

СОЗДАНИЕ НАНОРАЗМЕРНОЙ ФОРМЫ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ, РОСТ И РАЗВИТИЕ КРОЛИКОВ

Докладчик: Федорова Алена Владимировна, аспирант

Доклад подготовили:

Еримбетов К.Т., д.б.н., научный руководитель

Бондаренко Е.В., Гончарова А.Я., Фрог Е.С.

ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

Цель исследования

Разработка наноразмерной формы 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном, с улучшенными характеристиками растворимости и биодоступности, обеспечивающего повышение антиоксидантного статуса организма и увеличение продуктивности кроликов

Материалы и методы исследований

1. Клатратные комплексы 20-гидроксиэкдизона с β -циклодекстрином, арабиногалактаном и гуммиарабиком были получены твёрдофазным методом синтеза на шаровой планетарной мельнице. Измерение размера полученных частиц проведено на приборе Zetasizer Nano ZS. Сравнительный анализ наработанных клатратных комплексов 20-гидроксиэкдизона был проведен методами ИК и УФ спектроскопий.
2. Исследование биодоступности клатратных комплексов 20-гидроксиэкдизона проводили на 146 крысах линии Wistar. Крысам соединения вводили однократно внутрижелудочно в дозе 30 мг/кг. Кровь отбирали через интервалы времени: 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 и 24 часа после введения. На каждую временную точку брали по 5 крыс. Количественное определение 20-гидроксиэкдизона в плазме крови крыс проводили методом ВЭЖХ.
3. Эксперимент проведен на 18 кроликах породы Советская Шиншилла в период от 6- до 18 - недельного возраста. Было сформировано 3 группы по 6 кроликов. Животным 1-й группы вводили суспензию арабиногалактана в крахмальном геле; 2-й группы - клатратный комплекс 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозе 1 мг/кг; 3-й группы - клатратный комплекс 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозе 5 мг/кг.

Материалы и методы исследований

Антиоксидантный статус организма кроликов оценивали на основе определения концентрации малонового диальдегида и активности ферментативного звена антиоксидантной системы в крови. В частности, на основе определения активности ферментов супероксиддисмутаза и каталазы в эритроцитах

Неспецифическую резистентность организма подопытных кроликов оценивали на основе определения бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) и лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК).

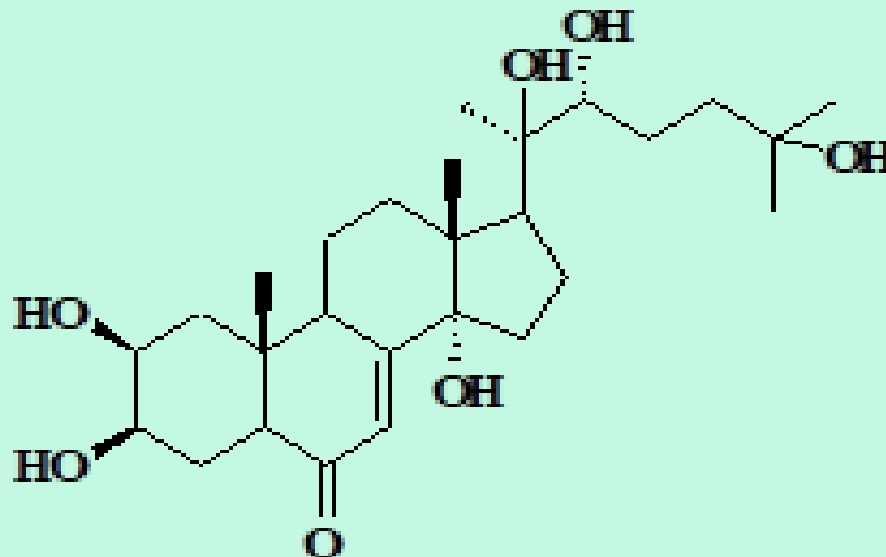
Характеристика 20-гидроксиэкдизона

20-гидроксиэкдистерон, отличается дополнительной гидроксильной группой в 20-м положении, стероид растительного происхождения, содержится в корнях Левзеи сафроловидной и других растений, имеет следующую структурную и эмпирическую формулу и молекулярную массу:

Эмпирическая формула: $C_{27}H_{44}O_7$

Молекулярная масса: 480,64

Содержит не менее 98,58 % 20-гидроксиэкдистерона



Результаты исследований

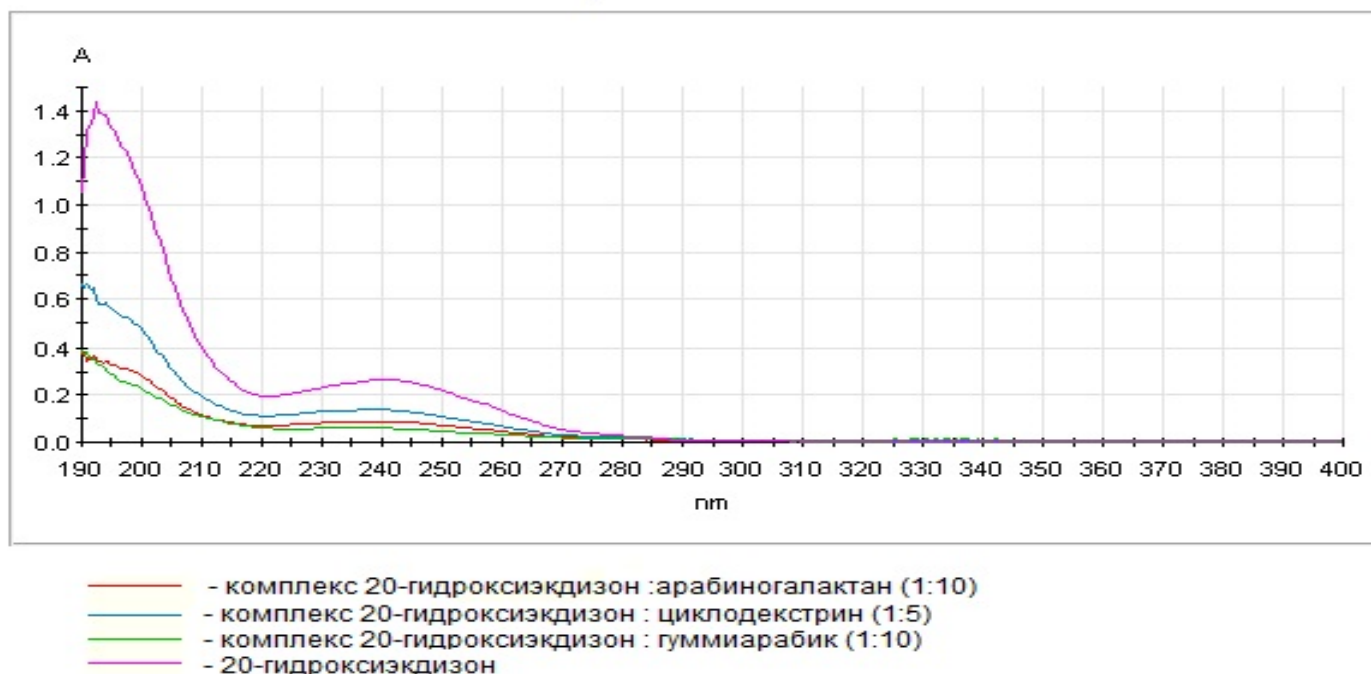
Полученные клатратные комплексы имели кристаллическую форму в виде наночастиц размером менее 100 нм. Например, комплексы 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном, при оптимальном массовом соотношении 1:10 были выделены в виде мелкодисперсного подвижного порошка светло жёлтого цвета со средним размером частиц 35,3 нм



Результаты исследований

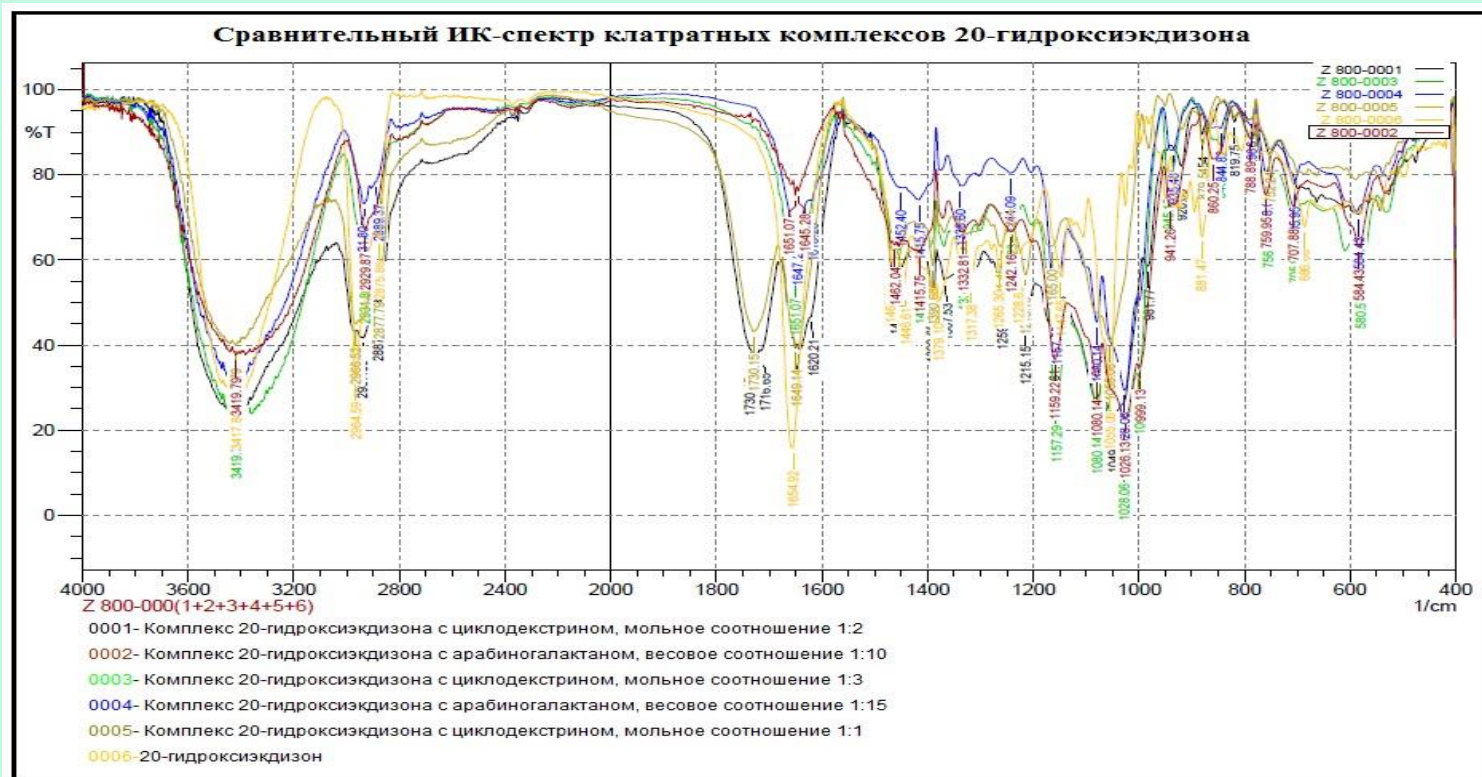
В УФ-спектрах комплексов 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном и β -циклодекстрином отмечено существенное падение интенсивности «максимумов», что свидетельствует о высокой степени его связывания в клатратных комплексах, как в первом, так и во втором случаях

Сравнительный УФ - спектр клатратных комплексов 20-гидроксиэкдизона



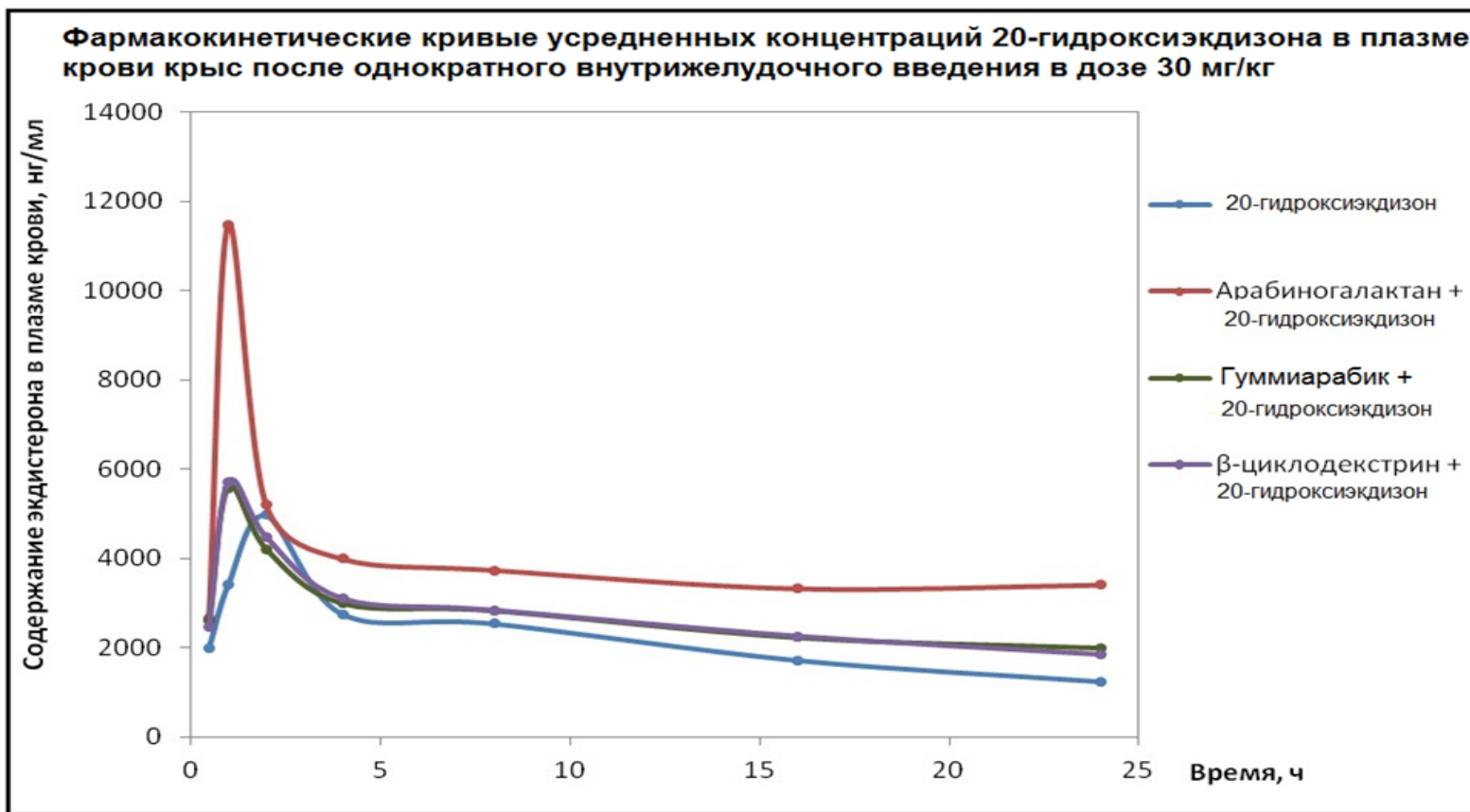
Результаты исследований

В ИК-спектрах показано снижение интенсивности сигналов характерных групп 20-гидроксиэкдизона, в частности, полос поглощения в областях 2984 см⁻¹ и 1055 см⁻¹ связанных с валентными колебаниями алкильных групп, а также полосы поглощения 1654 см⁻¹ соответствующей валентным колебаниям кето-группы. Однако наибольшее перекрытие сигналов отмечено в спектрах комплексов 20-гидроксиэкдизона с циклодекстрином и арабиногалактаном, в соотношениях 1:3 и 1:10 (номера 0002 и 0003 соответственно)



Результаты исследований

1. В процессе исследования биодоступности 20-гидроксиэкдизона и его наноразмерных форм была разработана методика количественного анализа методом ВЭЖХ в плазме крови. Для 20-гидроксиэкдистерона калибровочная кривая была линейна в диапазоне 1- 4000 нг/мл, коэффициент достоверности аппроксимации составил 0,999. Нижний предел количественного обнаружения - до 10 нг/мл
2. Установлено, что наилучшей биодоступностью обладает композиция 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в соотношении 1:10



Результаты исследований

Рост и развитие кроликов при 69-суточном введении клатратного комплекса 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
Предварительный период (до введения - в течение 14 суток)			
Масса тела в начале, г	1128±103,9	1191 ± 89,5	1191 ± 85,2
Масса тела в конце, г	1454 ± 111,0	1404 ± 50,5	1502 ± 60,0
Абсолютный прирост массы тела, г	285± 60,4	260 ±24,3	312 ± 35,0
Среднесуточный прирост массы тела, г	20,4 ± 4,31	18,6 ± 1,73	22,3± 2,50
Основной период (через 69 суток после введения препарата)			
Масса тела в начале, г	1454 ± 111,0	1404 ± 50,5	1502 ± 60,0
Масса тела в конце, г	2653 ± 143,3	3062 ± 21,6*	3086 ± 62,4*
Абсолютный прирост массы тела, г	1199± 117,0	1658 ±71,4***	1583 ± 74,2*
Среднесуточный прирост массы тела, г	17,4 ± 1,69	24,0 ± 1,03***	23,0± 1,07*
Относительный прирост, %	58,80 ± 5,21	74± 3,70**	69,13± 3,51
CW (удельная скорость роста, 1/сутки)	0,02 ± 0,005	0,025± 0,003*	0,023± 0,003
K (константа роста)	1,40 ± 0,33	1,81± 0,23**	1,61± 0,18

Примечание: в табл.: *P<0,05; **P<0,02; ***P<0,01 по U-тесту при сравнении с контролем

Результаты исследований

Эффективность использования корма кроликами при 69-суточном введении клатратного комплекса 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
Основной период (через 69 суток после введения препарата)			
Потреблено корма на 1 голову, кг	$10,45 \pm 1,05$	$8,46 \pm 1,52$	$9,37 \pm 0,83$
Расход корма на единицу прироста, кг	$7,26 \pm 0,97$	$4,89 \pm 0,72^*$	$5,85 \pm 0,88^*$
Расход обменной энергии на единицу прироста, МДж	$66,54 \pm 9,93$	$43,32 \pm 6,92^*$	$51,82 \pm 8,84^*$
Расход протеина на единицу прироста, кг	$1,11 \pm 0,15$	$0,72 \pm 0,11^*$	$0,88 \pm 0,12^*$

Примечание: в табл.: * $P < 0,02$ по U-тесту при сравнении с контролем

Результаты исследований

Показатели антиоксидантного статуса организма кроликов при 75-суточном введении клатратного комплекса 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	Группы		
	1-я контроль	2-я опытная	3-я опытная
Через 45 суток			
СОД, Ед/г Нб	52,38±3,01	61,90±3,01*	64,28±3,19***
Каталаза, пкат/эритроцит	40,4±5,51	59,4±5,76*	63,75±4,25**
Через 75 суток			
СОД, Ед/г Нб	49,4±1,78	76,0±7,35****	71,1±8,59**
Каталаза, пкат/эритроцит	48,4±1,75	56,0±1,76***	56,20±2,80*
МДА, мкмоль/л	13,96±1,39	9,17±0,47*****	10,24±0,60**

Примечание: в табл.: * $P < 0,05$; ** $P < 0,03$; *** $P < 0,02$; **** $P < 0,02$;
***** $P < 0,004$ по U-тесту при сравнении с контролем

Результаты исследований

Показатели неспецифической резистентности организма кроликов при 69-суточном введении клатратного комплекса 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
БАСК, %	52,38±3,01	61,90±3,01*	64,28±3,19**
ЛАСК, мкг/мл	47,12±0,47	53,22±1,52**	54,90±0,99**

Примечание: в табл.: * $P < 0,05$; ** $P < 0,02$ по U-тесту при сравнении с контролем

Заключение

Установлено, что введение кроликам разработанного оригинального клатратного комплекса 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела обеспечивает повышение активности антиоксидантной системы организма, интенсивности роста кроликов и эффективности использования корма

Благодарю за внимание!