

**Александр Александрович Зубенко¹, Александра Евгеньевна Святогорова^{2✉},
Леонид Николаевич Фетисов³, Кристина Николаевна Кононенко⁴,
Виктория Владимировна Чекрышева⁵**

^{1,2,3,4,5}Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал
Федерального Ростовского аграрного научного центра, Новочеркасск, Ростовская область, Россия

¹alexandrzubenko@yandex.ru

²sviatogorova.a@yandex.ru

³fetisoff.leonid2018@yandex.ru

⁴velikayakrista@mail.ru

⁵veterinar1987@mail.ru

ПРОТИСТОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ИЗВЕСТНЫХ АНТИПРОТОЗОЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ

*Цель исследования – провести оценку перспективности использования амидов жирных кислот в качестве антипротозойных средств в сравнении с известными препаратами. В статье представлены результаты экспериментальных исследований по изучению протистоцидного действия синтезированных в лабораторных условиях нашего творческого коллектива катионных поверхностно-активных веществ амидов миристиновой и олеиновой кислот и известных на мировом рынке антипротозойных препаратов: трихопол (метронидазол), толтразурил, противомаларийный препарат хлорохин (делагил) и антибиотик бициллин 5. Протистоцидную активность веществ определяли в жидкой питательной среде методом серийных разведений по нашей методике, неоднократно представленной в высокорейтинговых литературных источниках. Тест-культурой для исследования являлись простейшие (инфузории) вида *Colpoda steinii*. В результате проведенного исследования отметили, что при концентрации раствора амидамиристинной кислоты 4,63 мкг/мл и выше гибель простейших наступала практически сразу (в течение 1–2 мин), минимальная протистоцидная концентрация амида олеиновой кислоты для колпод составила 9,25 мкг/мл при экспозиции 2 мин; протистоцидная активность хлорохина проявилась по истечении 1 ч 30 мин при концентрации 15,63 мкг/мл, а при экспозиции 18 ч гибель колпод наступила при концентрации 1,95 мкг/мл. Минимальный уровень протистоцидной активности препарата сравнения толтразурила составляет 22,5 мкг/мл при экспозиции 19,5 ч, трихопола (метронидазола) и антибиотика бициллина 5 – 250 мкг/мл при экспозиции 18 ч и 19 ч соответственно. Данные результаты показывают, что синтезированные нами амид миристиновой и амид олеиновой кислоты позволяют использовать более низкие концентрации растворов с минимальной экспозицией для паразитоцидного действия в сравнении с известными протистоцидными препаратами.*

Ключевые слова: амид миристиновой кислоты, амид олеиновой кислоты, протистоцидная активность, антипротозойные средства

Для цитирования: Протистоцидная активность катионных поверхностно-активных веществ и известных антипротозойных препаратов / А.А. Зубенко [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2022. № 12. С. 149–156. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-149-156.

Alexander Alexandrovich Zubenko¹, Alexandra Evgenievna Svyatogorova^{2✉},
Leonid Nikolaevich Fetisov³, Kristina Nikolaevna Kononenko⁴, Victoria Vladimirovna Chekrysheva⁵
1,2,3,4,5North Caucasian Zonal Research Veterinary Institute – branch of the Federal Rostov Agricultural
Research Center, Novocherkassk, Rostov Region, Russia

¹alexandrzubenko@yandex.ru

²sviatogorova.a@yandex.ru

³fetisoff.leonid2018@yandex.ru

⁴velikayakrista@mail.ru

⁵veterinar1987@mail.ru

PROTISTOCIDAL ACTIVITY OF CATIONIC SURFACTANTS AND KNOWN ANTIPROTOZOAL DRUGS

The purpose of the study is to assess the prospects of using fatty acid amides as antiprotozoal agents in comparison with known drugs. The paper presents the results of experimental research on the study of the protistocidal action of cationic surfactants synthesized in the laboratory by our creative team of amides of myristic and oleic acids and known in the world on the market of antiprotozoal drugs: trichopolium (metronidazole), toltrazuril, antimalarial drug chloroquine (delagil) and antibiotic bicillin 5. The protistocidal activity of substances was determined in a liquid nutrient medium by the method of serial dilutions according to our method, repeatedly presented in high-ranking literary sources. The test culture for the study was protozoans (ciliates) of the Colpoda steinii species. As a result of the study, it was noted that at a concentration of amidamiristic acid solution of 4.63 µg/ml and higher, the death of protozoa occurred almost immediately (within 1–2 minutes), the minimum protistocidal concentration oleic acid amide for colpods was 9.25 µg/ml at 2 min exposure; chloroquine protistocidal activity appeared after 1 h 30 min at a concentration of 15.63 µg/ml, and after 18 h exposure kolpods died at a concentration of 1.95 µg/ml. The minimum level of protistocidal activity of the reference drug toltrazuril is 22.5 µg/ml at an exposure of 19.5 hours, Trichopolium (metronidazole) and antibiotic bicillin 5 – 250 µg/ml at an exposure of 18 hours and 19 hours, respectively. These results show that myristic amide and oleic acid amide synthesized by us make it possible to use lower concentrations of solutions with a minimum exposure for parasitocidal action in comparison with known protistocidal preparations.

Keywords: myristic acid amide, oleic acid amide, protistocidal activity, antiprotozoal agents

For citation: Protistocidal activity of cationic surfactants and known antiprotozoal drugs / A.A. Zubenko [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2022;(12): 149–156. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-149-156.

Введение. Антипротозойные средства (от лат. *Protozoa* – простейшие) необходимы для подавления жизнедеятельности простейших, их применяют для лечения и профилактики многих протозойных инфекций [1]. Действие антипротозойных средств либо приводит к задержке роста простейших (паразитостатическое действие), либо вызывает их гибель (паразитоцидное действие). Разница между этими формами воздействия на простейших зависит от свойств применяемого препарата, его концентрации, способа введения, условий среды, вида и фазы развития простейших, формы инфекционного процесса и пр.

К антипротозойным средствам относятся представители различных классов химических соединений: противомаларийные препараты –

производные хинолина (плазмоцид, хингамин, хиноцид, галохин и др.), акридина (акрихин, аминоакрихин), бигуанида (бигумаль), пиримидина (хлоридин) и др.; противотрихомонадные препараты группы имидазола (метронидазол); ряд алкалоидов растительного происхождения (хинин, эметин, лютенурин); органические соединения мышьяка (осарсол, новарсенол) и сурьмы (солюсурмин); антибиотики (препараты группы тетрациклина), фитонциды и др.

В работе А.А. Дельцова с соавторами (2021) [2] представлен анализ ассортимента ветеринарных противопаразитарных лекарственных средств, зарегистрированных на территории Российской Федерации и применяемых для профилактики и лечения протозоозов. Среднегодовая регистрация производится всего на 5

противопротозойных препаратов в год. По состоянию на 07.08.2021 в Государственный реестр ЛС для ветеринарного применения внесено 54 противопротозойных препарата. Наиболее распространенное действующее вещество, входящее в их состав, – толтразурил, который мы использовали в качестве препарата сравнения (содержится в 12 ТН (торговых наименованиях) – 22,2 %). Российская Федерация является лидером в сфере производства и разработки противопротозойных препаратов, зарегистрированных на ее территории. Установлено, что большинство исследованных препаратов производится в твердых лекарственных формах, эффективных для лечения кокцидиозов у животных и птиц. Для лечения рыб при протозоозах необходимы жидкие лекарственные формы препаратов. Разработка препаратов данной формы ведется в лабораторных условиях творческого коллектива «Химический синтез новых лекарственных соединений» СКЗНИВИ – филиала ФГБНУ ФРАНЦ.

Применение изученных нами ранее в качестве антипротозойных средств амидов миристиновой и олеиновой кислот на рыбах вида Гуппи (лат. *Poecilia reticulata*) для профилактических (формалин, аммиак, мышьяковистые препараты и т.д.) и лечебных мер показало, что амиды жирных кислот менее токсичны по сравнению с высокотоксичными препаратами, предлагаемы-

ми различными учеными [7]. Защитное действие амидов жирных кислот (миристиновой и олеиновой) позволяет проводить успешное лечение пресноводных рыб и минимизирует вероятность их гибели от тяжелых протозойных инвазий при соблюдении необходимых концентраций и времени воздействия на рыб. В результате применения антипротозойных препаратов улучшается здоровье рыб, повышается их адаптация к стрессовым условиям выращивания, следовательно, повышается их выживаемость [3, 4].

Цель исследования – оценить перспективность использования амидов жирных кислот в качестве антипротозойных средств в сравнении с известными препаратами.

Материалы и методы. В исследовании были использованы синтезированные в СКЗНИВИ – филиале ФГБНУ ФРАНЦ нашим творческим коллективом новые соединения миристиновой кислоты N- (3-диметиламино-пропиламид) (рис. 1) и олеиновой кислоты N- (3-диметиламинопропиламид) (рис. 2) в виде гидрохлоридов, у которых были обнаружены антибактериальные и протистоцидные свойства.

В соответствии с правилами ИЮПАК («Номенклатурные правила по химии») амид миристиновой кислоты имеет название:

AutoNom Name: Tetradecanoic acid (3-dimethylamino-propyl)-amide

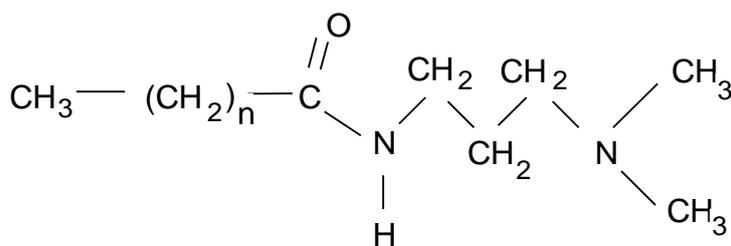


Рис. 1. Структурная формула N- (3-диметиламино-пропиламид) миристиновой кислоты (n = 12)

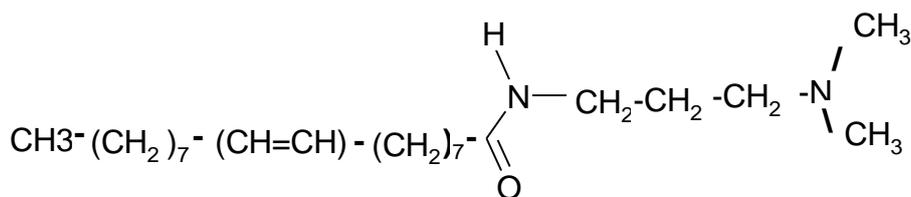


Рис. 2. Структурная формула N-(3-диметиламинопропиламид) олеиновой кислоты (n = 14)

В соответствии с правилами ИЮПАК («Номенклатурные правила по химии») амид олеиновой кислоты имеет название:

AutoNom Name: Octadec-9-enoic acid (3-dimethylamino-propyl)-amide

Данные соединения являются катионными поверхностно-активными веществами ряда амидов жирных кислот. Синтезированные соединения обладают выраженной антипротозойной активностью в отношении *Colpoda steinii*. Для сравнения были взяты противомикробные и антипротозойные препараты известных производителей: трихопол (метронидазол), толтразурил (АДВ кокцидиостатика байкокса), противомаларийный препарат хлорохин (делагил) и антибиотик бициллин 5 (по мнению аквариумистов [5, 6], помимо антибактериального действия, проявляет активность в отношении инфузорий и жгутиконосцев).

Протистоцидную активность веществ определяли в жидкой питательной среде методом се-

рийных разведений по нашей методике (2012 г.) [7, 8]. Тест-культурой для исследования являлись простейшие (инфузории) вида *Colpoda steinii*. Руководствуясь требованием экспериментальной химиотерапии об определении дозы, дающей максимально возможный эффект, применяли учет эффективности только по альтернативной форме реакции: протистоцидную считали минимальную концентрацию, при которой погибали все особи простейших.

Результаты и их обсуждение. Для изучения антипротозойной активности провели оценку и сравнение протистоцидной активности водных растворов с различным содержанием амида миристиновой кислоты в отношении простейших вида *Colpoda steinii* (ресничные). В таблице 1 представлены результаты определения минимальной концентрации амида миристиновой кислоты, вызывающей максимальный эффект – гибель всех простейших.

Таблица 1

Результаты изучения протистоцидной активности водного раствора гидрохлорида амида миристиновой кислоты в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция, мин	Концентрация раствора амида миристиновой кислоты, мкг/мл						
	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14
2	+	+	–	–	–	–	–
3	+	+	+	–	–	–	–
5	+	+	+	+	–	–	–
10	+	+	+	+	+	–	–
15	+	+	+	+	+	–	–
20	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	–
40	+	+	+	+	+	+	+

Здесь и далее: «+» – простейшие погибли; «–» – простейшие живы.

При концентрации раствора амида миристиновой кислоты 4,63 мкг/мл и выше гибель простейших наступала практически сразу (в течение 1–2 мин). В то же время концентрация 0,14 мкг/мл оказывает протистоцидное действие на простейших вида *Colpoda steinii* при экспозиции 40 мин.

В таблице 2 представлены результаты по определению ингибирующей концентрации водных растворов амида олеиновой кислоты для простейших.

Установлено, что минимальная протистоцидная концентрация амида олеиновой кисло-

ты для колпод составляет 9,25 мкг/мл при экспозиции 2 мин; 2,31 мкг/мл при экспозиции 3 ч и 0,58 мкг/мл при экспозиции 18 ч. Таким образом, при увеличении срока воздействия растворов амидов жирных кислот для проявления протистоцидного эффекта требуется меньшее их количество. Это обстоятельство может оказаться важным при практическом использовании амидов жирных кислот при протозоозах рыб.

Результаты определения губительной концентрации препарата сравнения хлорохина для простейших вида *Colpoda steinii* представлены в таблице 3.

Результаты изучения протистоцидной активности водного раствора гидрохлорида амида олеиновой кислоты в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция	Концентрация раствора амида олеиновой кислоты, мкг/мл												
	151,25	75,63	37,5	18,5	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14	0,08	0,04
2 мин	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
5 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
15 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
30 мин	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
1 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
4,5 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
18 ч	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Результаты изучения протистоцидной активности препарата сравнения хлорохина в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция	Концентрация раствора хлорохина, мкг/мл						
	15,63	7,81	3,91	1,95	0,98	0,49	0,24
2 мин	-	-	-	-	-	-	-
5 мин	-	-	-	-	-	-	-
10 мин	-	-	-	-	-	-	-
15 мин	-	-	-	-	-	-	-
30 мин	-	-	-	-	-	-	-
1 ч	-	-	-	-	-	-	-
2 ч	-	-	-	-	-	-	-
1 ч 30 мин	+	-	-	-	-	-	-
18 ч	+	+	+	+	-	-	-

Протистоцидная активность хлорохина проявилась по истечении 1 ч 30 мин при концентрации 15,63 мкг/мл, а при экспозиции 18 ч гибель колпод наступила при концентрации 1,95 мкг/мл.

Результаты, представленные в таблице 4, свидетельствуют о том, что минимальный уро-

вень протистоцидной активности препарата сравнения толтразурила (АДВ некоторых кокцидиостатиков) составляет 22,5 мкг/мл при экспозиции 19,5 ч.

Таблица 4

Результаты изучения протистоцидной активности препарата сравнения толтразурила в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция	Концентрация раствора толтразурила, мкг/мл											
	12500	6250	3125	1565	750,3	375	180	90	45	22,5	11,25	6,125
19,5 ч	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	2,25	1,121	0,56	0,28	0,14	0,07	0,035					
19,5 ч	-	-	-	-	-	-	-					

В таблицах 5 и 6 представлены результаты определения минимального уровня протистоцидной активности препаратов сравнения трихопола (метронидазола) и антибиотика бициллина 5 (соответственно) в отношении колпод,

который составляет 250 мкг/мл при экспозиции 18 и 19 ч. Сравнительные результаты протистоцидной активности изученных соединений представлены в таблице 7.

Таблица 5

Результаты изучения протистоцидной активности препарата сравнения трихопола (метронидазола) в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция	Концентрация раствора трихопола (метронидазола), мкг/мл											
	500	250	125	62,5	31,25	15,63	7,81	3,91	1,95	0,98	0,49	0,24
5 мин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 мин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30 мин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18 ч	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Таблица 6

Результаты определения уровня протистоцидной активности препарата сравнения бициллина 5 в отношении простейших вида *Colpoda steinii*

Экспозиция	Концентрация раствора бициллина 5, мкг/мл											
	500	250	125	62,5	31,25	15,625	7,81	3,91	1,95	0,98	0,49	0,244
19 ч	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Таблица 7

Протистоцидная активность новых катионных ПАВ ряда амидов жирных кислот и известных препаратов

Соединения	Протистоцидная активность, мкг/мл	Экспозиция, при которой наступает протистоцидный эффект
1	2	3
Метронидазол (трихопол)	250	18 ч
Бициллин 5	250	18 ч
Толтразурил	22,5	19,5 ч
Хлорохин (делагил)	15,63	1 ч 30 мин
	1,95	18 ч

1	2	3
Катионное ПАВ – амид олеиновой кислоты	9,25	2 мин
	2,31	3 ч
	0,58	18 ч
Катионное ПАВ – амид миристиновой кислоты	4,63	2 мин
	2,31	3 мин
	1,16	5 мин
	0,58	10 мин
	0,14	40 мин

Из данных таблицы 7 видно, что исследованные соединения обладают в той или иной мере антипротозойной активностью. Водные растворы трихопола и бициллина 5 обладают незначительной ингибирующей активностью в отношении инфузорий. Более заметной активностью обладают толтразурил и хлорохин. Наиболее выраженное антипротозойное действие наблюдалось у водных растворов амидов жирных кислот. Уровень протистоцидной активности амида олеиновой кислоты превышает уровень активности толтразурила (22,5 : 0,58) в 38,8 раза; уровень активности хлорохина (1,95 : 0,58) в 3,36 раза при близких по величине экспозициях (18–19,5 ч). Протистоцидная активность амида миристиновой кислоты значительно выше активности препаратов сравнения: толтразурила (22,5 : 0,4) в 160 раз; хлорохина (1,95 : 0,14) в 13,9 раза, при более короткой экспозиции (40 мин).

Заключение. Выявлено, что амид миристиновой и амид олеиновой кислоты позволяют использовать более низкие концентрации растворов с минимальной экспозицией для паразитоцидного действия в сравнении с известными препаратами, такими как трихопол (метронидазол), толтразурил, хлорохин и антибиотик бициллин 5, которые мы изучили в качестве препаратов сравнения на протистоцидную активность.

Список источников

1. Патент на изобретение RU 2535138 С1. Способ лечения кокцидиоза птицы / *Зубенко А.А., Фетисов Л.Н., Василенко В.Н., Бодряков А.Н., Клименко А.И., Солдатенко Н.А.* № 2013129149/15; заявл. 25.06.2013, опубл. 10.12.2014.
2. *Дельцов А.А., Косова И.В., Родькина О.Р.* Анализ ассортимента противопротозойных

лекарственных средств для ветеринарного применения // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* 2021. № 10. С. 47–54.

3. Скрининг протистоцидной активности новых веществ из ряда амидов жирных кислот / *М.А. Бодрякова [и др.]* // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2014. № 6 (50). С. 83–85.
4. Токсичность катионо-активного соединения амида миристиновой кислоты для аквариумных рыб / *В.В. Чекрышева [и др.]* // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование.* 2021. № 3(63). С. 254–262. DOI: 10.32786/2071-9485-2021-03-26.
5. URL: <https://fanfishka.ru/akvariumnye-stati/820-bicillin-dlya-ryb-i-akvariuma.html>.
6. URL: <http://www.biotopimage.ru/lechenie-rybok/bicillin-5.html>.
7. Изыскание протистоцидных средств / *Л.Н. Фетисов [и др.]* // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* 2012. № 4/1. С. 70–73.
8. Эктопаразиты, наиболее опасные для рыб в условиях прудовых хозяйств Беларуси, новые препараты для борьбы с ними / *Э.К. Скурат [и др.]* // *Вопросы рыбного хозяйства Беларуси.* Минск, 2011. Вып. 27. С. 11.

References

1. Patent na izobretenie RU 2535138 С1. Sposob lecheniya kokcidioza pticy / *Zubenko A.A., Fetisov L.N., Vasilenko V.N., Bodryakov A.N., Klimenko A.I., Soldatenko N.A.* № 2013129149/15; zayavl. 25.06.2013, opubl. 10.12.2014.

2. Del'cov A.A., Kosova I.V., Rod'kina O.R. Analiz assortimenta protivoprotzojnyh lekarstvennyh sredstv dlya veterinarnogo primeneniya // Veterinariya, zootehniya i biotekhnologiya. 2021. № 10. S. 47–54.
3. Skringing protistocidnoj aktivnosti novyh veschestv iz ryada amidov zhirnyh kislot / M.A. Bodryakova [i dr.] // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2014. № 6 (50). S. 83–85.
4. Toksichnost' kationo-aktivnogo soedineniya amida miristinovoj kisloty dlya akvariumnyh ryb / V.V. Chekrysheva [i dr.] // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vysshee professional'noe obrazovanie. 2021. № 3(63). S. 254–262. DOI: 10.32786/2071-9485-2021-03-26.
5. URL: <https://fanfishka.ru/akvariumnye-stati/820-bicillin-dlya-ryb-i-akvariuma.html>.
6. URL: <http://www.biotopimage.ru/lechenie-rybok/bicillin-5.html>.
7. Izyskanie protistocidnyh sredstv / L.N. Fetisov [i dr.] // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii. 2012. № 4/1. S. 70–73.
8. `Ektoparazity, naibolee opasnye dlya ryb v usloviyah prudovyh hozyajstv Belarusi, novye preparaty dlya bor'by s nimi / `E.K. Skurat [i dr.] // Voprosy rybnogo hozyajstva Belarusi. Minsk, 2011. Vyp. 27. S. 11.

Статья принята к публикации 11.10.2022 / The article accepted for publication 11.10.2022.

Информация об авторах:

Александр Александрович Зубенко¹, главный научный сотрудник ТК «Химический синтез новых лекарственных соединений», доктор биологических наук

Александра Евгеньевна Святогорова², младший научный сотрудник ТК «Химический синтез новых лекарственных соединений»

Леонид Николаевич Фетисов³, ведущий научный сотрудник ТК «Химический синтез новых лекарственных соединений», кандидат ветеринарных наук

Кристина Николаевна Кононенко⁴, младший научный сотрудник ТК «Химический синтез новых лекарственных соединений»

Виктория Владимировна Чекрышева⁵, директор, кандидат ветеринарных наук

Information about the authors:

Alexander Alexandrovich Zubenko¹, Chief Researcher, TC "Chemical Synthesis of New Medicinal Compounds", Doctor of Biological Sciences

Alexandra Evgenievna Svyatogorova², Junior Researcher, TC "Chemical Synthesis of New Medicinal Compounds"

Leonid Nikolaevich Fetisov³, Leading Researcher, TC "Chemical Synthesis of New Medicinal Compounds", Candidate of Veterinary Sciences

Kristina Nikolaevna Kononenko⁴, Junior Researcher, TC "Chemical Synthesis of New Medicinal Compounds"

Victoria Vladimirovna Chekrysheva⁵, Director, Candidate of Veterinary Sciences

