



Одновременно с ростом центральной оси стебля часто образуются сильные боковые ответвления.

Учитывая то, что годичный прирост ветвей после перезимовки поражается морозобойными трещинами и впоследствии либо отмирает, либо подлежит обрезке, можно утверждать, что преобладающая часть побегов является по сути однолетними. Сохранение многолетних побегов зависит от особенностей сорта. Побегового порядка сохраняются у сортов Colette, Crocus Rose, Sebastian Kneipp в течение четырех лет, у L. D. Braithwaite — трех, у Sharifa Asma — двух лет. Рост побегов в длину независимо от порядка их ветвления происходит в основном в течение одного вегетационного периода.

По результатам наших наблюдений, изученные сорта обладают высокой побегообразовательной способностью, являются адаптированными к нашим условиям и их можно рекомендовать к использованию в озеленении г. Саратова.

#### Список литературы

1. Былов В. Н., Михайлов Н. Л., Сурина Е. И. Розы: итоги интродукции. М.: Наука, 1988. 440 с.
2. Саков С. Г. Происхождение садовых роз и направление работы в их селекции. М.; Л.: Наука, 1965. 24 с.
3. Козьминский И. И., Вечерябина Т. Л. Розы в Ленинграде. Л.: Лениздат, 1972. 176 с.
4. Васильева О. Ю. Интродукция роз в Западной Сибири. Новосибирск: Наука. Сиб. изд. фирма РАН, 1999. 184 с.
5. Рузаева И. В. Эколого-физиологические изменения годичных побегов у роз различных групп при подготовке к зимнему периоду // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2007. Т. 9, № 4. С. 1097–1002.
6. Егорова О. А., Степанов М. В., Марченкова Е. С. Темпы развития *Penstemon digitalis* Nutt при интродукции в Ботаническом саду // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2014. Вып. 12. С. 106–110.
7. Учебно-краеведческий атлас Саратовской области / В. В. Аникин [и др.]; гл. ред. А. Н. Чумаченко, отв. ред. В. З. Макаров. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2013. 144 с.
8. Савина Т. А. Оценка некоторых декоративно-хозяйственных качеств английских роз. Предварительные наблюдения // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2009. Вып. 8. С. 185–188.
9. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: Колос, 1968. 224 с.
10. Краткое пособие по математической обработке данных фенологических наблюдений / АН СССР Главный бот. сад; Совет бот. садов СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1972. 4 с.
11. Гришин П. Н., Кравченко В. В., Болдырев В. А. Почвы Саратовской области, их происхождение, состав и агрохимические свойства. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2011. 176 с.

УДК 579.61

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ, ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

О. В. Нечаева<sup>1</sup>, Н. В. Веденева<sup>2</sup>, М. М. Вакараева<sup>2</sup>, Е. И. Тихомирова<sup>2</sup>, Н. Ф. Шуршалова<sup>3</sup>, Д. А. Заярский<sup>2</sup>, Н. В. Беспалова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского

E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

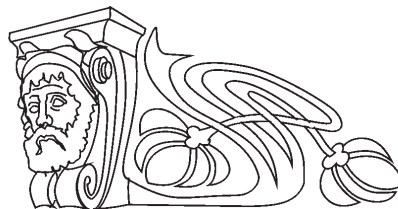
<sup>2</sup>Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А.

E-mail: ecology@sstu.ru

<sup>3</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского

E-mail: francissella@rambler.ru

Проведена комплексная оценка токсичности полимерного соединения — полиазилидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, обладающего высокой антимикробной активностью. Установлено, что рабочие концентрации исходного препарата, а также его варианты с различным содержанием гидрат-ионов йода не вызывают гибели биотест-объектов *Daphnia magna* Straus. Исследование острой токсичности исследуемых соединений на белых лабораторных мышах путем перорального и



внутрибрюшинного введения позволило отнести их к IV классу токсичности, поскольку не удалось установить показатели LD<sub>50</sub>, а показатели LD<sub>0</sub> составили 2000 мг/кг м.т. Полученные результаты открывают перспективы использования исследуемого полимерного соединения в качестве эффективного антимикробного препарата с широким спектром действия.

**Ключевые слова:** полиазилидинаммоний, антимикробная активность, биотест-объекты, токсичность.

#### Complex Assessment of Toxicity of the Polymeric Connection Possessing Antimicrobial Activity

O. V. Nechaeva, N. V. Vedeneva, M. M. Vakaraeva, E. I. Tikhomirova, N. F. Shurshalova, D. A. Zayarskiy, N. V. Bespalova

The complex estimation of toxicity of the polymer compounds — polyazolidin ammonium, modified hydrate ions of iodine, which has high



antimicrobial activity was held. It is established that working concentrations of parent drug and its variants with different hydrate ions of iodine content do not cause death of biotestobjects of *Daphnia magna* Straus. Study of acute toxicity of test compounds on white laboratory mice by oral and intraperitoneal methods allowed to carry them to the IV toxicity class, as LD<sub>50</sub> indicators could not be established while LD0 figures were 2000 mg / kg bw. The results hold promise for the test polymer to be used as an effective antimicrobial agent with a broad spectrum of action.

**Key words:** poly azolidin ammonium, antimicrobial activity, biotestobjects, toxicity.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-160-164

В настоящее время для лечения инфекционных заболеваний человека и животных широкое применение находят химиотерапевтические препараты. В практической медицине и ветеринарии используются порядка тысячи эффективных антимикробных средств. Однако одним из значительных недостатков является их токсическое воздействие на различные системы органов макроорганизма, проявляющееся при их длительном и систематическом приеме. Например, аминогликозиды I и II поколений обладают выраженным нейротоксическим действием, так как приводят к атрофии VIII пары черепно-мозговых нервов, в результате у пациентов наблюдается потеря слуха и вестибулярные расстройства [1–3]. Нефротоксичностью характеризуются аминогликозиды, полиены, полипептиды, макролиды, гликопептиды. Противогрибковые препараты (полиены) оказывают общетоксическое действие на организм. Угнетение кроветворения вызывают тетрациклины, левомицетин. Тератогенным эффектом обладают антибиотики группы тетрациклинов, воздействие которых приводит к нарушению развития костной и хрящевой ткани у плода, нарушает формирование зубной эмали. Кроме того, многие антибиотики обладают иммунодепрессивным свойством, что ведет к развитию вторичных иммунодефицитов и ослаблению напряженности иммунитета. Например, левомицетин подавляет антителообразование, тетрациклин угнетает фагоцитоз.

Поэтому актуальной остается проблема поиска биологически активных соединений, которые сочетали бы в себе высокую антимикробную активность и низкую токсичность. Большой научный интерес представляют на настоящий момент исследования антимикробных свойств биосовместимых полимеров, использование которых в медицинской и ветеринарной практике позволяет повысить локальную концентрацию и устойчивость действующего вещества к ферментам микроорганизмов, снизить токсичность и увеличить длительность действия [4, 5]. Од-

ним из наиболее эффективных полимерных соединений, характеризующихся антимикробной активностью, является полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода, для которого ранее была установлена высокая антибактериальная активность в отношении стандартных и клинических штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий [6]. Однако исходно низкое содержание гидрат-ионов йода, как основного действующего вещества в его составе, приводило к высоким значениям минимальной подавляющей концентрации полимера в отношении условно-патогенных микроорганизмов. Поэтому для повышения эффективности исследуемого препарата было проведено насыщение исходного полимерного соединения гидрат-ионами йода [7–9].

Целью нашей работы явилось комплексное изучение показателей острой токсичности полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, с различным содержанием гидрат-ионов йода.

#### Материал и методы

Объектом исследования явилось полимерное соединение – полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода (ПААГ-М). Для оценки острой токсичности полимерного соединения использовали 4 варианта препаратов: в ПААГ-М<sub>2</sub> концентрация гидрат-ионов йода составляла 100 мкг/мл, в ПААГ-М<sub>4</sub> – 200 мкг/мл, в ПААГ-М<sub>10</sub> – 500 мкг/мл и в ПААГ-М<sub>15</sub> – 750 мкг/мл.

Исследование показателей острой токсичности полимерного соединения и его модифицированных аналогов проводилось в два этапа. На первом этапе исследования была проведена предварительная оценка токсичности исследуемых соединений с использованием биотест-объектов, в качестве которых были выбраны представители низших ракообразных *Daphnia magna* Straus. Эти организмы являются крайне чувствительными к загрязняющим веществам различной природы и поэтому широко используются для оценки токсичности различных соединений и сточных вод [10, 11].

Согласно методике оценку воздействия ПААГ-М и его модифицированных аналогов, присутствующих в исследуемой среде, проводили по показателям смертности дафний (*D. magna* Straus) в сравнении с контрольной культурой.

Острую токсичность полимерных соединений на *D. magna* определяли по их смертности за определенный период. Критерием острого токсического действия соединения служила



гибель 50 % и более биотест-объектов за 48 ч в исследуемой пробе по сравнению с контрольными пробами, в которых все рачки сохраняли свою жизнеспособность.

В экспериментах по оценке острой токсичности определяли несколько показателей:

1) ЛК<sub>100-48</sub> – летальная концентрация соединений, вызывающая гибель 100% тест-организмов;

2) ЛК<sub>50-48</sub> – средняя летальная концентрация соединения, которая вызывает гибель 50% и более тест-организмов;

3) БК<sub>10-48</sub> – безвредная концентрация, вызывающая гибель за 48 ч не более 10% тест-объектов;

4) БК<sub>0-48</sub> – минимальная безвредная концентрация препаратов, при которой гибель организмов не наблюдалась.

Острая токсичность была определена для различных концентраций полимерных соединений. Для этого готовили двойные последовательные разведения соединений от максимальной (1000 мкг/мл) к минимальной (2 мкг/мл) в воде объемом 100 мл. Биотестирование осуществляли в пробирках объемом 100 см<sup>3</sup>, в которые вносили по 50 см<sup>3</sup> воды, содержащей определенные концентрации исследуемых препаратов. В пробирки помещали по десять дафний в возрасте 6–24 ч. Культивирование дафний проводили в климатостате при освещении лампами в 400–600 люкс (40 Вт) в течение 8–10 ч в сутки и температуре +22°C. Все опыты проводили в трех повторностях [12].

Для определения острого токсического действия ПААГ-М и его модифицированных аналогов рассчитывали процент погибших дафний в опытных пробах ( $A$ , %) по сравнению с контрольными:

$$A = \frac{X_K - X_T}{X_K} \cdot 100\%,$$

где  $X_K$  – количество выживших дафний в контроле;  $X_T$  – количество выживших дафний в опытных пробирках.

Если  $A \leq 10\%$ , то считалось, что исследуемые соединения не обладали острой токсичностью (безвредная концентрация). Если  $A \geq 50\%$ , то исследуемые препараты характеризовались острой токсичностью (средняя летальная концентрация).

Кроме того, в экспериментах учитывалось поведение дафний (характер передвижения, активность), степень наполнения кишечника пищей, поскольку токсические агенты нарушают метаболические процессы в организме животных. Также учитывали количество сброшенных

эфиппиумов, так как установлено, что в результате реакции на токсикант происходит линька дафний и сбрасывание эфиппиума.

На следующем этапе работы определение острой токсичности полимерных соединений проводили на белых лабораторных мышах. В эксперимент были взяты белые половозрелые нелинейные мыши (самцы, масса 20 г), которые прошли карантин в течение 14 дней для адаптации при групповом содержании в клетках. В течение всего периода у животных контролировали клиническое состояние ежедневно путем визуального осмотра.

Содержание экспериментальных животных соответствовало действующим Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев (1973). Мыши контрольных и экспериментальных групп находились на стандартной диете, которая соответствовала действующим нормам [13].

Определение острой токсичности ПААГ-М и его модифицированных аналогов проводили путем однократного внутрибрюшинного введения животным различных концентраций препаратов, а также перорально [14]. Количество мышей на одну дозу препарата составило 5 голов.

Внутрибрюшинное введение препаратов проводили в объеме 0,2 мл, пероральное – в виде раствора в дозе 0,5 мл с помощью зонда в желудок. Введение соединений осуществляли в определенное время суток.

Наблюдение за животными проводили после введения препаратов в течение 14 суток. В первый день после введения соединений мыши находились под непрерывным наблюдением. В ходе наблюдения учитывали физиологическое состояние животных, количество погибших и выживших особей. На основании полученных результатов проводили оценку токсичности изучаемых соединений путем определения величины LD<sub>50</sub> [15, 16, 17].

### Результаты и их обсуждение

Острое токсическое действие различных концентраций исследуемых соединений оценивали по смертности *Daphnia magna* Straus за 48 ч экспозиции. Через 24 ч экспозиции все особи дафний в опытных и контрольных растворах были живые, активно плавали, не наблюдалось никаких дополнительных морфологических изменений.

Через 48 ч экспозиции подсчитывали количество выживших и погибших особей во всех опытных и контрольных растворах полимерного соединения. На основании полученных результа-



тов рассчитывали процент погибших дафний по отношению к контролю, после чего были опреде-

лены показатели острой токсичности, результаты которых представлены в таблице.

**Показатели острой токсичности исследуемых соединений, мкг/мл**

№	Лабораторный шифр соединения	ЛК <sub>100-48</sub>	ЛК <sub>50-48</sub>	БК <sub>10-48</sub>	БК <sub>0-48</sub>
1	ПААГ-М <sub>2</sub>	–	–	1000-3,2	1000-3,2
2	ПААГ-М <sub>4</sub>	–	–	1000-3,2	1000-3,2
3	ПААГ-М <sub>10</sub>	–	–	1000-3,2	1000-3,2
4	ПААГ-М <sub>15</sub>	–	–	1000-3,2	1000-3,2

Оценка острой токсичности ПААГ и его модифицированных аналогов на биотест-объектах не позволила установить показатели ЛК<sub>100-48</sub> и ЛК<sub>50-48</sub>, поскольку все исследуемые концентрации полимерных соединений не вызвали гибели биотест-объектов с сохранением нормальной физиологической активности. По показателям жизнеспособности дафний для всех вариантов ПААГ значения БК<sub>10-48</sub> и БК<sub>0-48</sub> располагались в интервале от 1000 до 3,2 мкг/мл. Таким образом, предварительная оценка токсичности ПААГ и его модифицированных аналогов позволила отнести их к нетоксичным соединениям.

Предварительное определение острой токсичности с помощью биотестирования позволяет использовать меньшее количество лабораторных животных, что значительно снижает стоимость проводимых исследований.

Для оценки острой токсичности полимерных соединений при внутрибрюшинном и пероральном способах введения рассчитывали величину средней смертельной дозы LD<sub>50</sub> по методике И. П. Ашмарина и А. А. Воробьева [12].

После введения максимально возможной дозы образцов исследуемых препаратов ежедневно фиксировалось:

- общее состояние мышей и стабильное поведение без изменений;
- интенсивность и характер двигательной активности выраженные;
- наличие судорог не наблюдалось;
- координация движений и тонус скелетных мышц в норме;
- реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители выражена;
- частота и глубина дыхательных движений и ритм сердечных сокращений без изменений;
- состояние волосяного и кожного покрова хорошее;
- окраска слизистых оболочек и размер зрачка без изменений;
- фекалии сформированы, дефекация безболезненная;

- частота мочеиспускания и окраска мочи не изменилась;
- аппетит выраженный, потребление воды не увеличилось;
- масса тела стабильная.

Основные параметры острой токсичности вычислены методом Литчфилда и Уилкоксона. Исходя из полученных данных, ПААГ-М и его модифицированные аналоги имели следующие параметры: LD<sub>50</sub> – не выявлено, LD<sub>0</sub> = 2000 мг/кг м.т.

Таким образом, нам не удалось установить значение, LD<sub>50</sub> для ПААГ-М и его модифицированных аналогов. Кроме того, после введения исследуемых препаратов различными способами у экспериментальных животных отсутствовали побочные эффекты. Это позволило нам отнести ПААГ-М и его модифицированные аналоги к малоопасным соединениям IV класса токсичности. Следовательно, полученные нами результаты позволяют рассматривать ПААГ-М, а также его производные как перспективные нетоксичные антимикробные препараты широкого спектра действия.

**Список литературы**

1. Стречунский Л. С., Белоусова Е. Б., Козлов С. Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. М. : Борис, 2002. С. 6–8.
2. Зверев В. В. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учебник : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. М. : ГЭОТАР–Медиа, 2010. 448 с.
3. Поляк М. С. Антибиотикотерапия. Теория и практика. СПб. : ИнфомМед, 2009. 424 с.
4. Серебренникова Е. С., Давыдова В. Л., Гурина С. В., Иозеп А. А. Изучение антимикробной активности некоторых производных альгиновой кислоты // Проблемы медицинской микологии. 2013. № 4. С. 60–62.
5. Панарин Е. Ф., Лавров Н. А., Соловский М. В., Шальнова Л. И. Полимеры – носители биологически активных веществ / под ред. Е. Ф. Панарина, Н. А. Лаврова. СПб. : Изд-во Профессия, 2014. 304 с.





6. Нечаева О. В., Тихомирова Е. И., Заярский Д. А., Вакараева М. М. Антимикробная активность полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода // ЖМЭИ. 2015. № 3. С. 88–92.
7. Вакараева М. М., Ульянов В. Ю., Нечаева О. В., Лунева И. О., Тихомирова Е. И., Шаповал О. Г., Заярский Д. А. Оценка антимикробной активности полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, в зависимости от его физико-химических характеристик // Саратов. науч.-мед. журн. 2015. Т. 11, № 3. С. 255–257.
8. Нечаева О. В., Заярский Д. А., Вакараева М. М., Веденева Н. В., Тихомирова Е. И. Изучение биологической активности полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами галогенов, и его модификаций в отношении микроорганизмов // Вестн. развития науки и образования. 2014. № 1. С. 32–36.
9. Шуришалова Н. Ф., Миндибекова Д. Е., Заярский Д. А., Нечаева О. В. Изучение антибактериальной активности новых препаратов на основе модифицированного биосовместимого полимера // Наука и образование в жизни современного общества : сб. науч. тр. по материалам междунар. науч.-практ. конф., (Тамбов, 30 апреля 2015 г.) : в 14 т. Тамбов, 2015. Т. 10. С. 156–159.
10. Федорова А. И. Практикум по экологии и охране окружающей среды. М. : Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2001. 288 с.
11. Методическое руководство по биотестированию воды / Утверждено Минприродой России от 27 апреля 2001 г. ; Руководство по определению методов биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М. : РЭФИА, НИА-Природа, 2002.
12. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л. : Изд-во мед. лит, 1986. 184 с.
13. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Главным государственным санитарным врачом СССР 6 апреля 1973 г. № 1045-73). URL: <https://www.tsvps.ru/fsvps/laws/182.html> (дата обращения: 22.02.2016).
14. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств. Материалы фармкомитета РФ (Протокол № 13 от 25 декабря 1997 года) / сост. Е. В. Арзамасцев, Т. А. Гуськова, С. С. Либерман. URL: <https://www.medline.ru/public/fund/pharmcom/3.phtml> (дата обращения: 25.03.2016).
15. Лойт А. О., Савченков М. Ф. Токсикологическая оценка новых химических веществ : в 2 ч. Ч. 1. Иркутск : Изд-во Иркут. ун-та, 1992. С. 74–83.
16. Гуськова Т. А. Оценка безопасности лекарственных средств различных фармакологических групп // Новые препараты в фармакологии. 2003. № 9. С. 20–30.
17. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. : Медицина, 2005. 832 с.

УДК 674.812-419.4

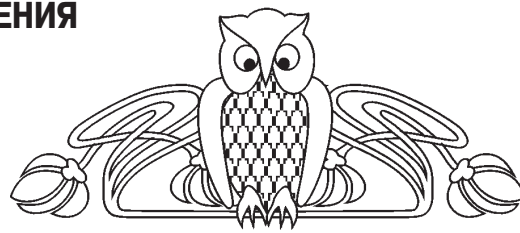
## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *AZOTOBACTER VINELANDII* Д-08 ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ВЫХОДА ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА

Н. В. Новокупцев

Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва,  
Саранск  
E-mail: nikolay.novokuptsev@yandex.ru

В исследовании проведена оптимизация условий культивирования *Azotobacter vinelandii* Д-08 на питательных средах с различным содержанием мелассы – 20, 30, 40 и 50% (по массе). Установлено, что максимальное накопление полисахарида наблюдается на 72-м ч роста штамма в среде с 50% содержанием мелассы, которое составило 13,78 г/л. Результаты метода гель-хроматографии показали, что полученный полисахарид имеет молекулярную массу 0,93532 кДа и 312,5014 кДа. В ходе проведения ИК-спектроскопии Фурье и анализа полученных спектров идентифицирован исследуемый полисахарид, который по своим характеристическим пикам в областях 923 см<sup>-1</sup> и 830 см<sup>-1</sup> фуранозного кольца соответствует полисахариду левану.

**Ключевые слова:** *Azotobacter vinelandii* Д-08, микробный полисахарид, леван, меласса, ИК-спектроскопия.



### Optimization of Cultivation Conditions of *Azotobacter Vinelandii* D-08 to Increase the Yield of Exopolysaccharide

N. V. Novokuptsev

In current research the optimization of culture conditions *Azotobacter vinelandii* D-08 on nutrient mediums with different content of molasses – 20, 30, 40 and 50% (by weight) was conducted. It is established that the maximum accumulation of polysaccharides was 13,78 g/l and it was observed at growth of the strain on the medium containing 50% molasses for 72 hours. The results of the method of gel permeation chromatography showed that the obtained polysaccharide has a molecular weight of 0.93532 kDa