уровню токсичности согласно химической классификации острой системной токсичности [OECD, 2002]. Полифенольные соединения, присутствующие в прополисе (Kalia et al., 2013 и Kaur, et al., 2013b), оказывают защитное действие на клеточную мембрану эритроцитов (Youdim et al., 2000). Исследования Hollands et al. (199) в течение 30 дней на мышах показало безвредность прополиса. Спиртовый экстракт прополиса не проявлял токсических проявлений на печень, селезенку,

почки и на головной мозг мышей. Литературные данные подтверждают, что прополис является природным, безвредным продуктом и в некоторых случаях может оказывать существенное протективное действие на органы и системы, так как богат различными природными химическими веществами, которые выполняют защитно-адаптогенную функцию. Имеются сведения о безопасности применения прополиса в экспериментах на различных видах животных. В опытах на собаках (Marin M., 1959) изучалось влияние 10% - ного спиртового экстракта прополиса на уровень артериального давления и на функции дыхания. В данных экспериментах было установлено, что при введении 50 мл спиртового экстракта прополиса животным, наблюдается ускорение пульса и учащение дыхания. Результаты многочисленных исследований на животных подтверждают безопасность прополиса в различных формах и дозах. Так, в экспериментах В.П. Кивалкина (1964) было установлено, что водные и водно-спиртовые экстракты прополиса не вызывают вредных эффектов у белых мышей, морских свинок и кроликов. В другом исследовании (Казаков И.Ф. и соавт., 1960) было обнаружено, что наружное применение 10%-й мази на основе прополиса не оказывает отрицательного влияния на общее состояние, массу тела и репродуктивную функцию животных (Казаков И.Ф. и соавт., 1960). Кроме того, исследования Х. Арипова в 1969 году показали, что прополис безопасен даже при введении в широком диапазоне доз—от 80 мг до 2000 мг на мг массы тела—у белых мышей, крыс и кроликов [Арипов Х., 1969]. Исследование токсичности прополиса при шестимесячном эксперименте на хомяках доказана его безвредность (Деревич А. 1974). Опыты, проведенные на белых крысах показали, что при введении 50%-ной суспензии прополиса не приводит к гематологическим и морфологическим нарушениям у животных (Корчога М. и соавт., 1983). Исследование токсичности прополиса в острых и хронических экспериментах в различных дозах, также доказали безвредность прополиса на функции органов и систем экспериментальных животных (М.Х. Эльназаров, 1987; Arvouet Grandetal., 1993). При введении прополиса (в дозе 50 мг/кг массы тела) патологических изменений не выявлено,

а при совместном применении прополиса (50 мг/кг массы тела) и алюминия хлорида (34 мг/кг массы тела) обнаружено значительное уменьшение токсических проявлений (гено- и гепатотоксичность) алюминия хлорида (HasanTürkezaMokhtaretal., 2010). Водно-спиртовой экстракт прополиса имеет низкую токсичность при внутрижелудочном применении в течение 14 дней (в дозах 1000, 2000 или 4000 мг/кг массы) у мышей. Также не вызывает гибель животных, уменьшает уровень сывороточного аланин аминотрансферазы и алкалин фосфатазы, которые были исследованы по окончании эксперимента (AraújoM.J.A.M. etal., 2010). PreetiKaliac соавт., 2014 исследовали токсическое влияние прополиса на мышцах. При ежедневном введении прополиса в дозах 1, 3 и 5 г/кг массы тела не было отмечено токсического воздействия на животных. При введении спиртового экстракта прополиса в дозах 300, 500 и 1000 мг/кг массы тела в течении 28 дней, не было отмечено токсических воздействий прополиса на мышцах: гистоморфологические исследования органов не обнаружили патологических изменений, биохимические и гематологические показатели были в пределах нормы. Авторами показано, что ЛД₅₀ при изучении острой токсичности больше чем 5 г/кг массы тела. При длительном введении метанолового экстракта прополиса крысам (от 300 до 600 мл/кг массы в течении 21 дня) способствует изменению нормального уровня некоторых биохимических параметров (АСТ и АЛТ) в органах крыс (селезенка, печень, почки и тонкий кишечник) (Shituetal., 2015). Результаты опыта показали, что прополис не обладает генотоксичностью. Для обнаружения потенциального токсического свойства *in vivo* использовали концентрации 0,8-6,3 мг/л. Было обнаружено что ЛД 50 составил 9,37 мг/л. Из 11 компонентов, которые были выделены из прополиса, медикарпин показал селективный цитотоксический эффект против линии клеток HeLa Jennyfer A etal., 2021). Антимутагенное и мутагенное действие прополиса изучалось на тесте с использованием овариальных клеток китайского хомячка. Результаты опыта показали, что прополис при введении в высоких концентрациях оказывает генотоксическое действие, а в низких концентрациях наоборот

проявляет протективное действие при экспериментально вызванной мутации доксорубицином (Lucax Henrique Domingos da Silva et al., 2022).

В наших экспериментах пропоцинк оказался безопасным веществом. В результате проведенных экспериментальных исследований были определены токсикологические свойства пропоцинка при внутрижелудочном введении для белых мышей и крыс. Установлено, что при однократном пероральном введении препарата белым мышам усредненный показатель ЛД₅₀ на основе трех методов определения существенно не отличаются и составил 19,24 мл/кг для белых мышей и 15,72 мл/кг для белых крыс. Полученные нами физиологические, биохимические и морфологические результаты в результате длительного введения пропоцинка (в течение 180 суток) свидетельствуют о том, что пропоцинк в пределах оптимальных терапевтических доз (0,5-2 мл/кг массы тела) не оказывает отрицательного влияния на основные функции внутренних органов и организма животных в целом. Литературные данные о безопасности прополиса и наши данные о комбинации прополиса с цинком (пропоцинк) свидетельствуют о том, что данное вещество является безопасным для применения как при однократном, так и при длительном применении.

В результате изучения пропоцинка установлено, что он обладает выраженной фармакологической активностью. Особенно было интересно изучение действие пропоцинка на адаптационно-приспособительные механизмы организма. К средствам, способным повышать естественную резистентность организма, могут отнесены биологически активные вещества, витамины, лекарственные растения, минеральные добавки и энтеросорбенты (Donnik I. M., 2018), (Cecchini S., et al., 2016), (Царегородцева А. Е. и соавт., 2019). Для современной медицины наиболее интересны в этом плане природные средства, имеющие природную доступность и минимальную стоимость (Донник И. М. и соавт., 2016), (Бодрова О. С. и соавт., 2016), (Кундрюкова У. И. и соавт., 2018), (Шацких Е. В. и соавт., 2018), (Царегородцева А. Е. и соавт., 2019). Кроме того, такие средства местного производства представляют особый интерес (Loretts O. G. et al., 2018),

(Беспамятных Е. Н. и соавт., 2018). К группе средств, которые влияют на повышение естественной резистентности организма, относятся адаптогены. Согласно современной концепции, такими препаратами являются растительные адаптогены (лекарственные растения, богатые биофлавоноидами и широким спектром витаминов); группа минеральных веществ природного происхождения, содержащих комплекс макро- и микроэлементов; органические вещества, обладающие стимулирующими и регулирующими свойствами; группа витаминов, обладающих антиокислительными и восстанавливающими свойствами в отношении функций нервной, иммунной и других систем организма (Шацких Е. В. и соавт., 2016), (Cecchini S. et al., 2019), (Dhama K. et al., 2015), (Mamta J. K. K., 2016).

При изучении влияния пропоцинка на адаптационно-приспособительные защитные механизмы организмов (на различных моделях гипоксии и на переносимости физической нагрузки у животных) установлено, что испытуемые вещества оказывают протективное действие и это действие проявляется лучше, когда они вводятся в течение продолжительного времени и меньше при однократном введении препаратов. Установлено, что курсовое профилактическое введение пропоцинка и экстракта родиолы розовой оказывают стресс-протекторное действие, о чем свидетельствуют удлинение жизни животных при различных формах гипоксии и удлинение продолжительности плавания животных. Защитно-протективное действие пропоцинка проявляется на всех экспериментальных моделях. Сегодня использование новых протективных веществ в условиях повышенного стресса является необходимой частью нашей жизни. Защитные силы человеческого организма имеют тенденцию к ослаблению, где способствующими факторами считаются несбалансированное питание, злоупотребление лекарственными препаратами (в том числе антибиотиками), малоподвижным образом жизни, и различные вредные привычки (табакокурение, алкоголь, наркотики и т.д.). Одним из решений проблемы адаптации человека к новой среде – вполне очевидно, в повышении устойчивости человеческого организма к вредным

факторам внешней среды. Перспективность использования лекарственного растительного сырья, а также продуктов пчеловодства для повышения резистентности организма доказано многочисленными работами. Они обладают антиоксидантной активностью, биостимулирующими и антигипоксическими свойствами при минимально отрицательном воздействии на организм человека (Нечаева Н.Г. и соавт., 2008; Серединцева Н.В. и соавт., 2012).

В современной медицине широко применяются адаптогенны растительного и животного происхождения, такие как корень женьшеня, настойка плодов лимонника, заманихи, аралии, экстракт лавзеи и родиолы розовой, элеутерококка, пантокрин и т.д., которые обладают способностью повышать неспецифические механизмы сопротивляемости путем воздействия на стрессорные реакции и повышения резистентности организма (Лазарева Д.Н. 2005; С.А. Олейник С.А. и соавт., 2010). Перспективы использования противострессорных средств из природного сырья доказаны. Имеются доказательства противострессорного и антидепрессивного действия комплексного растительного средства при умеренном стрессе (Муруев Б.А. и соавт., 2018), а также адаптогенной и противострессорной активности отдельных растений, таких как серпуха васильковая, бадан толстолистный и эхинацея пурпурная (Яременко К.В., 2008; Shikov A.N. et al., 2014). По литературным данным стимуляция адаптивных реакций в организме и оказание нейромодулирующего влияния серпуха зависят от наличия в его составе экидистероидных соединений (Пчеленко Л.Д. и соавт., 2002); наличие фенольных соединений, флавоноидов в эхинацея пурпурной и бадане толстолистном реализуют адаптогенный, иммуномодулирующий и антиоксидантный эффекты (Sloley B.D. et al., 2001; Shikov A.N. et al., 2014;). Комплекс биологически активных веществ содержащихся в указанных растениях оказывает противострессорное и антидепрессивное действие. Особое значение отводится фенольным соединениям. В последнее время растет интерес к фенольным соединениям лекарственных растений, которые считаются источником адаптогенных и других свойств лекарственных растений (Куркин, В.А., 2016;

Муравьева Д.А. и соавт., 2002). Не исключается роль этих соединений в реализации адаптогенных свойств прополиса, который входит в состав пропоцинка. Прополис как натуральный продукт обладает множественной фармако-биологической активностью: антиоксидантной, антибактериальной, противогрибковой, противовирусной, противопаразитарной, противовоспалительным, антипролиферативным, противоязвенным, местнообезболивающей, гепатопротективной, противоопухолевой, а также иммуностимулирующей (Bankova, V.S.etal., 2000; MarcucciM.C. , 1995; Banskota, A.H. etal., 2001; MachadoB.A.Setal.,2016; DantasSilvaR.P. etal., 2017). При использовании современных методов анализа появилась возможность идентифицировать, а в некоторых случаях количественно определить более 300 химических соединений в прополисе (PrzybyłekI. etal.,2019). Сырьё прополиса состоит преимущественно из растительных смол (камеди) - около 50%, а также включает 30% воска, 10% эфирных и ароматических ма-сел, по 5% пыльцы и других органических веществ [Bankova, V. 2005]. В составе смолы прополиса выделяются основные химические группы, среди ко-торых фенольные кислоты и их сложные эфиры, разнообразные флавоноиды (включая флавоны, флаваноны, флавонолы, дигидрофлавонолы и халконы), терпены, ароматические альдегиды, спирты, жирные кислоты и стероиды (EharaWatanabe, M.A. et al., 2011).Фенольные кислоты и их сложные эфиры представляют собой важный класс химических соединений в прополисе: один из очень важных и изученных фенольных кислот в прополисе – кофейная кислота фенетиловый эфир (EharaWatanabe, M.A. etal.,2011), однако фенольные кислоты представляют собой большой группу соединений и хорошо описаны в различных исследованиях (Zabaiou, N. etal., 2017; WeinsteinTeixeira, A. etal.,2005; PrimondeBarros, M.; BarretoSousa, J.P. et al., 2007). Очень важным флавоноидом прополиса являются флавоны (лютеолин), флавонолы (кверцетин и его производные), флавононы (пиноцемберин или 5,7-дигидроксифлавоны и его производные, нарингенин), флаванолы (гарбанзол и алнустинол), халконы и дигидрохалконы, изофлавоны (калисосин),

изодигидрофлавоны (даидзеин), флаваны, изофлаваны (веститол и его производные) и неофлавоноиды (гомоптерокарпин и медикарпин) (Zabaïou, N. et al., 2017). Они ответственны за основные фармакологические эффекты и составляют от 6,2 до 18,8% (Przybyłek, I. et al., 2019). С другой стороны, флавоноиды прополиса являются очень сильными антиоксидантами, которые способны утилизировать супероксидные радикалы, защищая, таким образом, мембраны клеток от перекисного окисления липидов (Osés, S.M. et al., 2016; Chen, Y.F. et al., 2017; Braakhuis, A., 2019). Цинк, как активный компонент прополиса имеет ключевое значение в механизме действия прополиса. Цинк, являясь кофактором более чем 300 ферментов, участвует во всех видах обмена, а также вносит существенный вклад в поддержание генетического гомеостаза (Альбицкий В.Ю. и соавт., 2003; Закирова А.М., 2003; Криворучко И.В. и соавт., 1997).

Интересно было наряду с адаптогенным свойством прополиса изучать его действие на такой распространенное явление, как воспаление. Воспаление в той или иной форме сопровождает всех патологических процессов. Он является фактором вызывающий огромный интерес, как в плане изучения его механизмов, так и в плане устранения, как причин так и следствие этих факторов.

Противовоспалительное действие прополиса проявляется не только на альтеративной фазе воспалительного процесса, но и на экссудативной фазе, о чем свидетельствуют значительное уменьшение степени альтерации и экссудативных процессов у экспериментальных животных на изученных моделях воспалительного процесса. По всей вероятности противовоспалительному действию способствуют флавоноидные и другие соединения состава прополиса, для которых характерным является противовоспалительное действие (Bueno-Silva, B., 2013; Sartori, G. et al., 2011; SobreiraCorrêa, F.R. et al., 2017). Специфические механизмы противовоспалительной активности прополиса разработаны в отдельных работах (SobreiraCorrêa, F.R. et al., 2017). Установлен эффект прополиса на

модели боли вызванной уксусной кислотой и установлено, что прополис повышает уровень болевой чувствительности, а также проявляет противовоспалительное действие на модели формалинового отека (Al-Nariri et al., 2020). Противовоспалительное, ранозаживляющее и противоожоговое действие прополиса в комбинации со зверобоем и облепиховым маслом, доказано на экспериментальных животных, на моделях инфицированных ран и термического ожога (Огай М.А. с соавт., 2010). С другой стороны установлена эффективность цинка при воспалительных заболеваниях предстательной железы (Винаров А.В.,2011; Саяпина И.Ю. и соавт., 2015), которое входит в состав пропоцинка. По всей вероятности, наблюдаемая фармакологическая активность и в том числе противовоспалительное действие пропоцинка обусловлена многокомпонентностью состава.

Выводы

1. Полученный новым технологическим решением пропоцинк является новой фармацевтической субстанции [2-А].

2. На основании изучения параметров острой и хронической токсичности разработанная новая фармацевтическая субстанция из прополиса и цинка относится к классу малотоксичных [1-А, 3-А].

3. В рамках экспериментальных исследований токсикологические характеристики пропоцинка были оценены при внутрижелудочном введении на белых мышах и крысах. Для белых мышей усреднённое значение LD50 составило 19,24 мл/кг массы тела, определённое с использованием трёх различных методов: метод Кербера дал результат 19,89 мл/кг, пробит-анализ в программе Excel показал 18,33 мл/кг, а пробит-анализ в IBM SPSS Statistics Version23 установил LD50 равным 19,49 мл/кг с диапазоном 17,38–21,99 мл/кг. В экспериментах на белых крысах среднее значение LD50 пропоцинка оказалось равным 15,72 мл/кг массы тела, также рассчитанное по трём методам: метод Кербера определил 15,75 мл/кг, пробит-анализ в Excel показал 16,12 мл/кг, а пробит-анализ в IBM SPSS Statistics Version23 выявил LD50 равным 15,29 мл/кг с интервалом 13,60–17,08 мл/кг. Полученные данные свидетельствуют о том, что при однократном пероральном введении пропоцинка средние показатели LD50 для белых мышей и крыс не демонстрируют существенных различий между методами определения и видами животных. Это указывает на высокую надёжность и консистентность токсикологических свойств пропоцинка в указанных дозировках для обеих исследованных групп животных [3-А]

4. При длительном пероральном введении пропоцинка в течение 26 недель белым крысам в экспериментально-терапевтических дозах от 0,5 до 2 мл/кг массы тела в день не наблюдаются морфологические изменения во внутренних органах животных, что свидетельствует о безопасном профиле препарата при указанных дозах [1-А, 3-А].

5. Пропоцинк в экспериментально-терапевтических дозировках проявляет защитно-адаптогенные свойства, способствуя улучшению адаптации организма к различным физиологическим стрессовым факторам. При моделировании гипоксии с гиперкапнией, гемической гипоксии, а также при чрезмерной физической нагрузке пропоцинк оказывает защитно-адаптогенное действие. Защитно-адаптогенное действие пропоцинка проявляется активнее при длительном применении, чем при однократном введении вещества [4-А].

6. Пропоцинк обладает противовоспалительным действием, которое проявляется на всех стадиях воспалительного процесса, о чем свидетельствует проявление его антиальтеративное действие на моделях воспаления вызванной уксусной кислотой, а также антиэкссудативное действие, которая достоверно проявляется на моделях гистаминового, серотонинового и формалинового воспаления и обладает антифлогистическим действием при пролиферативной стадии (модель «ватного шарика») [1-А].

7. Основной механизм действия пропоцинка при фармакологическом воздействии заключается в его способности активно ингибировать провоспалительные процессы и повышение защитно-адаптогенных свойств макроорганизма [1-А, 4-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов исследования

1. Рекомендовано использовать результаты экспериментального исследования новой фармацевтической субстанции - прополинка для создания отечественного препарата с противовоспалительными и защитно-адаптогенными свойствами.

2. Рекомендовано использовать физико-химические исследования при стандартизации прополиса сырья и во время стандартизации препаратов на основе прополиса и химических элементов.

3. Результаты фито-химических и фармакологических исследований могут быть использованы при создании биологически активных добавок для профилактики рецидивов хронических заболеваний, в основе которых воспаление и нарушения защитно-адаптогенных свойств организма.

Список литературы

Список использованных источников

- 1 Альбицкий, В.Ю. Часто болеющие дети а [Текст]/ В.Ю.Альбицкий, А.А.Баранов, И.А.Камаев. – Ниж.Новгород: НГМА, 2003.-С.176-177.;
- 2 Арипов, Х.Лечение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: Автореф.дис.канд.мед.наук. [Текст]/ Х.Арипов.–Ташкент, 1969.-23 С.
- 3 Бабаева, Е.Ю. Разработка методики палиноморфологического анализа прополиса. [Текст]/ Е.Ю. Бабаева , Е.А. Данилина , В.В. Вандышев //Вестник РУДН, серия Медицина.- 2012.-№3. -С.89-94.
- 4 Барнаулов ,О.Д. Некоторые фармакологические свойства отваров и экстрактов из растений рода язвенник *Anthyllis* . [Текст]/О.Д.Барнаулов// Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9. – № 3. – С. 80–87
- 5 Барнаулов,О.Д. Принципы фитотерапии в модели анализа применения слабительных в основном трактате традиционной тибетской медицины «Чжуд-Ши» . [Текст]/О.Д.Барнаулов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12. – № 3. – С. 56–63.;
- 6 Беспмятных, Е. Н. Подходы к коррекции иммунобиологического профиля животных . [Текст] / Е. Н. Беспмятных , А. С. Кривоногова, И. М. Донник, А. Г. Исаева // Ветеринария Кубани.- 2018.- № 5.- С. 10–13
- 7 Бодрова, О. С. Применение иммуномодулирующих препаратов к сухим и сухостойным коровам с тяжелым иммунодефицитом . [Текст] / О. С. Бодрова, И. М. Донник // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство.- 2016.- № 2.- С. 48–59
- 8 Браславский, Н.В. Стандартизация и рациональное использование сырья и препаратов прополиса. [Текст]/ Н.В.Браславский, И.Ф. Шаталаев //Известия Самарского научного центра Российской академии наук, том- 15. -№3(3).-2013.- С.1092-1094
- 9 Браславский, В.Б. Сравнительные исследования видов *Salicaceae* и прополиса – перспективных источников антимикробных и противовоспалительных лекарственных средств. [Текст] / В.Б. Браславский, В.А. Куркин, Н.В.Браславский и др. // XI Всероссийский конгресс «Экология и здоровье человека»: Тезисы докладов. –Самара, - 2006.- С. 41-45
- 10 Браславский, В.Б. Стандартизация сырья и препаратов тополя и прополиса . [Текст] / В.Б. Браславский, В.А. Куркин //Фармация.- 2009. -Т.- 57.-№ 4.- С. 53-56

- 11 Брехман, И. И. Введение в валеологию – науку о здоровье. . [Текст] / И. И. Брехман. Л., 1987. - С. 128
- 12 Булаев, В. М. Современная фитотерапия. [Текст] / В. М. Булаев, Е. В. Ших, Д. А. Сычев. Москва: М. Е. Дпресс-информ. - 2011. - С. 144
- 13 Вельямейкина, Е. И. Анализ ассортимента иммуностропных лекарственных препаратов. [Текст] / Е. И. Вельямейкина // Вестник ПГФА. – 2012. – № 9. – С. 19-21
- 14 Винаров, А. В. Микроэлементы при опухолях предстательной железы . [Текст] / А. В. Винаров // Сеченовский вестник. - 2011. - № 1(3) – 2(4). - С. 35–41
- 15 Волосовец, А. П. К вопросу о роли цинка в клинической педиатрии . [Текст] / А. П. Волосовец, С. П. Кривоустов, Е. Ф. Черный, И. А. Логинова, О. В. Емец // Детский доктор. - 2012. № 5(18). - С. 37–39
- 16 Горбач, Т. В. Эффекты препаратов сняти обыкновенной (*Aegopodium Podagraria* L.) и их комбинаций с метформином у крыс с нарушениями липидного и углеводного обмена, вызванными протамином сульфатом . [Текст] / Т. В. Горбач, С. Ю. Штрыголь, М. В. Мищенко и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2017. - Т. 15. - № 2. - С. 31–41.
- 17 ГОСТ 33215 – 2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. . [Текст] – Введ. 01.07.16. – М.: Стандартинформ, 2014 – 48 с.
- 18 ГОСТ 33216 – 2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. . [Текст] Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. – Введ. 01.07.16. – М.: Стандартинформ, 2014 – 38 с.
- 19 Гущин, Я. А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. [Текст] / Я. А. Гущин , А. А. Мужикян // Международный вестник ветеринарии. - 2014. - № 3. - С. 88-95.
- 20 Данилец, М. Г. Влияние полисахаридов из растительного сырья на Th1-зависимый иммунный ответ (скрининговые исследования) / М. Г. Данилец, Ю. П. Бельский, А. М. Гурьев и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73. – № 6. – С. 19-22.;
- 21 Деревич, А. Наблюдение, свидетельствующее о неканцерогенности прополиса для хомяка: морфологические данные . [Текст] / А. Деревич // Продукты пчеловодства, пища, здоровье, красота. – Бухарест: Апимондия. - 1974. – С. 119-121.

- 22 Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. [Текст] // НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными» (Rus-LASA).СПб.,- 2012.- 48 с.
- 23 Донник, И. М. Качество молозива и сохранность телят в условиях использования природных энтеросорбентов . [Текст] / И. М.Донник , О. П.Неверова , О. В.Горелик // Аграрный вестник Урала. -2016. -№ 7 (149). - С. 4–8
- 24 Доровских, В.А. Сравнительная оценка фитоадаптогенов при окислительном стрессе . [Текст] / В.А.Доровских, Н.В.Симонова, М.С.Тонконогова, О.П.Пнюхтин, Н.П.Симонова //Бюллетень физиологии и патологии дыхания. -2015. -Вып.55. -С.95-100.
- 25 Дрици, М.Д. Регистрация побочных эффектов лекарственных средств во Франции /М.Д. Дрици, Т.М.Климова . [Текст] // Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М.К.Амосова. Серия "Медицинские науки". -2019. -№4 (17). -С.50-56.
- 26 Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях 1986 года . [Текст] — Доступ из справ.–правовой системы Консультант Плюс. Международный вестник ветеринарии. -2018. -№5. -С.182-195.
- 27 Жадан, О.Н. Острое отравление нитратом натрия в неврологической практике / О.Н.Жадан, Л.В.Тимченко, П.В.Катаев и др. [Текст] // Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. -2017.-№6(2). -С.158–161.
- 28 Зайцева, Н.В. Особенности элементарного состава цельной крови неэкспонированного детского населения Западного Урала . [Текст] / Н.В.Зайцева, Т.С.Уланова, Г.А.Вейхман, Е.В.Стенно, А.В.Недошитова // Гигиена и санитария. -2019. -№ 98 (12). -С.1409-1413.
- 29 Закирова А.М. Клиническое значение цинка и процессов мембранолиза в течение острых пневмоний у детей школьного возраста: Автореф.дис...канд.мед.наук. . [Текст] / А.М.Закирова.- Казань. -2003.-21 с.
- 30 Игамбердиева П.К. Исследование содержания химических элементов в лекарственных растениях Южной Ферганы и перспективы применения их при лечении заболеваний . [Текст] / П. К. Игамбердиева, Е. А. Данилова, Н. С. Осинская // Микроэлементы в медицине. –2016. – Т. 17. – № 3. – С. 48-53. – DOI 10.19112/2413-6174-2016-17-3-48-53
- 31 Кадырова, Т.В. Антиоксидантная активность экстрактов василька лугового (CENTAUREA JACEA L.) и василька ложнопятнистого

- (CENTAUREA PSEUDOMACULOSA DOBRO CZ.) . [Текст] /
Т.В.Кадырова, Е.В.Ермилова, М.С.Ларькина //
Химиярастительного сырья. -2014. -№2. -С.143-146 doi:
10/14258/jсrm.1402143.
- 32 Казаков И.Ф. Лечение крупного рогатого скота при вестибуло-вагинитах /
И.Ф.Казаков, Ф.Т.Кулеев. [Текст] // 2-я ленинградская науч.конф.по
применению продуктов пчеловодства в медицине и ветеринарии. – Л., -
1960. –С.71
- 33 Капилевич Л.В. Биохимия человека: учебное пособие для вузов. [Текст] /
Л.В.Капилевич, Е.Ю.Дьякова, Е.В. Кошельская - Люберцы: Юрайт, 2016. -
151 с
- 34 Кивалкина В.П. Прополис, его антимикробные и лечебные свойства.
Автореф.дис.докт.биол.наук. [Текст]/В.П.Кивалкина., -Казань. -1964. -30
с.
- 35 Киселева, Т. Л. Лекарственные растения в мировой медицинской
практике: государственное регулирование номенклатуры и качества .
[Текст] / Т. Л. Киселева, Ю. А. Смирнова // – М.: Издательство
Профессиональной ассоциации натуротерапевтов. -2013. – 295 с.
- 36 Коваленко, Л. П. Иммунокорректирующие свойства фитопрепарата
«Тонзилгон» . [Текст] / Л. П. Коваленко, Е. В. Шипаева, И. И. Кольченко //
Русский медицинский журнал. – 2008. – Т. 16. – № 25. – С.2-12.
- 37 Кожина Л.Ф. Металлы подгруппы цинка и их соединения . [Текст] /
Л.Ф.Кожина // Учебно-методическое пособие для студентов направления
подготовки «Педагогическое образование, профиль «Химия» -Саратов. –
2018.-49 с.
- 38 Кожина, Л.Ф. Металлы подгруппы цинка и их соединения. Учебно-
методическое пособие для студентов направления подготовки
«Педагогическое образование, профиль «Химия». . [Текст]/Л.Ф.Кожина.
Саратов – 2018.-49 с
- 39 Комаров, А.К. Исследование рынка растительных адаптогенов
дальневосточного федерального округа в 2013-2017 гг . [Текст] /
А.К.Комаров , А.С.Степанов , Т.А.Степанова // Научные ведомости.
Серия Медицина. Фармация. -2018. -Том 41. -№2. -С.362-371.
- 40 Корчог, М.Токсикологическое изучение общего стандартизированного
экстракта прополиса . [Текст] / М.Корчог , С.Кэлэкз // 29
Муждунар.конг.по пчеловодству. –Бухарест: Апимондия. -1983. -126 с.
- 41 Косман, В.М. Фармакокинетика лигнанов лимонника китайского /
В.М.Косман , М.В.Карлина , О.Н.Пожарицкая , и др. [Текст] //Обзоры по
клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т. 13. – №

4. – С. 3–21.
- 42 Костючек, Д. Ф.. Содержание магния в слюне и волосах больных с элонгацией шейки матки . [Текст]/ Д. Ф., Костючек, А. С.Клюковкина, Т. В. Лебедева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. LV. - № 3. – С. 45-48.
- 43 Крендаль, Ф.П. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитоадаптогенов – женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой . [Текст] / Ф.П. Крендаль , С.В.Козин , Л.В.Левина –М.: Профиль. -2007. -392 с.
- 44 Криворучко, И.В. Особенности течения и исхода беременности у женщин с анемией на фоне недостаточности цинка . [Текст] / И.В.Криворучко, В.И.Криворучко // Физиологи человека. – 1997. – Т.23. -№3, - С.84.
- 45 Кундрюкова, У. И. Ветеринарно-санитарная и морфологическая оценка мускулатуры бедренной и грудной групп мышц цыплят-бройлеров с низшей категорией упитанности . [Текст] / У. И.Кундрюкова, Л. И. Дроздова // Научная жизнь. -2018. -№ 12. -С. 222–231.
- 46 Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в Государственную Фармакопею Российской Федерации 23 издания . [Текст] / В.А.Куркин ., Е.В.Авдеева , А.В.Куркин и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. -2016. -Том 18. -№ 2(3). -С. 730-736.
- 47 Куркин, В. А. Фенольные соединения как источник импортозамещающих лекарственных растительных препаратов. [Текст] / В. А. Куркин // Фенольные соединения. – 2012. – С.561-567;
- 48 Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов). 3-е изд., перераб. и доп . [Текст] / В.А.Куркин. - Самара: ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. -2016. -1279 с.
- 49 Кутяков, В.А., Салмина А.Б. Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках . [Текст] / В.А.Кутяков , А.Б.Салмина // Бюллетень сибирской медицины. -2014. -№13(3). -С. 91–99.
- 50 Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. [Текст] /Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.Р. и др.//Под ред.проф.В.В.Меньшикова.-М.:Медицина. -1987.-368 с.
- 51 Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте – 3-е изд. перераб. и доп. . [Текст] / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – Киев.: Вища школа. -1983. – 383 с.
- 52 Лазарева, Д.Н. Растения, стимулирующие иммунитет . [Текст] / Д.Н. Лазарева, В.В. Плечев, Т.В. Моругова. - Уфа, 2005. - 96 с.
- 53 Лысиков, Ю.А. Роль и физиологические основы обмена макро- и

- микроэлементов в питании человека. [Текст] /Лысыков Ю.А. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. -2009. -№2. -С.120-131.
- 54 Макаренко, И.Е. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным . [Текст] / И.Е.Макаренко , О.И.Авдеева , Г.В.Ванатиев , А.В.Рыбакова , С.В.Ходько, М.Н.Макарова , В.Г.Макаров // Международный вестник ветеринарии. -2013. -№3. -С.78-84.
- 55 Масная, Н. В. Влияние полифелных соединения, выделенных из *Carthamus tinctorius* и *Calendula officinalis* L., на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цитостатической иммуносупрессии . [Текст] / Н. В. Масная, Н. В. Исайкина, Е. Ю. Шерстобоев, Г. И. Калинин // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12. – № 3. – С.41-51.
- 56 Медведева М. Клиническая ветеринария лабораторная диагностика . [Текст] / М.Медведева. -Москва. -2013. -416 с.
- 57 Меньшиков, В.В.Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. [Текст] /Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.Р. и др.//Под ред.проф.В.В.Меньшикова.-М.:Медицина, 1987.-368 с.
- 58 Миронова, А.Н.Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств . [Текст] / Под общей редакции А.Н.Миронова. Часть первая. –М.: Гриф и К.-2012. -944 с.
- 59 Мужикян, А.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. [Текст] / А.А.Мужикян А.А., М.Н.Макарова , Я.А.Гущин // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№2. -С.103-109
- 60 Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: учебник . [Текст] / Д.А.Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.:Медицина. -2002.- 656 с.
- 61 Муруев, Б.А. Противострессовое и антидепрессивное действие растительного средства при хроническом умеренном стрессе . [Текст] / Б.А.Муруев , С.М.Гуляев , Л.Н.Шантанова , А.Г. Мондодоев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 69–73. doi: 10.17816/RCF16269-73.
- 62 Нечаева, Н.Г. Влияние приема комбинации маточного молочка с пергой на адаптационные возможности организма . [Текст] / Н.Г.Нечаева, М.М.Лапкин // Здоровье и образование в XXI веке. -2008. -Т.10. -№2. - С.242–243.
- 63 Нилова, Л.П, Малютенкова М.М. Антиоксидантные комплексы облепихи крушиновидной . [Текст] / Л.П.Нилова, М.М.Малютенкова // Вестник ФГУИТ.- 2021.- Т.83. -№1. -С. 108-114.

- 64 Новиков, В.С. Методология исследования фундаментальных свойств адаптации и адаптогенной активности биологически активных веществ. [Текст] / В.С.Новиков , Е.Б.Шустов, С.В.Оковитый // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. - 2021. -№25(2). -С.99-114.
- 65 Олейник, С.А. Фармакология спорта . [Текст] / С.А. Олейник, Л.М. Гунина, Р.Д. Сейфула. - К.: Олимп. Л- ра, 2010. - 640 с.
- 66 Петровский, А.К. Адаптогенная активность семакса и селанка: экспериментальное исследование. [Текст] / А.К.Петровский, М.В.Петровская, М.В.Косенко и др. // Медицинский альманах. -2017. -№1 (46). -С.114-118.
- 67 Поспелова, М.Л. Медикаментозные и фитотерапевтические методы коррекции дисфункции эндотелия и активности воспаления при атеросклерозе у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями . [Текст] / М.Л. Поспелова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9. – № 3. – С. 88–97.
- 68 Прасад, А.С. Цинк для человека: терапевтическое действие и токсичность . [Текст] / А.С.Прасад // Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии. -2011. -№6. -С.9–13.
- 69 Пчеленко, Л.Д. Адаптогенный эффект экидистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. [Текст] / Л.Д.Пчеленко , Л.Г.Метелкина, С.О.Володина // Химия растительного сырья. –2002. – №1. – С. 69–80.
- 70 Рогалева, Е.В. Теоретические и экспериментальные аспекты создания комплексных лекарственных средств на основе сырья природного происхождения . [Текст] / Е.В.Рогалева , М.П.Семененко , В.А.Гринь , Е.В. Кузьмина // Сборник научных трудов КНЦЗВ. -2020. -Т.9.-№2. - С.123-127.
- 71 Рязанова, Т.К. Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, содержащих биологически активные вещества ароматической и терпеноидной природы . [Текст] / Т.К.Рязанова // Диссертация на соис.учен.степ. докт.фарм.наук. Самара. -2022. -365 с.
- 72 Саяпина, И.Ю. Биологическая роль цинка в предстательной железе (молекулярные аспекты) . [Текст] / И.Ю.Саяпина, С.С.Целуйко, О.А.Чердниченко // Дальневосточный медицинский журнал. -2015. -№2. -С.137–143.
- 73 Серединцева, Н.В. Влияние продуктов пчеловодства на показатели углеводного обмена юных пловцов . [Текст] / Н.В.Серединцева , Ю.П.Корнилов , Е.А.Писаренко // Фундаментальные исследования. -2012.

- №3. -С.253–256.
- 74 Сидельников, Н.И. Лекарственные растения и их значение . [Текст] / Н.И.Сидельников //Научно-производственный журнал "Зернобобовые и крупяные культуры", -2013. -№2(6). -С.141-147.
- 75 Симонова, Н.В. Лекарственные растения Амурской области . [Текст] / Н.В.Симонова, В.А. Доровских, Р.А Анохина. // Благовещенск. -2016. -2 66 с.
- 76 Синютина, С.Е.Экстракция флавоноидов из растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств . [Текст] /С.Е.Синютина, С.В.Романцова, В.Ю.Савельева // Вестник ТГУ. -2011. -Т.16, вып.1. -С. 345-347.
- 77 Скальный, А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). . [Текст] /А.В.Скальный. Практическое руководство. М.,- 2001. -96 с
- 78 Скальный, А.В. Микроэлементы: бодрость, здоровье, долголетие . [Текст] / Скальный А.В. М.: Перо. -2018. -295 с
- 79 Студенцов, Е.П. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов – 50 лет поисков . [Текст] / Е.П.Студенцов , С.М.Рамш, Н.Г.Казурова и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. -2013. -Т.11. -№4, -С.3-43.
- 80 Тараховский, Ю.С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина . [Текст] / Ю.С.Тараховский, Ю.А.Ким , Б.С.Абдрасилов , Е.Н.Музафаров (отв.ред. Е.И.Маевский) – Пушкино: Synchronobook. -2013. -310 с.
- 81 Тармаева, И.Ю. Минеральные вещества, витамины: их роль в организме. Проблемы микронутриентной недостаточности: учебное пособие. [Текст] / И.Ю. Тармаева, А.В.Боева., ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России; кафедра гигиены труда и гигиены питания – Иркутск: ИГМУ, 2014.-89 с.
- 82 Федоров, В.Н. Фармакодинамика адаптогенов . [Текст] / В.Н.Федоров: Автореф.дисс...док.мед.наук. -Москва. -1999. -44 с
- 83 Хабриева, Р.У.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. . [Текст] / Под общей редакцией члена-корреспондента Р.У.Хабриева. -2 изд., перераб. и доп.– М.: ОАО «Издательство «Медицина». -2005. -832 с.
- 84 Хлебникова, А.Н. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии . [Текст] / А.Н.Хлебникова , Д.Д.Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии. -2013. -№6. -С.100-116.
- 85 Хобракова, В. Б. Иммунокорректирующее действие сухого экстракта лапчатки белой и комплексного средства «Тиреотон» . [Текст] / В. Б. Хобракова, Э. В. Архипова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2011. – Т. 106. – № 7. – С.121-123.

- 86 Хобракова, В. Б. К механизму иммуномодулирующего действия растительного средства при экспериментальной иммуносупрессии. [Текст] / В. Б. Хобракова // Вестник Бурятского государственного университета. – 2012. – № SC. – С.169-172.
- 87 Царегородцева, А. Е. Морфо-функциональные характеристики иммунной системы при индуцированной иммуносупрессии в эксперименте . [Текст] / А. Е.Царегородцева , И. Е.Валамина , В. М.Усевич // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сборник статей IV Международной (74 Всероссийской) научно-практической конференции. Екатеринбург. -2019. -С. 1192–1196.
- 88 Цывунин, В.В. Нейропротекторные свойства сухих экстрактов дымянки Шлейхера и базилика камфорного. [Текст] / В.В.Цывунин , С.Ю.Штрыголь, Ю.С. Прокопенко // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т. 11. – № 3. – С. 66–71.;
- 89 Шалдаева, Т.М. Содержание флавоноидов в некоторых представителях семейства Rosaceae Juss. из природных популяций лесостепной зоны Западной Сибири. [Текст] / Т.М. Шалдаева // Химия растительного сырья. – 2013. – №1. – С. 54–55.
- 90 Шахмардонова, С.А. Металлокомплексные соединения цинка с N-алкенилимидазолами: биологическая активность и применение в медицине (обзор) . [Текст] / С.А.Шахмардонова , П.А.Галенко-Ярошевский // Сеченовский вестник. -2016. -№3(25). -С.84-90.
- 91 Шацких, Е. В.Использование антистрессовых препаратов в яичном птицеводстве. [Текст] / Е. В.Шацких, Е. Н.Латыпова , Е. Г.Несват , И. В.Кобурнеев : монография. Екатеринбург: Издательство Уральского ГАУ. -2016. -202 с.
- 92 Шацких, Е. В.Минеральный сорбент в комбикормах для цыплят-бройлеров . [Текст] / Е. В.Шацких , Д. М.Галиев // Птицеводство. -2018. - № 11-12. -С. 45–49.
- 93 Шейбак, В.М. Синтез и секреция инсулина: роль катионов цинка . [Текст] / В.М. Шейбак // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. -2015. --№1. -С.5-8.
- 94 Ших Е.В. Полиненасыщенные жирные кислоты и селен, как необходимые компоненты микронутриентной поддержки в период беременности. [Текст] / Е.В. Ших, А.А. Махова, Н.Н. Еременко, Л.Ю. Гребенщикова // РМЖ. -2017.- № 2. -С. 126–131.
- 95 Щипачев Т.Н. Совершенствование технологии обработки прополиса с разработкой подпрессовщика к брикетному прессу . [Текст] / Т.Н. Щипачев Автореферат канд.дис. Рязань. -2012. -21 с.

- 96 Яременко К.В. Адаптогены в фитотерапии . [Текст] / К.В.Яременко // I Российский фитотерапевтический съезд: сборник научных трудов; Москва. 14–16 марта 2008 г. – М.: -2008. –С. 363–364.
- 97 Adela Ramona Moise and Otilia Bobis. *Baccharis drancuculi* folia and *Dalbergia aecastophyllum*, Main Plant Sources for Bioactive Properties in Green and Red Brazilian Propolis . [Text] / Adela Ramona Moise and Otilia Bobis // *Plants*. - 2020. -№9. – P. 1-23.
- 98 Araújo M.J.A.M. Pharmacognostic and acute toxicological evaluation of *Scaptotrigona* aff. *postica* propolis extract in pre-clinical assays / M.J.A.M. Araújo, N.S. Mattar, A.S. Reis. [Text] // *Natural Product Research (Formerly Natural Product Letters)*. -2011. Volume 25.-Pp.1037-1046.
- 99 Arvouet Grand, A. (1993). Propolis extract. Part 6. Subacute toxicity and cutaneous primary irritation index . [Text] / Arvouet Grand, A., Lejeune, B., Bastide, P., Pouraat, A. and Legret, P // *Journal de Pharmacie de Belgique*. - 1993. -N 48. -P.165-170.
- 100 Bankova, V. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis . [Text] /V. Bankova, , M.C.Marcucci, ,S. Simova, , N.Nikolova,, A.Kujumliev, , S.Popov, . *Z.Naturforsch* // -1996. -N 51(5-6). -P.277-280.
- 101 Bankova, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization . [Text] / V.Bankova // *J. Ethnopharm.* -2005. -N100. -P. 114–117.
- 102 Bankova, V.S. Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin . [Text] / V.S.Bankova, S.I.De Castro, M.C.Marcucci // *Apidologie*. -2000. -N31. -P.3-15.
- 103 Banskota, A.H. Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. *Phytother.* [Text] / A.H. Banskota, Y.Tezuka, S.Kadota, // *Res.*-2001. -N 15. - P.561–571.
- 104 Bao B. Intracellular free zinc up-regulates IFN- γ and T-bet essential for Th1 differentiation in Con-A stimulated HUT-78 cells. [Text] / B.Bao , A.S.Prasad , F.W.J.Beck , G.W.Bao , T.Singh , S.Ali et al.// *Biosci. Biotechnol. Res. Commun.* -2011. -N 407. -P. 703–7.
- 105 Baynes J.W., *Medical Biochemistry 5th Edition* . [Text] /J.W.Baynes ,M.H.Dominiczak // Elsevier Limited. -2018. -712 p.
- 106 Black R.E. Therapeutic and preventive effects of zinc on serious childhood infectious diseases in developing countries. [Text] /Black R.E. // *Am J Clin Nutr.* -1998.-N68. -P.47 6S-9S.
- 107 Braakhuis, A. Evidence on the Health Benefits of Supplemental Propolis. [Text] / Braakhuis, A.// *Nutrients*. -2019. -N11. -P.2705.
- 108 Brocard, A. Innate immunity: a crucial target for zinc in the treatment of inflammatory dermatosis . [Text] / A.Brocard , B.Dreno // *J. Eur. Acad.*

- Dermatol. Venerol. -2011. -N 25. -P. 1146–1152.
- 109 Burdock, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis) . [Text] / G.A.Burdock // Food and Chemical Toxicology. -1998. -N36. -P.347-363.
 - 110 Cao, X.P. Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its in vitro antioxidant activity. [Text] / X.P.Cao, Y.F.Chen, J.L.Zhang, M.M.You, K.Wang, F.L. Hu // Phytomedicine. -2017. -N 34. -P. 76–84.
 - 111 Cecchini, S. Effect of dietary inclusion of a commercial polyherbal Formulation on some physiological and immune parameters in healthy and stressed hens [e-resource] . [Text] / S.Cecchini , M.Rossetti , A.Caputo , A.Bavoso // Czech Journal of Animal Science. -2019. -No. 64. -P. 448–458. URL: https://www.agriculturejournals.cz/web/cjas.htm?type=article&id=189_2019-CJAS (date of reference: 12.12.2020)
 - 112 Cecchini, S. Evaluation of the effects of dexamethasone induced stress on levels of natural antibodies in immunized laying hens. [Text] / S.Cecchini , M.Rossetti , F.Di Tomaso , A. R.Caputo // Veterinary Immunology and Immunopathology. -2016. -Vol. 177. -Pp. 35–41.
 - 113 Chen, C.N. Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources. Evidence. [Text] / Chen, C.N., Weng, M.S., Wu, C.L., Lin, J.K. // Based Complementary and Alternative Medicine. -2004. -No 1(2). -P.175-185.
 - 114 Choi, S. Chromium, Nickel and welding. IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans. [Text] / S.Choi , D.K.Hong , B.Y.Choi , S.W.Suh //– Lyon: IARC. -1990. – 687 p.
 - 115 Choi, S. Zinc in the Brain: Friend or Foe? . [Text] / S.Choi, D.K.Hong, S.W.Suh // Int J Mol Sci. -2020. -No 21(23). -P.8941. doi:10.3390/ijms21238941
 - 116 Corradi, M. Met allie elements in exhaled breath condensate and serum of patients with exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. [Text] / M.Corradi // Met allomics. – 2009.– V. 1, -№ 4. – P. 339-345.
 - 117 Daftsis, E. J. Analytical performance of ETAAS method for Cd, Co, Cr and Pb determination in blood fractions samples . [Text] / E. J.Daftsis , G. A.Zachariadis // Talanta. – 2007.– V. 71. -№ 2. – P. 722-730.
 - 118 Dantas Silva R.P. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts . [Text] / R.P.Dantas Silva, B.A.S.Machado, G.dABarroto,S.S.Costa, L.N.Andrade, R.G.Amaral // PLoS ONE. -2017. -No12.- P.172-185.

- 119 Dhama K. Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production – A review . [Text] / Dhama K., Latheef S. K., Mani S., Samad H. A., Karthik K., et al // International Journal of Pharmacology. -2015.- No. 11. -Pp. 152–176.
- 120 Dodson, G. The role of assembly in insulin’s biosynthesis. [Text] / G. Dodson, D. Steiner // Curr Opin Struct Biol – 2011. – Vol. 8. – P.189–194.
- 121 Donnik, I. M. Reviewing the influence of copper, lead and zinc accumulation on the morphofunctional liver and kidney state in broiler chickens under experimental toxicosis. [Text] / I. M.Donnik, O. G.Loretts ., M. I.Barashkin , N. V.Sadovnikov ., A. D.Shusharin ., A. V.Elesin , N. N. Semenova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. -2018. -T. 9. - No. 6. -Pp. 859–873.
- 122 Egba, S. I. Aqueous extracts of *Telfairia occidentalis* leaf reverses pyrogallol induced leucopenia and stimulates the immune system in wistar albino rats . [Text] / S. I. Egba, G. C. Ikechukwu, O. U. Njoku // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2013. –Vol. 5 (4). – P.149-153.;
- 123 Ehara Watanabe, M.A. Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: A review. [Text] / M.A.Ehara Watanabe, M.K.Amarante, B.J.Bruno José Conti,J.M. Sforcin // J. Pharm. Pharmacol. -2011. -No63. -Pp. 1378–1386.
- 124 Fokt, H. How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. In current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology; Mendez-Vilas, A., Ed. . [Text] /H. Fokt, ; A.Pereira, ; A.M.Ferreira, ; A.Cunha,; C.Aguiar // Microbiology Book Series – Number 2; Formatex Researces Center: Badajoz. Spain. -2010. -V.1. - Pp. 481-493.
- 125 Fowler J. F. Occupational dermatology . [Text] / J. F.Fowler // Current Problems in Dermatology. – 1998.– V. 10. -№ 6.– P. 216.
- 126 Hasan Türkeza Mokhtar. Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver . [Text] / Hasan Türkeza Mokhtar, I.Yousef Fatime Geyikoglua// Food and Chemical Toxicology. -2010. -Volume 48. Issue 10.- Pp.2741-2746.
- 127 Hegde M. L. Serum trace element levels and the complexity of inter-element relations in patients with Parkinson's disease . [Text] / M. L.Hegde // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. – 2004.– V. 18. -№ 2. – P. 163-171.
- 128 Henn B. C. Early postnatal blood manganese levels and children's neurodevelopment . [Text] / B. C. Henn // Epidemiology. – 2010.– V. 21. -№ 4. – P. 433-439.
- 129 Hu H. Exposure to metals. [Text] / H.Hu // Primary Care. – 2000.– V. 27. -№ 4. – P. 983-986.

- 130 Ide-Ektesabi, A. Quantitative analysis of zinc in prostate cancer tissues using synchrotron radiation microbeams . [Text] / A.Ide-Ektesabi // X-Ray Spectrometry. – 2002.– V. 31. -№ 1. – P. 7-11.
- 131 Jennyfer A. Aldana-Mejía. Nonclinical Toxicological Studies of Brazilian Red Propolis and Its Primary Botanical Source *Dalbergia ecastaphyllum* . [Text] / Jennyfer A. Aldana-Mejía, Gari V. Ccana-Ccapatinta, Iara S. Squarisi et all // Chem. Res. Toxicol. -2021. -No34.-P.1024–1033.
- 132 Jiang, W. Immune regulation of avian influenza vaccine in hens using *Hypericum perforatum* L. methanol extraction. [Text] / W. Jiang, Y. Liu, H. Zheng, et al // Plant Omics Journal. – 2012. – Vol. 5 (1). – P.40-45.; Karami, B. Evaluation of medicinal plant effects on immune response and serum biochemical parameters in Japanese gual / B. Karami, E. Lotfi, B. Aminzade // Advanced Journal of Agricultural Research. – 2013. – Vol. 1 (001). – P.001-006.
- 133 Jiang, Y. M. Effective treatment of manganese-induced occupational Parkinsonism with p-aminosalicylic acid: A case of 17-year follow-up study . [Text] /Y. M. Jiang // Journal of Occupational and Environmental Medicine. – 2006.– V. 48. -№ 6. – P. 644-649.
- 134 Kakkar, P. Biological markers for met al toxicity. [Text] / P.Kakkar , F. N.Jaffery // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2005.– V. 19. -№ 2. – P. 335-349.
- 135 Kalicanin, B. Influence of saliva medium on freeing heavy met al ion from fixed dentures . [Text] / B.Kalicanin , Z. Ajdukovic // Science of the Total Environment. – 2008. – V. 397. -№ 1-3. – P. 41-45.
- 136 Kambe, T. Zinc transporters and their functional integration in mammalian cells. [Text] / T.Kambe , K.M.Taylor , D. Fu // J. Biol.Chem. -2021. No 296.- P.300-315.doi:10.1016/j.jbc.2021.100320
- 137 Kandhro, G. A. Effect of zinc supplementation on the zinc level in serum and urine and their relation to thyroid hormone profile in male and female goitrous patients. [Text] / G. A. Kandhro // Clinical Nutrition. – 2009.– V. 28. -№ 2. – P. 162-168.
- 138 Kelleher, S.L. Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate and mammary gland. [Text] / S.L.Kelleher , N.H.McCormick , V.Velasquez , V.Lopez // Adv. Nutr. -2011. -No2(2). -Pp.101–111.
- 139 Kondaiah, P. Iron and Zinc Homeostasis and Interactions: Does Enteric Zinc Excretion Cross-Talk with Intestinal Iron Absorption? . [Text] / P.Kondaiah , P.S.Yaduvanshi , P.A.Sharp , R.Pullakhandam // Nutrients. -2019. -No11(8).- Pp.1885. doi:10.3390/nu11081885
- 140 Lemos, M. *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian

- green propolis, displays antiulcer activity Lemos. [Text] / M.Primon de Barros, J.P.Barreto Sousa,A.A.da Silva Filho, J.Kenupp Bastos, S.Faloni de Andrade, // J. Pharm. Pharmacol. -2007. -No59. -Pp.603–608.
- 141 Lins Cavalcanti de Pontes, M. Chemical characterization and pharmacological action of Brazilian red propolis . [Text] /M.Lins Cavalcanti de Pontes, ; I.R.AlvesVasconcelos, ; M.de Fatima Formiga de MeloDiniza, ; H.de Luna Freire Pessoa, //Acta Braziliensis. -2018. -No1. -Pp. 34-39.
- 142 Loretts, O. G.Nonspecific resistance of broilers on the background of application of a herbal complex of biologicaly active compounds under the conditions of industrial technology . [Text] / O. G.Loretts , I. M.Donnik , O. ABykova ., O. P. Neverova ., O. A.Gumenyuk , S. S.Shakirova , G. V.Meshcheriakova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. -2018. T. 9. -No. 6. -Pp. 1679–1687.
- 143 Lucax Henrique Domingos da Silva. Toxixological and chemopreventive studies of Dalbergia ecataphyllum (L.) Taub.stem, the botanical source of Brazilian red propolis . [Text] / Lucax Henrique Domingos da Silva, Iara Silva Squarisi, Karoline Soares de Freitas at all// Journal of Pharmacy and Pharmacology.-2022. -Volume 74. -Issue 5.- P.740-749. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgac008>).
- 144 Machado, B.A.S. Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis. [Text] / Machado, B.A.S.; Silva, R.P.D.; Barreto, G.D.A.et al // PLoS ONE. -2016. -No11. -Pp.2054-2059.
- 145 Makhija, I. K. Sphaeranthus indicus: A rewie of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. [Text] / I. K. Makhija, L. Richard, S. P. Kirti, K. Saleemullah et al. // Internetonal Journal of Pharmacology – 2011. – № 7 (2). – P.171-179.
- 146 Mamta, J. K. K. Protective effects of Tinospora condifolia on clinical manifestations of experimental colibacillosis in broiler chicken . [Text]/ J. K. K. Mamta, // Haryana Veterinarian. -2016. -Vol. 55. -Pp. 145–148.
- 147 Marco, L. M. Determination of Zn/Cu ratio and oligoelements in serum samples by total reflection X-ray fluorecence spectrometry for cancer diagnosis. [Text] / L. M.Marco // SpectrochimicaActa Part B. – 2001. – V. 56. -№ 11. – P. 2195-2201.
- 148 Marcucci, M.C. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutical activity . [Text]/ M.C.Marcucci // Apidologie. -1995. -No26. - P.83-99.
- 149 Marin, M.Contributii ia Studiul Propolisului . [Text]/ M.Marin , N.Matesceu , T.Balaci , A. Popa // Apicultura. -1959. –An.32.-No 12.-P.9-16.

- 150 Markham, K.R. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. [Text] / Markham, K.R.; K.A.Mitchell, A.I.Wilkins, I.A.Dalby, Y.Lu // *Phytochemistry*. -1996. -No42. -P.205-221.
- 151 Matteo Cassandri. Zinc-finger proteins in health and disease . [Text]/ Matteo Cassandri, Artem Smirnov, Flavia Novelli, Consuelo Pitolli, Massimiliano Agostini, Michal Malewicz, Gerry Melino, Giuseppe Raschellà // *Cell Death Discovery*. -2017. -No3. -P.170-171; doi:10.1038/cddiscovery.
- 152 Meng, Z. Topical treatment of degenerative knee osteoarthritis . [Text]/ Z.Meng, R. Huang // *The American journal of the medical sciences*. -2018. -T.355. No 1. -C.6-12.
- 153 Michalczyk, K. The Role of Zinc and Copper in Gynecological Malignancies . [Text]/ Michalczyk K, Cymbaluk-Płowska A. // *Nutrients*. -2020. -No12. -P.3732. doi:10.3390/nu12123732
- 154 Miguel, M.G. Chemical and biological properties of propolis from the Western countries of the Mediterranean basin and Portugal . [Text]/ Miguel, M.G. // *Int.J.Pharm.Pharm.Sci*. -2013. -No5. -P.403-409.
- 155 Murray, R. Illustrated Biochemistry 29Th Edition . [Text]/ R.Murray , D.Bender , K.Botham , P.Kennelly , V.Rodwell , P.Weil // Blacklick: McGraw-Hill Publishing. -2012.- 818 p.
- 156 Murzoeva, O.K. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response Prostaglandins Leukot Essential Fatty Acid . [Text]/O.K.Murzoeva, P.C.Calder/ -1996. -No55 (6). -P.441-449.
- 157 Nath R. Health and disease: role of micronutrients and trace elements. . [Text]/ Nath R. – New Delhi: APH Publishing Corp., -2000. – 640 p.
- 158 Nelson, D. Lehninger Principles Of Biochemistry. [Text] / D.Nelson , M.Cox , A. Hoskins // New York: W. H. Freeman & Company. -2021.- 1248 p.
- 159 Nobakht, A. Effect of Melissa officinalis L., Tanacetum balsamita L and Ziziphora clinoidioidesw L. on performance, blood biochemical and immunity parameters of laying hens. [Text] / A. Nobakht, N. H. Mansoub, M. A. M. Nezhady // *Asian Journal of Animal and Veterinary Advaces*. –2012. – Vol. 7 (1). – P.74-79.
- 160 Olanow, C. W. Manganese-induced parkinsonism and Parkinson's disease. [Text] / C. W.Olanow // *Redox-Active Metals in Neurological Disorders*. – 2004.– V. 1012. – P. 209-223.
- 161 Osés, S.M. Bioactive properties of honey with propolis . [Text]/ S.M.Osés, A.Pascual-Maté, M.A.Fernández-Muiño, T.M.López-Díaz, M.T.Sancho // *Food Chem*. -2016. -No.196 -P.1215–1223.
- 162 Oyama, T. Efficiency of serum copper/zinc ratio for differential-diagnosis of patients with and without lung-cancer . [Text]/ T.Oyama // *Biological Trace*

- Element Research. – 1994.– V. 42. -№ 2. – P. 115-127.
- 163 Park, H. J. Effects of essential oil from *Chamaecyparis obtusa* on cytokine genes in the hippocampus of maternal separation rats . [Text]/ H. J. Park, S. K. Kim, W. S. Kahg et al. // J. Physiol. Pharmacol. – 2014. – V. 92. – P.95-101.
- 164 Parshina, L.N. Met al complexes with N-alkenylimidazoles: synthesis, structures, and biological activity. [Text]/ L.N.Parshina , B.A.Trofimov // Russian Chemical Bulletin. -2011. -No60(4). -P. 601–614.
- 165 Parsons, P. J. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine . [Text]/P. J.Parsons, F. Jr.Barbosa // SpectrochimicaActa Part B. – 2007. – V. 62. -№ 9. – P. 992-1003.
- 166 Patriarca, M. Recent developments in trace element analysis in the prevention, diagnosis, and treatment of diseases . [Text]/ M.Patriarca // Microchemical Journal. – 1998.– V. 59. -№ 2. – P. 194-202.
- 167 Penuelas, J.The bioelements, the elementome, and the biogeochemical niche. [Text] / J.Penuelas , M.Fernández-Martínez , P.Ciais et. All // Ecology. -2019. - Vol.100. -Iss.5. -P.1-15. DOI:10.1002/ecy.2652.
- 168 Piccinini, L. A case-control study on selenium, zinc, and copper in plasma and hair of subjects affected by breast and lung cancer. [Text] / L.Piccinini // Biological Trace Element Research. – 1996.– V. 51. -№ 1. – P. 23-30.
- 169 Prasad, A.S. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later . [Text]/A.S.Prasad // Trace elements in medicine. -2012. -No26(2–3). -P.66–69.
- 170 Preeti Kalia. Studies on the effect of ethanolic extract of propolis in BALB/c mice / Preeti Kalia, Neelima R. Kumar, Kusum Harjai // Journal of Applied and Natural Science. -2014. -No 6 (2). -P.638-643.
- 171 Przybyłek, I. Antibacterial Properties of Propolis. [Text] / I.Przybyłek, M.T.Karpinski // Molecules. -2019. -No24. -P.2047.
- 172 Riccioc-binding to myelin basic-protein . [Text]// Neurochemical Research. – 1995.– V. 20, № 9. – P. 1107-1113.
- 173 Russell, S.T. Antidiabetic Properties of Zincci2-Glycoprotein in ob/ob Mice . [Text]/ S.T.Russell , M.J.Tisdale // Endocrinology. -2010. -No151(3). -P.948–957.
- 174 Santos, F.A. Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial antivity on periodontopathogens. [Text] / F.A.Santos, E.Bastos, A.Maia, M.Uzeda, M.Carvaho, I.Farias, E.Moreria // Phytotherapy Reserarch. - 2003. -No17. -P.285-289.
- 175 Savarino, G. Macronutrient balance and micronutrient amounts through growth and development. [Text] / G.Savarino, A.Corsello, GCorsello // Ital J Pediatr. -2021. -No47. -P.109 . <https://doi.org/10.1186/s13052-021-01061-0>
- 176 Savory, J. Trace-met als – essential nutrients or toxins. [Text] / J.Savory, M.

- R.Wills // *Clinical Chemistry*. – 1992.– V. 38. -№ 8. – P. 1565-1573.
- 177 Sforcin, J.M. Propolis and the immune system: a review . [Text]/ J.M.Sforcin // *Journal of Ethnopharmacology*. -2007. -No13. -P. 1-14.
- 178 Shakouri, A. Effectiveness of topical gel of medical leech (*Hirudo medicinalis*) saliva extract on patients with knee osteoarthritis: A randomized clinical trial. [Text] / A. Shakouri // *Complementary therapies in clinical practice*. -2018. -T.31. -C.352-359.
- 179 Shatova O.P. Bioelements: role in the development of diseases of civilization . [Text]/ O.P.Shatova , S.A.Zuikov , A.A.Zabolotneva , I.E.Mikin, D.V.Bril , A.V.Shestopalov , S. A. Roumiantsev // *East European Scientific Journal*. - 2021.-No11(75). -P.45-58.
- 180 Shikov A.N. *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch pharmacology and phytochemistry. [Text] / A.N.Shikov , O.N.Pozharitskaya , M.N.Makarova , et al.// *Phytomedicine*. -2014. -No21(12). -P.1534-1542.doi: 10.1016/j.phymed.2014.06.009.)
- 181 Shikov, A.N. *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch pharmacology and phytochemistry. [Text] /A.N.Shikov , O.N.Pozharitskaya , M.N.Makarova , et al.//*Phytomedicine*. -2014. -No21(12). -P.1534-1542.
- 182 Shittu, Oluwatosin Kudirat. Toxicological Implications of Methanol Extract from Nigerian Bee Propolis on Some Selected Rat Tissues. [Text] / Shittu, Oluwatosin Kudirat, A.N.Abubakar,B.Busari // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. -2015. -No 05(07). -P.524-531
- 183 Silva-Carvalho, R. Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities that can be Explored for Drug Development. [Text]/ R.Silva-Carvalho, F.Baltazar, C.Almeida-Aguiar// *Evid.Based Complementary Altern. Med.*-2015.-439 p.
- 184 Sloley, B.D. Comparison of chemical components and antioxidant capacity of different Echinacea species. [Text] /B.D.Sloley , L.J.Urichuk , C.Tywin et al// *J Pharm Pharmacol*. -2001. -No53(6). -P.849-857. doi: 10.1211/0022357011776009.
- 185 Tylkowski, B. Corrigendum to “Extraction of biologically active compounds from propolis and concentration of extract by nanofiltration. [Text] / B.Tylkowski, B.Trusheva, V.Bankova, M.Giamberini, G.Peev, A.Nikolova// *Journal of Membrane Science*. -2010. -No 34. -P. 124-130.
- 186 Viuda-Martos, M. Functional properties of honey: propolis and royal jelly . [Text]/M.Viuda-Martos, Y.Ruiz-Navajas, J.Fern’andez-L’opez, J.A.P’erez-‘Alvarez // *Journal of Food Science*. -2008. -No73 (9). -P.116-124.
- 187 Wang J. D. Mannese induced Parkinsonism - an outbreak due to an unrepaired ventilation control-system in a ferromanganese smelter . [Text]/ J. D. Wang //

- British Journal of Industrial Medicine. – 1989. – V. 46. -№ 12. – P. 856-859.
- 188 Weinstein Teixeira, A. Plant Origin of Green Propolis: Bee Behavior, Plant Anatomy and Chemistry . [Text]/ Weinstein A Teixeira, G. Negri,R.M.S.A. Meira, D.Message,A.Salatino // Evid. Based Complementary Alternat. Med. - 2005. -No2. -P.85–92.
- 189 Wilhelm M. Concentrations of lead in blood, hair and saliva of German children living in three different areas of traffic density . [Text]/M. Wilhelm // Science of the Total Environment. – 2002. – V. 297. -№ 1-3. – P. 109-118.
- 190 Yang D. Y. The determination of brain magnesium and zinc levels by a dual-probe microdialysis and graphite furnace atomic absorption spectrometry. [Text] / D. Y.Yang // Journal of the American College of Nutrition. – 2004.– V. 23. -№ 5.– P. 552S-555S.
- 191 Zabaïou, N.; Fouache, A.; Trousson, A.; Baron, S.; Zellagui, A.; Lahouel, M.; Lobaccaro, J.M.A.Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. [Text] / N.Zabaïou, A.Fouache, A.Trousson, S.Baron, A.Zellagui,M.Lahouel, J.M.A.Lobaccaro //Chem. Phys. Lipids. -2017. No27. - P.214-222.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах ВАК

[1-А] Амирова Г.Х. Противовоспалительные свойства прополиса [Текст] /Рахимов И.Ф., Эльназаров М.Х., Мусозода С.М. // Наука и инновация.- 2022.- №1- С.54-59.

[2-А] Амирова Г.Х. Физико-химическая характеристика прополиса полученного на территории Таджикистана [Текст]/ Рахимов И.Р., Эльназаров М.Х., Давлатзода Н.С., Шарипова Ш.М., Мусозода С.М. // Наука и инновация. 2022.- №3- С.18-23.

[3-А] Амирова Г.Х. Параметры острой токсичности прополиса [Текст] /Амирова Г.Х. // Наука и инновация. 2023- №2.-С.3-10.

[4-А] Амирова Г.Х. Адаптогенные свойства прополиса [Текст] /Рахимов И.Ф., Эльназаров М.Х., Мусозода С.М. // Наука и инновация. - 2023-№4- С.161-169.

Статьи и тезисы в сборниках конференций

[5-А] Амирова Г.Х. Получение водно-спиртового серебряного настоя прополиса (ПЦР-Х) и изучение его антимикробного свойства [Текст] /Джураев Х.Ш., Джамshedов Д.Н., Саидов А.А. // Фундаментальные и прикладные исследования в современном мире. Душанбе, 2017- Том 2- С- 361-363

[6-А] Амирова Г.Х. Местно-раздражающее и кожно-резорптивное действие сиропа прополиса [Текст] /И.Р.Рахимов., М.Х.Эльназаров., // XVIII Нумановские чтения «Развитие современной химии и её теоретические и практические аспекты» -2023.- С.204-210

Патенты, полученные по результатам исследования

1. Малый патент №ТJ 673 Республики Таджикистан. Шарбати «пропосинк» барои пешгирӣ ва муолиҷаи касалиҳои системаи гепатобилиарӣ. Чамshedов Ч.Н., Азонов Ч.А., Саидов А.А., Хайдаров К.Х., Амирова Г.Х. заявитель и патентообладатель Маркази илми тадқиқоти Вазорати “Ғизо”и Вазорати саноат ва технологияи нави Ҷумҳурии Тоҷикистон. -№673 заяв. 17.07.2014, зарегистр. 23.феврал с. 2015

2. Малый патент №ТJ 673 Республики Таджикистан. Мачмуи растаниҳои доругӣ “Холелитол”, ки хусусияти холелитики доранд. Чураев Ҳ.Ш., Раҳимов И.Р., Шарипов Х.С., Холова Ш.А., Амирова Г.Х., Муқимова Н.А., Ҳайдаров К.Ҳ. заявители ; Пажухишгоҳи химияи ба номи В.И. Никитин АИ Ҷумҳурии Тоҷикистон. -№747 заяв. 15.08.2014, зарегистр. 25 декабр с. 2015

3. Малый патент №ТJ810 Республики Таджикистан. Маводи доругӣ дар асоси маҳлули обию нуқрагӣ ва маҳлули спиртии прополис. Чураев Ҳ.Ш., Чамшедов Ҷ.Н., Ҳайдаров К.Ҳ., Амирова Г.Х. Пажухишгоҳи химияи ба номи В.И. Никитин АИ Ҷумҳурии Тоҷикистон, Маркази илми тадқиқоти фармасевтии Вазорати тандурусти ва ҳифзи иҷтимоии Ҷумҳурии Тоҷикистон. -№810 заяв. 15.08.2014, зарегистр. 23.ноябр с. 2015