

дидивидуальном, пероральном введении проявил 100% эффект от доз 4 и 5 мг/кг.

Во втором опыте использовали альбазен, содержащий 10, 20 и 30% действующего вещества альбендазола.

Сформировали четыре группы по 5 голов из валухов, спонтанно инвазированных стронгилятами легких и желудочно-кишечного тракта. Животным первой группы в смеси с сухим комбикормом скормили препарат по ДВ 5 мг/кг, что в перерасчете на лекарственную форму составило 50 мг/кг (10% концентрация), второй - 25 мг/кг (20% концентрация), третьей 16,7 мг/кг (30% концентрация). Валухи четвертой группы препарат не получали и служили контролем.

В результате исследований установлено, что чем меньше концентрация ДВ в лекарственной форме, тем эффект лучше, т.е. лечебный препарат равномерно смешивается с комбикормом и животные более равномерно съедали лечебный корм.

В опыте № 3 на 15 овцах, спонтанно инвазированных на 100% диктиокаулюсами и стронгилятами желудочно-кишечного тракта, испытывали альбазен с 20% содержанием альбендазола. Сформировали три равные группы. Животным первой группы в смеси с комбикормом скормили альбазен в дозе 20 мг/кг (4 мг/кг по ДВ), второй - 25 мг/кг (5 мг/кг по ДВ). Овцы третьей группы препарат не получали и служили контролем.

Доза альбазена 25 мг/кг (5 мг/кг по ДВ) проявила 100%-ный эффект. Эту дозу мы считаем терапевтической при 20%-ном содержании альбендазола в лекарственной форме.

Установленную терапевтическую дозу альбазена испытывали на 95 овцах разного возраста, спонтанно инвазированных на 44% диктиокаулюсами, на 78% нематолирами и на 100% стронгилятами желудочно-кишечного тракта других видов.

Расчитанную дозу препарата 25 мг/кг массы тела смешали с сухим комбикормом и рассыпали в кормушки с таким расчетом, чтобы животные все ели одновременно. Взяли 1/3 комбикорма от разовой дозы.

Установили, что лечебный комбикорм овцы съели за 7-10 минут. По данным копроскопии через 10 дней после лечения, они на 100% освободились от диктиокаулюсов и нематодир и на 97,6% - от стронгилят желудочно-кишечного тракта других видов. Это говорит о высокой эффективности альбазена.

#### **Эффективность альбазена при мониезиозе овец**

В опытах использовали альбазен, содержащий 20% действующего вещества.

Дозы альбазена взяли с учетом доз, используемых при стронгилятах желудочно-кишечного тракта. В девятом опыте препарат задавали индивидуально однократно перорально. Всего в опыте использовали 60 ягнят, спонтанно зараженных мониезиями. Из животных сформировали 3 равные группы. Животным первой группы альбазен ввели в виде водной суспензии перорально в дозе 10 мг/кг (2 мг/кг по ДВ), второй - 20 мг/кг (4 мг/кг по ДВ) массы тела. Ягнята третьей группы препарат не получали и служили контролем.

В первые дни после введения препарата проводили клинический осмотр животных. Эффективность альбазена учитывали через 10 дней после лечения по результатам копроовоскопических исследований и вскрытия трех животных из каждой группы и получили, что альбазен в дозе 40 мг/кг (4 мг/кг по ДВ) вызвал полное освобождение ягнят от мониезий. От дозы 30 мг/кг (3 мг/кг по ДВ) массы тела два животных продолжали выделять яйца мониезий. При вскрытии трех голов из каждой группы обнаружили: в контрольной группе в среднем 5,5 экземпляров, а у 2 животных первой группы было по 1 мониезий, у третьей - 0, что в среднем составило 0,5 экземпляра на голову. У ягнят второй группы мониезий при вскрытии не обнаружили.

Таким образом, при мониезиозе ягнят доза 40 мг/кг (4 мг/кг по ДВ) массы тела при индивидуальном пероральном введении является терапевтической.

При мониезиозе молодняка и взрослых овец альбазен можно применять групповым методом. Для подтверждения этого 10 головам молодняка, на 100% инвазированного мониезиями задали в смеси с небольшим количеством сухого комбикорма альбазен в дозе 40 мг/кг (4 мг/кг по ДВ), а 10 животным - в дозе 50 мг/кг (5 мг/кг по ДВ) массы тела; 10 голов препарат не получали и служили контролем.

Учет результатов провели через 10 дней после лечения. От дозы 40 мг/кг 2 животных продолжали выделять яйца мониезий, а доза 50 мг/кг вызвала полное освобождение овец от мониезий.

Полученные результаты исследований показали, что при групповом методе лечения доза альбазена составляет 50 мг/кг (5 мг/кг по ДВ) массы тела при однократном скармливании, т.е. при лечении мониезиоза и стронгилятозов овец групповым методом доза однократная, одинаковая и равняется 50 мг/кг массы тела.

УДК 619:615.3

**А.Н. Трошин***ФГОУ ВПО Кубанский государственный аграрный университет, г. Краснодар*

## **ЖЕЛЕЗО-ПРОТЕИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ФЕРРОТЕРАПИИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ**

Аграрное производство, использующее интенсивные искусственные условия содержания животных, создает предпосылки широкого распространения незаразных болезней животных, в том числе алиментарной железодефицитной микроцитарной анемии.

Недостаточное содержание железа в продуктах животноводства отрицательно сказывается на пищевом балансе человека. По данным английской статистики за последние шестьдесят лет содержание железа в среднем бифштексе снизилось на 55, в молоке на 62, а в сыре на 47% (Наука и жизнь, № 9, 2006).

В нашей стране по информации Е.В. Ших (2006) стандартный рацион взрослого человека содержит около 70% необходимого количества микронутриентов (54% железа, 40% витамина С, 65% витамина В<sub>1</sub>).

С древности и до настоящего времени для профилактики и лечения анемии применяют лекарственные средства, содержащие железо. Наряду со значительным прогрессом фармакологии и фармации, достижением современного уровня эффективности и безопасности ферропрепаратов, многие из них, включая энтеральные и парентеральные формы, имеют весьма существенные побочные эффекты, недостаточно полно усваиваются и медленно включаются в гемопоэз.

Ферропрепараты для орального применения, представленные в основном солевыми сульфатом и хлоридом, являются частой причиной расстройств пищеварения; при передозировках вызывают тяжелые отравления.

Имеются данные, что многократное введение декстрана железа в один и тот же участок мышцы может способствовать канцерогенезу. Кроме того, многие парентеральные ферропрепараты вызывают достаточно серьезные побочные проявления: боль в месте введения, вкус железа во рту, снижение аппетита, лихорадку, крапивницу, артралгии, астму, тошноту и расстрой-

ства кровообращения (Т.В. Казюкова с соавт., 2002). Глюконат железа для внутривенного введения настолько токсичен, что может применяться только в режиме низких доз. Декстран железа имеет невысокий, но значимый риск анафилаксии (В.М. Чернов и др., 2004).

С учетом имеющихся недостатков ферропрепаратов поиск новых лекарственных средств для профилактики и лечения железодефицитной анемии остается актуальным.

Анализируя существующий набор ферропрепаратов можно установить наличие на рынке двух и трехвалентных форм железа, причем первые чаще используются внутрь, а вторые в основном парентерально.

По химическому составу различают неорганические и органические соединения железа. Неорганические представлены сульфатом и хлоридом (внутренние формы), а органические декстраном и декстрином (инъекционные). Соответственно, в ферропрепаратах железо представлено в солевой, ионной форме или в виде гидроксида железа в комплексе с полисахаридми (а точнее гидроксидом железа стабилизированным декстраном или декстрином). В то же самое время в макроорганизме в чистом виде не встречается ни солей ни гидроксидов железа.

В обмене веществ макроорганизма железо используется, переносится и хранится не в ионном, и даже не в молекулярном виде, а как составляющее различных, преимущественно белковых комплексов и макроструктур.

Ярким примером является гемоглобин, содержащий гем, с которым железо образует своими двумя ковалентными и двумя координационными связями комплекс, и глобин, соединенный с железом координационными связями. Атом двухвалентного железа в гемоглобине стабилизируется (против необратимого окисления до Fe<sup>3+</sup>) гистидином глобина в виде пятой координационной связи атома Fe<sup>2+</sup>.

Двухвалентное железо в водных средах (в том числе биологических) при отсутствии свободного кислорода или других окислителей двухвалентное железо образует достаточно стабильные растворы ферро-аква-ионов  $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ . (R.R. Crichton с соавт., 2001).

Фентон (Fenton, 1894) первым наблюдал, что простая смесь препарата двухвалентного железа с перекисью водорода продуцирует свободный  $\text{OH}$  радикал.  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\cdot$

Трехвалентное железо, в малых количествах, взаимодействуя с перекисью, восстанавливает  $\text{Fe}^{3+}$  до  $\text{Fe}^{2+}$ .  $\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$

В случае поступления железа в организм в форме закиси  $\text{Fe}(\text{II})$ , ему необходимо окислиться для того, чтобы быть включенным в состав белков, выполняющих транспортную и накопительную функции: трансферрин и ферритин.  $\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^-$

В сумме эти окислительно-восстановительные процессы вызывают высвобождение активных радикалов, индуцирующих перекисное окисление структурных и функциональных компонентов клетки, и в итоге ее повреждение (В.М. Ермоленко, Н.Н. Филатова, 2004).

Спорадически появляются сообщения о случаях токсичности ферро(III)-препаратов после их внутримышечного или подкожного введения животным. Этот риск не столь велик, но токсичность все же наблюдается ([www.merckvetmanual.com](http://www.merckvetmanual.com)).

Таким образом, и двух- и трехвалентные препараты железа нуждаются в дальнейшем усовершенствовании.

Подобно гемоглобину, двухвалентный ферропрепарат теоретически может быть представлен биосовместимой, безопасной и биодоступной формой железа в комплексе органическим соединением (типа гема) и защитным лигандом протеином (типа глобина).

Таким образом, при поиске новых ферропрепаратов необходимо подбирать оптимальное сочетание железа, органического комплексообразователя и стабилизирующего белка, способствующие поддержке железа в двухвалентной форме в широком диапазоне pH на всем протяжении желудочно-кишечного тракта.

Феррохолинат может служить примером подобного рода конструкции. В этом хелате железо находится в эквимолекулярном соотношении с цитратом и холином.

Трехвалентное железо значительно более стабильно в водных средах (по сравнению с двухвалентным), так как не стремится

к окислению и не является источником свободных радикалов.

Идеальный препарат трехвалентного железа должен быть нетоксичным, нейтральным, стойким в широком диапазоне pH, иметь лиганд с высокой степенью сродства к железу. Для адекватной усвояемости этот хелатор должен достаточно быстро включаться в обмен веществ (E. Wildermuth с соавт., 1998).

По нашему мнению получение комплексных ферро(III)-протеиновых препаратов может способствовать прогрессу в этом направлении. В опыте на крысах A. Unger и С. Hershko (1974), инъецировав меченный радиоактивными изотопами ферритин, показали его практически полную утилизацию печенью и биодоступность для организма.

Безопасность ферро-органопротеинов (II и III) обусловлена тем, что те местные и общие негативные последствия, которые железо вызывает в организме, в случае с ферропротеинами уже произошли в момент их синтеза, то есть еще до попадания их в макроорганизм.

Биологическая деградация таких ферропротеиновых соединений в макроорганизме протекает без выделения свободных ионов железа, характерного для солевых и органических ферропрепаратов.

Биодоступность гемовых, аминокислотных и протеиновых форм железа, в том числе полученных химическим путем, стабильно высока (В.И. Дорожкин, 1998). Что касается метаболитов организма, то J.W. Halliday и L.W. Powell (1979) предложили использование ферритина в клинической медицине. Гемовое железо в желудочно-кишечном тракте абсорбируется в 2-3 раза лучше негемового и уровень его усвоения достигает 30%. (R. Yip, P.R. Dallman., 1996).

По данным А.Л. Lewis с соавторами (1999), биодоступность протеината железа соответствует усвояемости железа сульфата (этот показатель среди является максимальным для пероральных ферропрепаратов).

Победному шествию ферропротеинов по фармацевтическому рынку препятствуют три основных, до настоящего времени решенных не полностью, момента. Первый – растворимость, второй – стабильность и третий – стоимость синтеза.

Получение комплексов железо-протеин в растворимой (без разрушения хелата) и стабильной форме предложено в 1977 Н.Н. Ashmead. Железо находится в состоя-

ниях валентности два или три и координационной связи как минимум с тремя белковыми лигандами гидролизата. Препарат содержит до 40% сухого вещества, из которых 5-7% представлены железом, а остальные – гидролизатом.

Получают это соединение путем взаимодействия одной части сульфата железа с тремя частями гидролизованного растительного протеина в водной среде с последующим взаимодействием с одной частью гидроксида калия.

Нами в 2003–2005 годах в сравнительном аспекте изучены фармакотоксикологические свойства основных ферропрепаратов, с целью выбора ближайшего аналога для разработки нового усовершенствованного железосодержащего препарата. Анализ доступного литературного материала показал целесообразность усовершенствования металлоорганического препарата – фербитола. Фербитол является водным комплексом трехвалентного железа и спирта сорбита. Выбор фербитола в качестве прототипа объясняется рекомендациями по использованию его в ветеринарии и медицине в качестве лечебного средства при анемии в виде препарата как для инъекций так и для внутреннего применения.

Известным способом нами вначале был получен комплекс железо-сорбитол, а затем, смешиванием с горячей реакционной массой частично гидролизованного белка животного происхождения выделен хелат железо(III)-сорбитол-протеина, содержащий до 50% железа и 16% протеина.

Схематично формулу железо(III)-сорбитол-протеината, полученного в водной среде, можно выразить как  $Fe(H_2O)_6^{3+} \cdot RO \cdot RP$ , где  $RO$  – органический комплексообразователь, а  $RP$  – защитный протеин (хелатор) или в упрощенном виде  $Fe^{3+} \cdot RO \cdot RP$ .

Соединение представлено в водорастворимой форме, обеспечивающей получение как минимум однопроцентного раствора при комнатной температуре и нейтральном значении pH среды. Он может быть высушен, а впоследствии растворен в воде.

Исследования на лабораторных и сельскохозяйственных животных показали достаточную безвредность и эффективность препарата при его внутреннем и инъекционном применении. Препарат малотоксичен в остром и хроническом опытах, не обладает раздражающим и сенсibiliзирующим действием, не оказывает значитель-

ного влияния на иммунитет и не обладает канцерогенностью. Препарат быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте и при парентеральном введении. При введении препарата орально, подкожно, внутримышечно и внутривенно максимальные концентрации препарата в организме наблюдаются через 12–24 часов. Содержание железа в органах и тканях остается на высоком уровне до 3-х суток, значительно снижается к пятому дню и уже к седьмому дню в органах и тканях не обнаруживается (А.Н. Трошин, 2005).

Железо(III)-сорбитол-протеиновый комплекс зарегистрирован как изобретение (патент RU 2280457).

Аналогичным образом получен собственно ферропрепарат, соответственно заменив в приведенной выше формуле ферри-железо на ферро-железо, получили  $Fe(H_2O)_6^{2+} \cdot RO \cdot RP$  где  $RO$  – органический комплексообразователь, а  $RP$  – протеин (хелатор) или  $Fe^{2+} \cdot RO \cdot RP$ .

В качестве металлоорганического комплекса использовали водный раствор двухвалентного железа глюконата, а в качестве хелатора альбумин.

Описанным методом возможно получение протеиновых форм двух и трехвалентных ферропрепаратов (в том числе обладающих ферромагнитными свойствами), в частности аскорбината, гумата, ксилита, лактата, оксалата, сукцината, цитрата, фумарата, глицерофосфата и других. В качестве протеина используем нативные, частично или полностью гидролизованные белки животного или растительного происхождения, такие как альбумин, казеин, коллаген и т.д.

Фармакотоксикологические свойства полученных железо-органо-протеиновых препаратов изучены на лабораторных животных. В частности для трехвалентного соединения установлено, что при подкожном, внутримышечном и пероральном применении в максимально вводимых дозах раствор препарата (7,5-ный по  $Fe^{3+}$ ) не вызывает летального эффекта при исследовании на лабораторных животных. При внутривенном введении железо(III)-сорбитол-протеината  $LD_{50}$  для крыс 1325 мг  $Fe^{3+}$ /кг, а  $LD_{50}$  для мышей 1162 мг  $Fe^{3+}$ /кг. Для фербитола аналогичный показатель  $LD_{50}$  для мышей составляет 25 мг  $Fe^{3+}$ /кг (www.hazard.com).

Исследования выполнены при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере г. Москва.

**Выводы.** Для повышения эффективности и безопасности ферротерапии предложен способ синтеза ферропрепаратов, заключающийся в том, что вначале получают органические комплексы железа, а затем стабилизируют их протеинами. Вве-

**SUMMARY**

**Synthesis iron-organic-protein preparations is the way for increase of efficiency and safety ferrotherapy. Addition 16% of a protein in iron-sorbitol has allowed increase the contents iron in a preparation to 50%, to decrease toxicity and increase it bioavailability.**

дение в железо-сорбитол до 16% протеина позволило увеличить содержание в препарате железа до 50%, снизить токсичность и повысить биодоступность полученного железо(III)-сорбитоло-протеинового комплекса.

**Литература**

1. В.И. Дорожкин. Фармакологические и токсикологические свойства биокоординационных соединений: Автореф. дисс. докт. биол. наук. Воронеж, 1998. 45с.
2. В.М. Ермоленко, Н.Н. Филатова. Физиология метаболизма железа. Анемия, № 1, 2004. С. 3-10.
3. Т.В. Казюкова и др. Дефицит железа у детей: проблемы и решения // Consilium-Medicum приложение, 2002. Т. 4, № 3.
4. Наука и жизнь, № 9, 2006.
5. А.Н. Трошин. Лабораторное исследование, изготовление и апробирование лекарственного средства для профилактики и лечения железодефицитной анемии «ферро-квин» / Информационная карта, научный отчет // Всероссийский научно-технический информационный центр, ВНТИЦ, Москва, 13 октября 2005, 217 с.
6. Чернов В.М. и др. Применение внутримышечных препаратов железа в клинической практике // Гематология и трансфузиология, 2004, т. 49, № 3.
7. Е.В. Ших. Взаимодействие железа и кальция. Русский медицинский журнал. Т. 14, № 4, 2006, с. 274-276.
8. H.H. Ashmead. US Pat. 4216144.
9. R.R. Crichton. Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences 2nd ed. 2001 John Wiley & Sons Ltd. 355 с.
10. H.J.H. Fenton (1894). J. Chem. Soc., Trans., 65, 899-910.
11. J.W. Halliday, L.W. Powell. Use of serum ferritin and isoferritins in clinical medicine: Prog. Hematol. (1979) 11, 229.
12. www.hazard.com, Jectofer.
13. www.merckvetmanual.com, iron.
14. A. Unger, C. Hershko (1974). Br. J. Haematol., 28, 169-79.
15. E. Wildermuth с соавт. Iron Compounds for the Treatment of Anemia 1998 / Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 6-th ed., CD-ROM, 2002.
16. R. Yip, P.R. Dallman (1996). Iron. In Ziegler, E.E. & Filer, L.J. (eds). Present knowledge in nutrition (7-th Ed), ILSI Press, Washington DC. P. 278-292.

УДК 619:616.988:612.01711:636.93

**Т.А. Беспалова, Г.Н. Сидоров, Е.А. Хитрова**

*Институт ветеринарной медицины Омского ГАУ*

**КОРРЕКЦИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ЗДОРОВЫХ НОРОК И ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ**

**Введение**

Сообщения о коррекции иммунного статуса норок в норме и при инфекционной патологии, в частности при алеутской болезни (АБ), немногочисленны, хотя практическая иммунология располагает довольно широким арсеналом препаратов, корригирующих иммунный статус животных. Использование иммуномодуляторов в общем комплексе противоэпизоотических мероприятий позволяет повысить биологическую продуктивность инфицированных зверей, способствуя улучшению качества их меха, снижению процента гибели и недополучения приплода, что позволяет сократить ущерб, негативно отражающийся на экономических показателях. В связи с этим, изучение влияния иммуно-

дулятора фоспренил на количественные показатели критериев оценки иммунного статуса у здоровых норок и инфицированных вирусом АБ, является актуальным.

В последние годы новый растительный препарат фоспренил нашел широкое применение в ветеринарной практике. Он является продуктом фосфорилирования полипренолов хвои сосны и используется для стимуляции естественной резистентности и иммунореактивности, лечения и профилактики вирусных болезней мелких домашних, сельскохозяйственных животных, птиц, кроликов, пчел, пушных зверей [2, 3, 4, 5].

Иммуномодуляторы растительного происхождения, в сравнении с синтетическими препаратами, обладают рядом пре-