

3. Sandy Stuttgart. Vaccination to Improve Calf Health in Wisconsin Beef Cattle Herds. University of Wisconsin, 2013. pp. 2-3.

4. *Vremennoe nastavlenie po primeneniyu preparata STF-1/56 TiM zhidkogo*. [Temporary instruction on the use of STF 1/56 TiM liquid formulation]. Timofeevsk, 2013. 2 p.

5. Levchenko V.I., Vlizlo V.V., Kondrakhin I.P. e.a. *Veterinarna klinichna biokhimiya*. [Veterinary clinical biochemistry]. Belaya Tserkov', 2002. pp. 62-65.

6. Alekseev A.I., Volkov A.M., Ivanova R.I. e.a. *Opyt vyrashchivaniya telyat s primeneniem probiotika Sporobakterina*. [The experience of growing calves with probiotic Sporobacterin]. *Agrarnyy vestnik Urala*. 2015. no. 2 (132). pp. 12-15.

7. Sobeshchanskaya E.M., Lizogub M.L., Plakhotnyuk E.V. *Vliyanie kachestva moloziva na sokhranost' novorozhdennykh telyat*. [Influence of colostrum

quality on the safety of newborn calves]. *Izvestiya Tavriy. Simferopol'*, 2016. no. 8(171). pp. 95-99.

8. Korableva T.R., Senchuk I.V. *Vliyanie probiotika Prolam na pokazateli estestvennoy rezistentnosti i metabolicheskoy status novorozhdennykh telyat*. [Influence of Prolam probiotic on parameters of natural resistance and metabolic status of newborn calves]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2016. no. 4(56). pp.53-57.

9. Chumachenko V.E. *Opreделение estestvennoy rezistentnosti i ob-mena veshchestv u sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh*. [Determination of natural resistance and metabolism in farm animals]. Kiev: Urozhay, 1990. pp. 63-102.

10. Lapin G.F. *Biometriya: uchebnoe posobie dlya biol.spets. vuzov*. [Biometrics: a tutorial for the Biol.univer]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 325 p.

УДК 619:615

Исследование химического состава и токсических свойств фитокомплекса, содержащего биологически активные вещества

Латушкина Наталья Александровна, мл. научный сотрудник,
Ивановский Александр Александрович, доктор вет. наук, зав. лабораторией,
Тимкина Елена Юрьевна, кандидат с.-х. наук, ученый секретарь
ФГБНУ НИИСХ Северо-Востока, г. Киров, Россия

E-mail: timkina.elena@mail.ru

Цель исследований заключалась в изучении химического состава и токсических свойств фитокомплекса растений, обладающих наиболее выраженными адаптогенными свойствами. Объект исследования: фитокомплекс включающий в себя левзею сафлоровидную (*Rhaponticum carthamoides*), серпуху венценосную (*Serratula coronata*), лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria*). Первоначально у отобранных растений определяли химический состав, а затем извлеченный из фитокомплекса спиртовой экстракт испытывался на токсичность на белых мышах. Исследование токсичности экстракта изучаемого фитокомплекса проводили на мышах, распределённых на 2 опытные и 2 контрольные группы ($n = 5$ в группе), которым его вводили парентерально и интрагастрально однократно в объёме 0,5 мл/мышь, максимальная доза экстрактивных веществ фитокомплекса составляла 2,5 г/кг массы тела в пересчете на сухое вещество. В контроле в таком же объёме однократно вводили физиологический раствор. В течение 10 дней отслеживали клиническое состояние животных. Перед началом и по окончании эксперимента исследовали кровь на количество эритроцитов, лейкоцитов и концентрацию гемоглобина. Результаты исследований фитокомплекса, содержащего водно-спиртовые экстракты трав *Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata*, *Filipendula ulmaria*, показали, что из биологически активных веществ в нём преобладают аминокислоты: аспарагиновая (3,5-3,9 г/100 г), глутаминовая (2,5-3,0 г/100 г), лейцин (1,9-2,0 г/100 г), тирозин (1,2-1,4 г/100 г), лизин (1,6 г/100 г); витамины: С (62,0-77,0 мг%), Е (6,2 мг%), каротиноиды (65,0-113,0 мг%), РР (11,5 мг%), экдистероиды (418,0-2170 мг/кг) и флавоноиды (3,0-7,2% от сухого вещества). Все травы фитокомплекса содержат в своем составе протеин, сахара, витамины, аминокислоты, дубильные вещества и флавоноиды. При интрагастральном и интраперитонеальном введении фитокомплекса белым мышам зафиксировано отсутствие токсических свойств.

Ключевые слова: лабазник вязолистный, левзея сафлоровидная, серпуха венценосная, экдистероиды, белые мыши, аминокислоты, витамины

В настоящее время с целью повышения экономической эффективности отрасли животноводства большой интерес представляет использование в качестве кормовых и биологически активных добавок фитокомплексов.

Ранее проведенными исследованиями в 2011-2015 гг. на телятах и поросятах-отъёмышам установлено, что применение препаратов биоинфузин и ФАНТПЛЮС, содержащих экдистероиды левзеи, в сочетании с пробиотиками повышает у них профилактическую эффек-

тивность в отношении респираторных и желудочно-кишечных болезней на 10-12% [1, 2].

Однако сочетание экдистероидсодержащих трав с другими видами растений, не содержащими экдистероиды, но обладающими иммуностропным действием на организм млекопитающих, не изучалось.

Химический состав и иммуностропные свойства левзеи сафлоровидной, лабазника вязолистного и серпухи венценосной изучались рядом учёных [3, 4, 5, 6, 7]. В результате уста-

новлено, что данные растения богаты биологически активными веществами.

Цель исследований – изучение химического состава и токсических свойств фитокомплекса растений, обладающих наиболее выраженными адаптогенными свойствами.

Материал и методы. Исследования проводили в лабораториях ветеринарной биотехнологии и аналитической химии ФГБНУ «НИИСХ Северо-Востока» (г. Киров), на базе Кировской областной ветеринарной лаборатории, а также при содействии к.б.н. Н.П. Тимофеева – директора КХ «БИО» (г. Коряжма Архангельской области). В качестве лабораторных животных использовались нелинейные белые мыши живой массой $19 \pm 1,0$ г в возрасте 2-х месяцев.

Объект исследования: фитокомплекс из растений левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* Willd.), серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.), лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* L.).

Первоначально у отобранных растений определяли химический состав. Аминокислотный состав анализировали с помощью аминокислотного анализатора фирмы Hitachi. Фитоэкдистероиды и витамин Е определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), витамин С - методом титрования, витамины группы В, витамины К, РР, Р, каротиноиды и флавоноиды - спектрофотометрическим методом. Оптическую плотность исследуемого раствора определяли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 415 нм. Содержание флавоноидов в сырье рассчитывалось с использованием государственного стандартного образца рутина [8]. Определение общего азота проводилось по методу Кьельдаля, белка -методом сжигания в серной кислоте с последующим определением процентного содержания. Клетчатку определяли по Геннебергу и Штоману, сахара – рефрактометрическим методом [9].

Полученный из растений водно-спиртовой экстракт испытывали на белых мышах в соответствии с [10]. Экстракт приготавливали следующим образом: предварительно высушенный и измельченный на лабораторной мельнице фитоматериал смешивали в равных количествах, а затем подвергали 30-дневной экстракции 70° этанолом в соотношении: этанол к фитоматериалу 10:1.

Исследование токсических свойств экстракта изучаемого фитокомплекса проводили на мышах, распределённых на 2 опытные и 2 контрольные группы (n = 5 в группе).

В одной опытной группе животным вво-

дился экстракт фитокомплекса интраперитонеально, в другой – интрагастрально однократно в объёмах 0,5 мл/мышь, а в контроле в таких же объёмах однократно вводился физиологический раствор, после чего в течение 10 дней отслеживалось их клиническое состояние.

Перед началом и по окончании эксперимента исследовалась кровь на количество эритроцитов, лейкоцитов и концентрацию гемоглобина. Подсчёт общего количества эритроцитов и лейкоцитов осуществлялся в камере Горяева. Содержание гемоглобина определяли методом Сали. Максимальная доза экстрактивных веществ фитокомплекса, вводимая мышам, составляла 2,5 г/кг массы тела в пересчете на сухое вещество.

Математическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Office 2000 (ASD). Достоверность полученных результатов определяли с использованием t-критерия Стьюдента при $P \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Исследование химического состава трав, входящих в исследуемый фитокомплекс, показало, что все они содержат в своем составе протеин, сахара, витамины, аминокислоты, дубильные вещества и флавоноиды (это гетероциклические соединения с атомом кислорода в кольце). В то же время серпуха венценосная и левзея сафлоровидная содержат фитоэкдистероиды, чем не обладает лабазник вязолистный. Содержание суммы фитоэкдистероидов в левзее и серпухе составило 418,0 и 2170 мг/кг соответственно. Результаты химического анализа надземной части отдельных растений фитокомплекса представлены в таблицах 1, 2, 3.

Из данных, представленных в таблице 1, преобладающими аминокислотами в обоих видах трав являются: аспарагиновая, глутаминовая, лейцин, тирозин, лизин.

Как видно из представленных результатов в таблице 2, у левзеи сафлоровидной преобладают витамины С, Е, РР, каротиноиды; флавоноиды находятся на среднем уровне ($3,0 \pm 0,1\%$). Серпуха венценосная богата флавоноидами, содержание которых достигало $7,2 \pm 0,3\%$, а из витаминов преобладали каротиноиды, концентрация которых равнялась $113,0 \pm 2,2$ мг/%. В лабазнике вязолистном присутствует большое количество витамина С (аскорбиновой кислоты), флавоноидов.

Максимальное содержание белка содержится в серпухе венценосной, клетчатки – в левзее сафлоровидной, сахара – в лабазнике вязолистном (табл. 3).

Таблица 1

Аминокислотный состав левзеи сафлоровидной и серпухи венценосной

Аминокислота	Левзея сафлоровидная		Серпуха венценосная	
	г/100 г СВ	в % от СВ	г/100 г СВ	в % от СВ
Аспарагиновая	3,5	12,4	3,9	12,0
Треонин	1,1	3,9	1,0	3,3
Серин	1,0	3,4	1,0	2,9
Глутаминовая	2,5	9,2	3,0	9,1
Пролин	2,9	10,5	1,0	3,2
Глицин	1,1	4,0	1,1	3,4
Аланин	1,3	4,8	1,5	4,6
Валин	1,4	5,0	1,3	3,9
Изолейцин	1,0	3,4	0,9	2,7
Лейцин	1,9	6,9	2,0	6,1
Тирозин	1,2	4,5	1,4	4,4
Фенилаланин	1,2	4,1	1,0	3,0
Гистидин	0,5	1,6	0,5	1,4
Лизин	1,6	5,9	1,6	5,0
Аргинин	1,1	3,9	1,4	4,3

Примечание: СВ - сухое вещество

Таблица 2

Содержание витаминов, фитостероидов и флавоноидов в компонентах фитокомплекса

Показатель	Ед. изм.	Левзея сафлоровидная	Серпуха венценосная	Лабазник вязолистный
Витамин Е	мг/%	6,2±2,3	–	–
Витамин С	мг/%	62,0±1,2	21,0±1,1	77,0±2,1
Витамин В ₁	мг/%	0,88±0,1	–	–
Витамин В ₂	мг/кг	0,46±0,2	–	–
Каротиноиды	мг/%	65,0±2,1	113,0±2,2	–
Витамин В ₃	мг/%	0,56±1,2	–	–
Витамин РР	мг/%	11,52±2,5	–	–
Витамин В ₆	мг/%	0,28±0,1	–	–
Витамин К	мг/%	0,32±0,1	0,40±0,1	–
Экдистероиды	мг/кг	418,0±2,5	2170±2,3	–
Флавоноиды	% от СВ	3,0±0,1	7,2±0,3	6,5±0,3

Примечание: СВ – сухое вещество; – отсутствие

Таблица 3

Содержание белка и углеводов в компонентах фитокомплекса, %

Показатель	Серпуха венценосная	Левзея сафлоровидная	Лабазник вязолистный
Азот	3,57	2,35	2,13
Белок	22,36	14,69	13,31
Клетчатка	11,71	16,92	10,70
Сахара	9,43	6,70	15,09

Изучение токсических свойств фитокомплекса на белых мышах не выявило каких-либо негативных последствий после введения экстракта как интрагастрально, так и интраперитонеально (табл. 4).

Все мыши в опытных и контрольных группах оставались клинически здоровыми. На протяжении всего периода наблюде-

ний животные потребляли корм и воду, вели себя активно, не проявляя каких-либо патологических симптомов, летальных случаев не отмечалось.

Исследования морфологических показателей крови показали, что изменения в содержании эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина, по окончании опыта, недостоверны ($P>0,05$).

Таблица 4

Влияние фитокомплекса на морфологические показатели крови белых мышей (n = 5 в группе)

Показатель	Опыт (фитокомплекс)		Контроль (физиологический раствор)	
	интрагастрально	интраперитонеально	интрагастрально	интраперитонеально
Перед началом опыта				
WBC $10^9/L$	5,0±0,4	4,9±0,2	5,4±0,4	5,0±0,4
RBC $10^{12}/L$	12,1±1,2	13,0±1,1	12,0±1,5	12,1±1,5
HGB G/L	125,0±2,5	127,2±2,0	127,2±2,0	129,5±4,2
В конце опыта				
WBC $10^9/L$	5,1±0,3	5,0±0,1	5,5±0,2	5,1±0,1
RBC $10^{12}/L$	12,0±1,1	13,2±1,2	11,9±1,2	12,0±1,1
HGB G/L	127,1±3,5	128,2±2,5	126,1±2,5	128,0±3,0

Примечания: $P>0,05$ во всех группах в сравнении с началом опыта; RBC – эритроциты; WBC – лейкоциты; HGB – гемоглобин

Выводы. Результаты исследований фитокомплекса, содержащего водно-спиртовые экстракты трав *Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata*, *Filipendula ulmaria* показали, что из биологически активных веществ в нём преобладают аминокислоты: аспарагиновая (3,5-3,9 г/100 г), глутаминовая (2,5-3,0 г/100 г), лейцин (1,9-2,0 г/100 г), тирозин (1,2-1,4 г/100 г), лизин (1,6 г/100 г), витамины – С (62,0-77,0 мг/%), Е (6,2 мг/%), каротиноиды (65,0-113,0 мг/%), РР (11,5 мг/%), экидистериоды (418,0-2170 мг/кг) и флавоноиды (3,0-7,2 % от СВ). При интрагастральном и интраперитонеальном введении фитокомплекса белым мышам зафиксировано отсутствие токсических свойств. Результаты исследований могут быть использованы при создании нового фитопрепарата.

Список литературы

1. Ивановский А.А., Тимкина Е.Ю., Огаркова И.С. Влияние фитокомплекса с левзеи, биоинфузина и бактоцеллолактин на иммунно-биохимический статус поросят // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2012. №4 (29). С. 49-51.
2. Ивановский А.А., Латушкина Н.А., Тимкина Е.Ю. Влияние экидистериодсодержащих комплексов и пробиотика на состояние крови и сохранность поросят-отъемышей // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2014. №3 (40). С.40-45.

3. Ангаскиева А.С., Андреева В.Ю., Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., Бородышена Е.А., Харина Т.Г. Исследование химического состава серпухи венценосной, культивируемой в Сибири // Химия растительного сырья. 2003. №4. С. 47-50.
4. Башилов А.В. Применение *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim в рамках учения об адаптогенах // Вестник ВГМУ. 2012. Т. 11. №4. С. 86-89.
5. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Коцупий О.В., Загурская Ю.В., Баяндина И.И. Изучение флоры лесостепной зоны Западной Сибири как источника биологически активных соединений // Сибирский экологический журнал. 2011. №2. С. 273-284.
6. Зыкова И.Д., Ефремов А.А. Эфирное масло *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM: степень изученности и современное состояние исследований (обзор) // Химия растительного сырья. 2014. №3. С. 53-60.
7. Тимофеев Н.И. Достижения и проблемы в изучении биологии лекарственных растений *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin E *Serratula coronata* L. // Сельскохозяйственная биология. 2007. №3. С. 3-17.
8. Государственная фармакопея СССР. 9-е изд. М., 1990. Вып. 2. 398 с.
9. Лебедев П.Т., Усович А.Т. Методы исследования кормов, органов и тканей животных. М., 1969. 475 с.
10. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. 832 с.

Study of chemical composition and toxic properties of phytocomplex containing biologically active substances

Latushkina N.A., associate researcher,
Ivanovsky A.A., DSc in veterinary, head of laboratory,
Timkina E.Yu., PhD in agriculture, scientific secretary
North-East Agricultural Research Institute, Kirov, Russia

The aim of the research was to study the chemical composition and toxic properties of plant phytocomplex, which have the most pronounced adaptogenic properties. Object of the study: a phytocomplex including levse safflower (*Rhaponticum carthamoides*), serpent crown (*Serratula coronata*), fenugreek creeper (*Filipendula ulmaria*). Initially, the chemical composition was determined in selected plants, and then the alcohol extract from the phytocomplex was tested in white mice for toxicity. The toxicity study of extract of the studied phytocomplex was carried out on mice divided into 2 experiment and 2 control groups ($n = 5$ in each group), which was injected parenterally and intragastrically at once in a volume of 0.5 ml/mouse; the maximum dose of extractive substances of the phytocomplex was 2.5 g/kg of body weight in terms of dry matter. In the control, physiological saline was injected once in the same volume. Within 10 days the clinical condition of the animals was monitored. Before and after the experiment the blood was examined for the number of erythrocytes, leukocytes and hemoglobin concentration. The results of studies of phytocomplex containing water-alcohol extracts of the herbs *Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata*, *Filipendula ulmaria*, showed that the biologically active substances in it are: amino acids - aspartic (3.5...3.9 g/100 g), glutamic (2.5...3.0 g /100 g), leucine (1.9...2.0 g/100 g), tyrosine (1.2...1.4 g/100 g), lysine (1.6 g /100 g); Vitamins C (62.0...77.0 mg /%), E (6.2 mg /%), carotenoids (65.0...113.0 mg /%), PP (11.5 mg /%); Ecdysteroids (418.0...2170 mg /kg), and flavonoids (3.0...7.2% of the dry matter). All the herbs of the phytocomplex contain protein, sugars, vitamins, amino acids, tannins and flavonoids. Intragastric and intraperitoneal administration of the phytocomplex to white mice showed no toxic properties.

Key words: *cobblestone, cropland, leucine safflower, crown crown, ecdysteroids, white mice, amino acids, vitamins*

References

1. Ivanovskiy A.A., Timkina E.Yu., Ogarkova I.S. *Vliyanie fitokompleksa s levzey, bioinfuzina i baktotsellolaktina na immuno-biokhimicheskiy status porosyat*. [Influence of the phytocomplex with leuzea, bioinfuzin and bactocellolactin on the immune-biochemical status of piglets]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2012. no. 4 (29). pp. 49-51.
2. Ivanovskiy A.A., Latushkina N.A., Timkina E.Yu. *Vliyanie ekdi-steroidsoderzhashchikh kompleksov i probiotika na sostoyanie krovi i so-khrannost' porosyat-ot'emyshey*. [Influence of ecdysteroid-containing complexes and probiotics on the blood state and safety of weaners piglets]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2014. no. 3 (40). pp. 40-45.
3. Angaskieva A.S., Andreeva V.Yu., Kalinkina G.I., Sal'nikova E.N., Borodyshena E.A., Kharina T.G. *Issledovanie khimicheskogo sostava serpuhi ventsenosnoy, kul'tiviruemy v Sibiri*. [Investigation of the chemical composition of Venusian sirloin, cultivated in Siberia]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2003. no. 4. pp. 47-50.
4. Bashilov A.V. *Primenenie Filipendula ulmaria (L.) Maxim v ramkakh ucheniya ob adaptogenakh*. [Application of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim in the framework of the doctrine of adaptogens]. *Vestnik VGMU*. 2012. V. 11. no. 4. pp. 86-89.
5. Vysochina G.I., Kukushkina T.A., Kotsupiy O.V., Zagurskaya Yu.V., Bayandina I.I. *Izucheniye flory lesostepnoy zony Zapadnoy Sibiri kak istochnika biologicheskikh aktivnykh soedineniy*. [Study of the flora of the forest-steppe zone of Western Siberia as a source of biologically active compounds]. *Sibirskiy ekologicheskoy zhurnal*. 2011. no. 2. pp. 273-284.
6. Zykova I.D., Efremov A.A. *Efirnoye maslo Filipendula ulmaria (L.) Maxim: stepen' izuchennosti i sovremennoye sostoyaniye is-sledovaniy (obzor)*. [Essential oil *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim: degree of study and current state of research (review)]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2014. no. 3. pp. 53-60.
7. Timofeev N.I. *Dostizheniya i problemy v izuchenii biologii le-karstvennykh rasteniy Rhaponticum carthamoides (Willd.) Iljin E Serratula coronata L.* [Achievements and problems in studying the biology of medicinal plants *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin E *Serratula coronata* L.]. *Sel'skokhozyaystennaya biologiya*. 2007. no. 3. pp. 3-17.
8. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR*. [State Pharmacopoeia of the USSR]. 9-e izd. Moscow, 1990. Iss. 2. 398 p.
9. Lebedev P.T., Usovich A.T. *Metody issledovaniya kormov, organov i tkaney zhivotnykh*. [Methods for studying animal feed, organs and tissues]. Moscow, 1969. 475 p.
10. Khabriev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, 2005. 832 p.