

ОЦЕНКА БИОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНЫХ СУСПЕНЗИЙ БЕРЕСТЫ НА ПРОСТЕЙШИХ

П. А. Красочко, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор

М. А. Понаськов, магистр ветеринарных наук

Д. Н. Мороз, магистр ветеринарных наук, аспирант

О. Н. Горелова, соискатель

*Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины,
г. Витебск, Республика Беларусь*

Резюме. Приведены результаты исследований по изучению биоцидного действия водной суспензии бересты на простейших. Установлено, что инфузория-туфелька *Paramecium caudatum* может быть использована в качестве недорогого, удобного тест-объекта для оценки биоцидного действия водной суспензии бересты. Изучаемая водная суспензия бересты обладает выраженными биоцидными свойствами, ее можно рекомендовать при конструировании ветеринарных препаратов как высокоактивную экологически безопасную субстанцию.

Ключевые слова: биоцидная активность, береста, тритерпеноиды, бетулин, простейшие, инфузория.

Summary. The results of studies on the bio-cydic effect of an aqueous suspension of birch bark on protozoa are presented. It has been found that the *Paramecium caudatum* infusory shoe can be used as an inexpensive, convenient test object for evaluating the biocidal effect of an aqueous birch bark suspension. The studied aqueous suspension of birch bark gives pronounced biocidal properties, which can be recommended in the design of veterinary preparations, as a highly active environmentally safe substance.

Keywords: biocidal activity, birch bark, triterpenoids, betulin, protozoa, infusory.

Введение. При современном ведении животноводства инфекционные болезни, особенно факторные, играют ведущую роль в патологии животных. К ним относятся болезни, в этиологии которых играют роль вирусы, бактерии, хламидии, простейшие. Для борьбы с ними наряду с вакцинами большое место занимают лекарственные средства. При этом все больше внимания приобретает поиск новых лекарственных средств противирусного и антибактериального действия. Особенно это относится к лекарственным препаратам на основе растительного сырья, которые по сравнению с синтетическими аналогами имеют ряд преимуществ [2–6, 8, 10].

Проведенные за последнее время исследовательские работы дают основание возлагать надежды на введение в лечение ряда заболеваний препаратов на основе тритерпеноидов. Тритерпеноиды, широко распространенные в составе различных растений, обладают ценной биологической активностью. Тритерпеноиды включают лупеол, бетулин и их производные [1, 7, 9, 11].

Основным источником лупеола и бетулина в природе является береста. Впервые лупеол и бетулин были получены с помощью нагревания коры в 1788 г. Ловицом. Название «бетулин» впервые было применено Мейсоном в 1831 г. Позже бетулин был выделен экстракцией. Береста имеет две четко различимые части – внешнюю и внутреннюю. Наружная часть коры наиболее богата экстрактивными веществами: их содержание достигает 40 %. Основным компонентом почти всех экстрактов коры является бетулин. Кора березы содержит разнообразные экстрактивные вещества, обладающие биологической активностью и представляющие потенциальный интерес для получения новых продуктов и фармакологических препаратов [1, 7, 11].

В экстрактах внешней коры различных видов берез преобладают пентациклические тритерпеноиды ряда лупана, основным компонентом которых является бетулин, обуславливающий белый цвет коры березы (рис. 1).

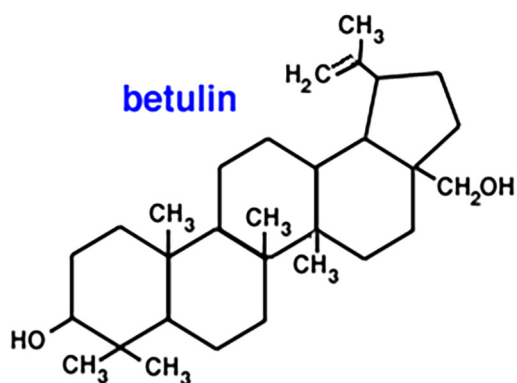


Рис. 1. Структурная формула бетулина

В сухом экстракте бересты содержится более 70 % бетулина – пентациклического тритерпенового спирта ряда лупана. По данным ряда ученых, бетулин и его производные обладают широким спектром фармакологической активности – противовоспалительной, гепатозащитной, антитоксической, противоопухолевой и др. [1, 7, 11]. Береста представляет большой интерес для химической переработки с целью получения новых продуктов и биологически активных веществ для практической медицины. По результатам исследований ряда ученых была установлена высокая антиоксидантная, антигипоксантная, гепатопротекторная, желчегонная, гипо-

липидемическая, противовоспалительная, противовирусная, противоопухолевая, адаптогенная, антимуtagenная, иммуномодуляторная активность бересты и ее экстрактов [9].

На кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ и ООО «Данко» разработана технология получения водной суспензии бересты, которую получают путем экстракции с использованием гидрофильных растворителей при воздействии ультразвука различной мощности и частоты. Одним из показателей биологических свойств водной суспензии бересты является оценка биоцидной активности на простейших.

Учитывая уникальные свойства этого биологического сырья, **целью** нашего исследования являлось изучение биоцидного действия водной суспензии бересты на инфузорию-туфельку (*Paramecium caudatum*).

Материалы и методы. Изучение биоцидного действия водного экстракта бересты проводили согласно методическим рекомендациям «Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты)» [12].

Изучение влияния водной суспензии бересты проводили на модели свободноживущей инфузории-туфельки *Paramecium caudatum* согласно методическим рекомендациям «Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты)» [12] (рис. 2). Для культивирования парамеций использовали среду Лозина–Лозинского при pH водной среды от 6,2 до 7,8 и температурном оптимуме от 20 до 26 °С. Пищей для парамеций служили живые дрожжи *Rhodotorula gracilis* с добавлением пшеничной муки. Для

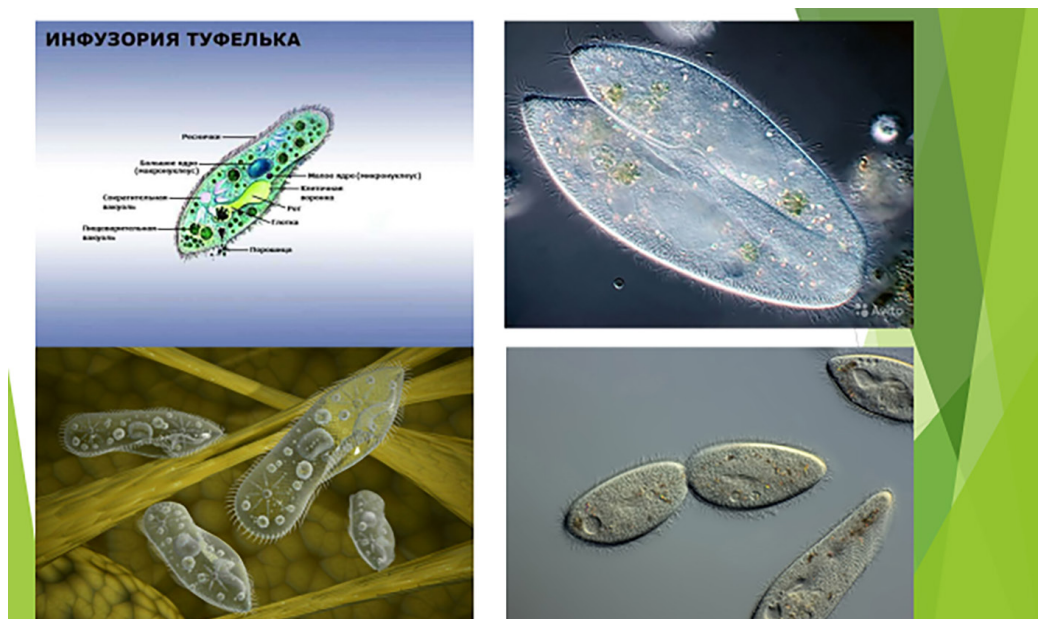


Рис. 2. Микрофотографии *Paramecium caudatum*

изучения биоцидных свойств проводили экспресс-оценку биоидной активности водной суспензии сосновой живицы.

Для изучения биоцидных свойств проводили экспресс-оценку биологической активности водной суспензии бересты. Для этого в 24 пробирок наливали по 9,9 мл культуры инфузорий *Paramecium caudatum* в стационарной фазе роста. В качестве контроля использовали дистиллированную воду, известный бактерицид (норфлоксацин), адаптоген (элеутерококк). В первую пробирку добавляли 0,1 мл водной суспензии березового гриба. Получали его разведение 1:100. Методом последовательных разведений получали разведения исследуемого соединения в разведении 1:1000; 1:10 000; 1:100 000; 1:1 000 000; 1:10 000 000.

Состояние парameций оценивали по следующим критериям: ПН – индифферентность (клетки совершают равномерные броуновские движения); БА – биоактивность (движения клеток изменены); БЦ50 – биоцидность водного экстракта (погибло 50 ± 5 % клеток); БЦ100 – биоцидность (погибло 90 ± 10 % клеток).

В контроле при каждом наблюдении в микроаквариуме должно быть не менее 100 инфузорий, совершающих равномерные броуновские движения.

Оценку результатов осуществляли по следующим критериям: ИМ – вещество не проявляет биоцидного действия; БЦ – биоцидность: 1 : 1 000 – слабая; 1 : 10 000 – средняя; 1 : 100 000 – сильная; 1 : 1 000 000 – высокая.

Результаты исследований. В ходе проведения серии опытов по оценке биоцидного действия водной суспензии бересты были получены качественные результаты, которые отражены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Скрининг по критерию «концентрация – эффект»

Исследуемое вещество	Биоцидность в разведениях $1 \times n^{-1}$					
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Контроль	–	–	–	–	–	–
Водная суспензия бересты	+	+	+	+	+	±

Согласно данным табл. 1, изучаемая водная суспензия бересты имеет высокую биоцидную активность. Разведения водной суспензии сосновой живицы от 10^{-1} до 10^{-7} однозначно проявляла высокую биоцидность в отношении парameций. Растворы водной суспензии сосновой живицы в разведении 10^{-1} до 10^{-7} не оказывают влияния на жизнеспособность инфузорий.

Результаты изучения влияния водной суспензии бересты на выносливость *Paramecium caudatum* к токсической нагрузке отображены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Скрининг по критерию «концентрация – продолжительность сопротивляемости клеток функциональной нагрузке»

Исследуемое вещество	Биоцидность в разведениях $1 \times n^{-1}$					
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Контроль	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Элеутерококк	–	1,567	1,921	1,333	1,015	1,001
Норфлоксацин	–	–	0,699	1,052	0,962	0,855
Водная суспензия бересты	–	–	0,655	0,988	0,856	0,799

П р и м е ч а н и е. – биоцидное действие.

Полученные данные свидетельствует, что элеутерококк способствует повышению сопротивляемости клеток, а норфлоксацин и водная суспензия бересты проявляет выраженное биоцидное действие.

Результаты определения биологической активности водной суспензии бересты по интенсивности размножения парамеций приведены в табл. 3.

Согласно данным табл. 3, раствор водной суспензии сосновой живицы в концентрации 1×10^{-7} повышает интенсивность деления парамеций в 1,589 раза.

Т а б л и ц а 3. Влияние водной суспензии сосновой живицы на размножение инфузорий

Исследуемое вещество	Оптимальная концентрация $1 \times n^{-1}$	Индекс интенсивности размножения инфузорий
Контроль	–	1,000
Водная суспензия бересты	5	1,589

Заключение. Инфузория-туфелька *Paramecium caudatum* может быть использована в качестве недорогого, удобного тест-объекта для оценки биоцидного действия водной суспензии бересты.

Исследуемая водная суспензия бересты обладает выраженными биоцидными свойствами.

Биологически активную субстанцию на основе бересты можно рекомендовать при конструировании ветеринарных препаратов, как высокоактивную экологически безопасную субстанцию.

Список использованных источников

1. Влияние экстрактов бересты на морфологические изменения печени крыс при введении тетрахлорметана / О. Р. Грек [и др.] // J. of Siberian Med. Sci. – 2015. – № 2. – С. 30–37.
2. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубан. гос. аграр. ун-т им. И. Т. Трубилина, Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биол. промышленности, Витеб. гос. акад. вет. медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.
3. Изучение антибактериальных и биоцидных свойств сосновой живицы / П. А. Красочко [и др.] // Сб. науч. тр. КНЦЗВ. – 2021. – Т. 10. – № 1. – С. 24–29.
4. Изучение биоцидного влияния комплексного соединения на основе серебра и йода на модели свободноживущей инфузории-туфельки *Paramecium caudatum* / П. А. Красочко [и др.] // Вестн. Алтайс. гос. аграр. ун-та. – 2020. – № 4 (186). – С. 91–98.
5. Изучение биоцидных свойств нового средства на основе модифицированной пчелиной перги / П. А. Красочко [и др.] // Аграрная наука. – 2021. – № 2. – С. 22–26.
6. Изучение биоцидных свойств нового средства на основе модифицированной пчелиной перги / П. А. Красочко [и др.] // Дополнительное профессиональное образование агропромышленного комплекса: научное обеспечение : материалы II Междунар. науч.-практ. конф. «Андреевские чтения». – М., 2021. – С. 431–440.
7. Изучение состава этанольного экстракта бересты и его токсико-фармакологических свойств / С. А. Кузнецова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 137–141.
8. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие для студ. ф-та вет. медицины по специальности 1–74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям / И. Н. Громов, В. С. Прудников, П. А. Красочко, Н. С. Мотузко, Д. О. Журов. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.
9. Противовоспалительные свойства экстрактов *Agrimonia pilosa Ledeb* и бересты *Betula pendula Roth* / С. П. Позднякова [и др.] // Сибир. мед. обозрение. – 2011. – № 5. – С.11–20.
10. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П. А. Красочко, В. М. Голушко, Е. А. Капитонова // Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства: тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству». – 2008. – С. 292–294.
11. Тургунбаев, Ш. Ш. Изучение экстрактивных веществ *Betula pendula*, произрастающей в Узбекистане / Ш. Ш. Тургунбаев, А. Х. Хаитбаев // XI Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых «Россия молодая» ; Кузбас. гос. техн. ун-т имени Т. Ф. Горбачева. – Кемерово, 2019. – С. 11–15.
12. Шабунин, С. В. Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты): методические рекомендации / С. В. Шабунин [и др.]. – М. ; Воронеж : Всерос. науч.-исслед. вет. ин-т патологии, фармакологии и терапии, 2006. – 51 с.