

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ВЕТЕРИНАРНОЙ ИННОВАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

А. В. Локарев¹, С. А. Гринь¹, М. А. Огай², И. Н. Матвеева¹, А. И. Сливкин³, А. С. Беленова³

¹Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности

²Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России

³ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 15.09.2020 г.

Аннотация. Импорт ветеринарных препаратов в России неуклонно растет. Процессы импортозамещения в данной области развиваются недостаточно активно, поэтому Российское производство находится в зависимости от импортных поставок лекарственных субстанций и оборудования. Анализ имеющихся на сегодняшнем рынке отечественных ветеринарных препаратов, показал, что они не обеспечивают его в полном объеме. В лучшем случае покрытие спрос-предложение, составляет 15-20 % и эта тенденция стала закономерной с конца прошлого века. Развитие ветеринарной фармации может идти по различным направлениям и включать разработку, исследования, изготовление, стандартизацию, хранение и реализацию кормовых добавок и лекарственных препаратов для животных. Не все средства по уходу за животными подлежат Государственной регистрации, при которой достаточно основательно оцениваются показатели безопасности. Оценка части из них проводится только на соответствие требованиям Технического регламента Таможенного союза «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» и, соответственно, существуют определенные риски попадания на рынок средств, не отвечающих всем показателям безопасности.

Необходимость внедрения ускоренных скрининговых методов и тест-систем обуславливается исследованием большого числа проб на соответствие требованиям безопасности. В связи с этим, актуальным является интегральный контроль безопасности продукции на основе биотестирования, по определению острой или общей токсичности. Для оценки токсичности продукции применяют биотестирование с использованием животных, одноклеточных организмов и клеточных культур. В этом ключе, с успехом можно применять биотесты, используя *Paramecium caudatum* и сперматозоиды быка. Биологические исследования на *Paramecium caudatum* – в ходе эксперимента анализируются их размножение, рост, характер движения, и время остановки. Среди всего многообразия микроорганизмов, парамеции являются одним из наиболее удобных тест-объектов для медико-экологических, фармакокинетических и токсикологических исследований, так как изучены хорошо, имеют большие размеры, позволяющие работать с отдельными организмами. Экспресс- метод оценки *in vitro* (на культуре подвижных клеток сперматозоидов быка), основан на регистрации изменений зависимости двигательной активности сперматозоидов от времени воздействия испытуемых проб.

Ключевые слова: биотестирование, *Paramecium caudatum* и сперматозоиды быка, скрининг, ветеринария, животноводство.

Обеспеченность ветеринарии и животноводства лекарственными средствами и БАВ отечественного производства снижается с начала девяностых годов прошлого века и на настоящее время составляет до 15 % от объема необходимого

рынку. К 2020 году планировалось [1] увеличение доли продукции отечественного производства в общем объеме потребления на внутреннем рынке до 50% в стоимостном выражении, повышение доли инновационных препаратов до 60%; увеличение экспорта фармацевтической продукции в 8 раз; обеспечение лекарственной безопасности РФ; увеличение доли отечественных фармацевти-

© Локарев А. В., Гринь С. А., Огай М. А., Матвеева И. Н., Сливкин А. И., Беленова А. С., 2020

ческих субстанций до уровня необходимого для обеспечения выпуска 50% готовых лекарственных форм в денежном выражении и не менее 85% по номенклатуре из списка стратегических лекарственных средств [2-8].

Вступление в ВТО России привело к усилению внимания к использованию фармакологических препаратов и кормовых добавок. Важнейшее место при этом должна занять ветеринарная фармация. Перед ветеринарной фармацевтической промышленностью и ветеринарной фармакологией стоят задачи по разработке, промышленному производству, изучению и внедрению в практику ветеринарии и животноводства эффективных и малотоксичных лекарственных препаратов отечественного производства [8-11].

Вместе с тем, не все средства по уходу за животными [9, 10] подлежат Государственной регистрации, при которой достаточно основательно оцениваются показатели безопасности. Оценка части из них проводится только для подтверждения соответствия требованиям Технического регламента Таможенного союза «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» [12] и, соответственно, возможен риск попадания на рынок средств, не отвечающих всем показателям безопасности.

Необходимость внедрения ускоренных скрининговых методов и тест-систем обуславливается исследованием большого числа проб на соответствие требованиям безопасности. В связи с этим, актуальным является интегральный контроль безопасности продукции на основе биотестирования, по определению острой или общей токсичности. Для оценки токсичности продукции применяют биотестирование с использованием животных, одноклеточных организмов и клеточных культур [13-15].

Результатом данных исследований явилось разработка мягкой лекарственной формы на основе природного лекарственного растительного сырья - инновационного противовоспалительного и противоартрозного средства, проведение экспериментальной оценки методик определения токсичности для контроля безопасности и выбора эффективной комбинации.

Проведенные исследования с использованием методик биотестирования на *Paramecium caudatum* и культуре клеток сперматозоидов быка позволили обосновать состав БАВ в качественном и количественном отношении, подтвердить безопасность разработанного препарата и некоторые элементы специфической активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения геля, необходимо получить комплексное спирто-водное извлечение из лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Нами были получены жидкие экстракты методом перколяции, с применением в качестве экстрагента спирта этилового 70%. Экстрагирование сырья в батарее из шести диффузоров проводится по принципу противотока, при котором извлечение, полученное из первого диффузора, направляется во второй, извлечение, полученное из второго диффузора, направляется в третий и т. д. Все шесть доз экстрагента при таком способе экстрагирования подаются в первый диффузор. После ввода в работу всех диффузоров батареи отбор всех шести порций экстракта производят из головного, шестого диффузора, выводя поочередно, с началом отбора готовый продукции хвостовые диффузоры.

Биологические исследования на Paramecium caudatum заключались в том, что в ходе эксперимента анализировали их размножение, рост, характер движения, и время остановки [16]. Среди всего многообразия микроорганизмов, парамеции являются одним из наиболее удобных тест-объектов для медико-экологических, фармакокинетических и токсикологических исследований, так как изучены хорошо, имеют большие размеры, позволяющие работать с отдельными организмами. Для них разработаны методы культивирования, обеспечивающие необходимую стандартизацию культуры относительно недорогими методами, и среди них отсутствуют патогенные формы [17, 18]. Парамеции широко используются в фармакологии, как биологическая модель для скрининга лекарственных средств антиоксидантного (регулирующего перекисное окисление липидов) и мембраностабилизирующего типов действия. Парамеции способны вырабатывать защитные реакции, направленные на ослабление повреждающего воздействия различных раздражителей, причем устойчивость к раздражителям некоторое время после его удаления сохраняется. Это свойство парамеций используют для скрининга природных соединений, обладающих адаптогенными свойствами. В медицинских и микробиологических исследованиях существуют различные модификации микроскопического счета. Для проведения эксперимента из взвеси с организмами забирают несколько капель и подсчитывают под микроскопом число инфузорий. Микроскопический метод позволяет проводить

визуальные наблюдения за изменениями функциональных и структурных показателей парамеций под влиянием веществ различной природы в условиях как острого, так и хронического экспериментов. В качестве фармакологического индикатора (токсиканта), преимущественно повреждающего липидную часть мембраны, предлагается пероксид водорода 1 %, который расщепляется до перекисных радикалов *in vivo*, инициирующих процесс перекисного окисления [19, 17, 18] липидов (ПОЛ) мембран; фармакологическим индикатором, повреждающим преимущественно структуру белковой биомембраны является 14 % этиловый спирт, приводящий к денатурации и ферментных, и мембранных белков [17-21]. В качестве исследуемых объектов были использованы жидкие спирто-водные комбинации (после удаления жидкой фракции) и растворения в воде очищенной.

Нами был использован экспресс-метод оценки *in vitro* (на культуре подвижных клеток спермы быка). Методика основана на регистрации изменений зависимости двигательной активности сперматозоидов от времени под воздействием агентов, содержащихся в экстракте из испытуемых проб. Тест-функцией (измеряемый параметр) являлась подвижность суспензии половых клеток *m*, которая пропорциональна концентрации сперматозоидов *cm* и среднему модулю скорости движения клеток *v*: $m = cmv$. Подвижность сперматозоидов $m = m(t)$ для контрольного и опытного образцов регистрировалась анализатором видеозаписей. Анализатор токсичности вычисляет индекс токсического действия I_t , как отношение средневзвешенного времени подвижности сперматозоидов в испытуемой и контрольной пробе. Критерием отсутствия токсичности в испытуемой пробе служила величина индекса токсичности более 80% и менее 120. В качестве контрольной пробы готовился глюкозо-цитратный буфер (глюкоза - 0.4 г; цитрат натрия трехзамещенный - 0.1 г; вода дистиллированная - 10.0 см³) [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработано комплексное спирто-водное извлечения из 13 объектов лекарственного растительного сырья.

Несмотря на многокомпонентность состава, основной упор был сделан на полифенольную группу соединений, представленную флавоноидами. Многокомпонентное извлечение сочетает в себе ромашку (цветы) 0.04 части, календулу (цветки) 0.05 частей, тмин (плоды) 0.03 части, со-

сну (почки) 0.50 частей, тысячелистник (трава) 0.05 частей, мяту (лист) 0.16 частей, шиповник (плоды) 0.06 части, фенхель (плоды) 0.30 част, солодку (корень) 0.25 частей, полынь (трава) 0.40 частей, чабрец (трава) 0.15 частей, зверобой (трава) 0.05 частей, чистотел (трава) 0.02 части.

Гель получали, сочетая полученное комплексное извлечение (предварительно включенное в структуру липосом), для усиления противоартритной и противоартрозной активности, с дополнительными ингредиентами.

В геле присутствовал комплексный экстракт из лекарственного растительного сырья – 13 наименований, экстракт мартины душистой, мумие, гидролизат коллагена, натрия гидроксид, оливковое масло очищенное, карбопол, глюкозамина гидрохлорид, глицерин, феноксиэтанол, этилгексилглицерин, полиэтиленгликоль стеарат, воду очищенную.

Выбор основы для получения геля, в виде карбопола, не случаен и является основополагающим этапом разработки состава. Известно, что основа не является индифферентным носителем фармакологически активных веществ, а, напротив, оказывает существенное влияние на терапевтический эффект препарата посредством обеспечения оптимального их высвобождения. Из проанализированных составов, наиболее оптимальной оказался карбопол.

Для оценки безопасности объектов проводили исследование согласно Методическим указаниям по проведению токсикологических исследований ингредиентов косметических средств в эксперименте на животных № 05РЦ/3140 от 30.11.1991 г. и Методам определения и оценки токсикологических и клинико-лабораторных показателей безопасности и безвредности для человека товаров народного потребления, Рег. № 004- 0612 от 18.07.2012 г.

Биологические исследования на Paramecium caudatum

Размер парамеций защищенных разработанными комбинациями меньше, чем в контрольной группе. Однако, по шкале активности, эта экспериментальные группы относятся к очень активным и по истечении 3 суток количество парамеций в 3 раза превосходит контроль. Анализ данных, приведенных в таблице 2, подтверждает, что комбинации в экологическом отношении для парамеций благоприятна.

Разработанная комбинация существенно удлиняла время остановки движения параме-

ций под воздействием клеточных ядов – спирта этилового и пероксида водорода. Удлинение времени прекращения движения парameций, характеризует мембраностабилизирующую активность разработанной комбинации, под воздействием спирта этилового, подобранные компоненты, которой препятствуют в качественном и количественном соотношении повреждению белковой части биомембраны. Антиоксидантная активность присутствует, так как произошло удлинение времени движения парameций под воздействием раствора перекиси водорода, что связано со способностью компонентов разработанной комбинации тормозить перекисное окисление липидов мембраны. Наличие мембраностабилизирующего и антиоксидантного эффекта в разработанном комплексе, может характеризовать опосредованно наличие противовоспалительного (противоартритного, противоартрозного) действия.

Экспресс-метод оценки in vitro (на культуре подвижных клеток спермы быка)

Результаты исследования разработанных мазей представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, компоненты разработанного геля не вызывали изменений зависимости двигательной активности сперматозоидов быка по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологический скрининг на парameциях, позволил определить наилучшую комбинацию, при

подборе комплекса ЛРС, как «внутри» экстракта, так и при подборе оптимальной основы. Наличие мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности, дает возможность предположить использование разработанного геля для профилактики и лечения некоторых заболеваний, в том числе артрита, артроза, за счет уменьшения воспалительного процесса (флавоноиды 13-компонентного комплексного экстракта).

Также, проведенные исследования показали перспективность ускоренных методик биотестирования (сперматозоиды быка) для мониторингового контроля безопасности разработанного геля.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Осипов Г.В., Стриханов М.Н., Шереги Ф.Э. Взаимодействие науки и производства в 2-х частях. Часть 1. М.: ЦСП и М, 2014. 364 с.
2. Антипов В.А., Трошин А.Н. // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. 2014. Т. 3, № 7. С. 445-449.
3. Антипов В.А., Трошин А.Н. // Аграрный вестник Урала. 2012. № 5. С. 25-26.
4. Антипов В.А., Трошин А.Н. // Ветеринария. 2009. № 1. С. 3-4.
5. Антипов В.А., Трошин А.Н. // Ветеринария Кубани. 2010. № 6. С. 21-22.
6. Кузьминова Е.В., Семенов М.П., Старикова Е.А., Тяпкина Е.В. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2013. № 11(109). С. 80-83.

Таблица 1

Результаты определения влияния спирто-водных извлечений на количество и размер парameций

Объект	Исходное количество парameций в 0.05 мл	Количество парameций спустя 3 суток	Размер парameций и форма (мкм)	Характер движения
Контроль	5 - 10	30 - 40	70 - 90 удлинённые	активны
Комбинация 13-компонентного состава	5 - 10	> 150	60 - 80 овальные	очень активны

Таблица 2

Изучение степени защиты парameций по времени прекращения движения (острый опыт) от действия токсикантов

Наименование объекта	Время остановки парameций в 14 % этаноле, мин	Время остановки парameций в 1 % растворе пероксида водорода, мин
Контрольная группа	0.2 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Комбинация 13-компонентного состава	11.0 ± 0.30*	5.9 ± 0.20*

Примечание: * – уровень значимости изменений $p \leq 0.05$ относительно контрольной группы

Таблица 3

Результаты биотестирования разработанного геля (на сперматозоидах)

Исследуемые средства	Количество исследованных проб	Двигательная активность сперматозоидов быка
Контроль	6	Нет изменений
Гель на основе фитокомпозиции	6	Нет изменений

7. Мирошниченко В.А. // Вестник науки и образования. Изд-во «Олимп». Иваново. 2018. № 15. С. 40-43.

8. Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года. М. 2009 г.

9. Данилевская Н.В., Дельцов А.А. // Российский Ветеринарный Журнал. Сельскохозяйственные животные. Изд-во: Издательский дом «Логос Пресс». 2013 № 2. С. 6-8.

10. Трошин А.Н., Антипов В.А. // Нормативно-правовое регулирование ветеринарной фармации. Методическое пособие по дисциплине специализации по фармации «Управление и экономика фармации». Краснодар, 2012, 100 с.

11. Федеральный закон от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ "Об обращении лекарственных средств".

12. Технический регламент таможенного союза ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции», утв. решением комиссии Таможенного союза от 23 сентября 2011 г. № 799.

13. Долгов В.А., Лавина С.А., Арно Т.С., Семенова Е.А., Островская А.В. // Материалы V-ого международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии». – Витебск, 2015. С. 225 – 227.

14. Мелехова О.П. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. Москва, Академия, 2007. 288 с.

15. Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.В., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев

С.В., Попутникова Т.О., Рахлеева А.А., Самойлова Т.А., Филенко О.Ф. // Биотест-системы для задач экологического контроля: Методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест-культур / В.А. Терехова, — М.: Доброе слово, 2014 г. 48 с.

16. Огай М.А., Степанова Э.Ф., Ларионов Л.П., Петров А.Ю. // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2010. С. 123 – 126.

17. Огай М.А. Дисс. канд. фарм. наук. Пятигорск, 2000, 155 с.

18. Огай, М.А. Автореферат дисс. докт. фарм. наук. Пятигорск, 2012, 46 с.

19. Ким. В. Э. Дисс. канд. фарм. наук. Пятигорск, 2016, 24 с.

20. Кудрин А.Н., Ананин В.В., Балабьян В.Ю. // Рос. Хим. журн. 1997. Т. 41, № 5. С. 114-123.

21. Огай М.А. [и др.]. // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ: Материалы 4-й Всерос. с междунар. участием науч. – метод. конф. «Фармообразование-2010»: в 2 ч. 20-22 апр. 2010 г. - Воронеж, 2010. Ч. 2. С. 277-280.

22. Рахманин Ю.А., Ческис А.Б. (руководители разработки), Еськов А.П., Кирьянова Л.А., Михайлова Р.И., Плитман С.И., Роговец А.И., Тулакина Н.В., Русанова Н.А., Донерьян Л.Г., Пожаров А.В. // Методические рекомендации по применению методов биотестирования для оценки качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения 12.10.1995 г.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности

*Локарев А. В., ведущий научный сотрудник
E-mail: eko-plus@mail.ru*

*Гринь С. А., директор
E-mail: vnitibp@mail.ru*

*Матвеева И. Н., заместитель директора по бионанотехнологиям
e-mail: vnitibp@mail.ru*

ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России

*Огай М. А., профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии
E-mail: marinfarm@yandex.ru*

All-Russian research and technological Institute of biological industry

*Lokarev A. V., leading researcher
E-mail: eko-plus@mail.ru*

*Grin S. A., Director
E-mail: vnitibp@mail.ru*

*Matveeva I. N., Deputy Director for bionanotechnologies
e-mail: vnitibp@mail.ru*

PMFI – branch of the "Volga" Ministry of health of Russia

*Ogay M. A., Professor, Department of pharmaceutical technology with the rate of medical biotechnology
e-mail: marinfarm@yandex.ru*

Воронежский государственный университет
Сливкин А. И., заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии
E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Voronezh state university
Slivkin A. I., PhD., DSci., head of Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology
e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Беленова А. С., ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии
e-mail: belenova@pharm.vsu.ru

Belenova A. S., PhD., Assistant Professor, Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology
e-mail: belenova@pharm.vsu.ru

BIOLOGICAL TESTING OF VETERINARY INNOVATIVE DOSAGE FORMS

A.V. Lokarev¹, S. A. Grin¹, M. A. Ogay², I. N. Matveeva¹, A. I. Slivkin³, A. S. Belanova³

¹The Russian scientific research and technological Institute of biological industry

²Pyatigorsk medical and pharmaceutical Institute-branch of the Federal state budgetary educational institution of higher education "Volga state medical University" of the Ministry of health of Russia

³Voronezh State University

Abstract. Import of veterinary drugs in Russia is steadily growing. Import substitution processes in this area are not developing actively enough, so Russian production is dependent on imported supplies of medicinal substances and equipment. Analysis of the veterinary drugs available on the market today has shown that it does not provide it in full. In the best case, the supply-demand ratio is 15-20 % , and this trend has become natural since the end of the last century. The development of veterinary pharmacy can go in the direction of research, first of all, the raw material base, as well as the development, research, production, standardization, storage and sale of medicines and feed additives for animals. Animal care products often do not belong to medicinal products and are not subject to State registration, which is a fairly thorough assessment of safety indicators. The assessment is carried out only when confirming compliance with the requirements Of the technical regulations of the Customs Union "on the safety of perfume and cosmetic products" and, accordingly, there are certain risks of entering the market of products that do not meet all safety indicators.

The need to monitor a large number of samples for compliance with safety requirements requires the introduction of accelerated screening methods and test systems. In this regard, integrated product safety control based on bioassay, to determine acute or General toxicity, is relevant. A large number of bioassay methods are known to assess the toxicity of products using animals, single-celled organisms, and sometimes cell cultures. In this vein, you can successfully apply biotests using *Paramecium caudatum* and bull spermatozoa. Biological studies on *Ragamesium caudatum*-during the experiment, their reproduction, growth, movement pattern, and stopping time are analyzed. Among all the variety of microorganisms, *Paramecia* are one of the most convenient test objects for medical-ecological, pharmacokinetic and Toxicological studies, as they are well studied and have large dimensions that allow working with individual organisms. The Express method of in vitro evaluation (on the culture of motile cells of bull spermatozoa) is based on recording changes in the dependence of the motor activity of spermatozoa on the time of exposure of the test samples.

Keywords: bioassay, *Paramecium caudatum* and bull spermatozoa, screening, veterinary medicine, animal husbandry.

REFERENCES

1. Osipov G.V., Strikhanov M.N., sheregi F.E. Interaction of science and production in 2 parts. Part 1 - M.: TSSP and M, 2014, 364 p.
2. Antipov V.A., Troshin A.N., Collection of scientific works of the Stavropol research Institute of

animal husbandry and feed production, Vol. 3, no. 7, 2014, pp. 445-449.

3. Antipov V.A., Troshin A.N., Agrarian Bulletin of the Urals, 2012, No. 5, pp. 25-26.

4. Antipov V.A., Troshin A.N., Veterinary Medicine, 2009, No. 1, pp. 3-4.

5. Antipov V.A., Troshin A.N., Veterinary Medicine Of Kuban, 2010, No. 6, pp. 21-22.
6. Kuzminova E.V., Semenenko M.P., Starikova E.A., Tyapkina E.V., Bulletin of the Altai state agrarian University, 2013, № 11(109), pp. 80-83.
7. Miroshnichenko V.A., Bulletin of science and education. Publishing house "the Olympus". – Ivanovo, 2018, No. 15, pp. 40-43.
8. Strategy for the development of the pharmaceutical industry of the Russian Federation for the period up to 2020.
9. Danilevskaya N.V., Deltsov A.A., Russian Veterinary Journal. Farm animals. Publishing house "Logos Press", 2013, No. 2, pp. 6-8.
10. Troshin A.N., Antipov V.A., Normative-legal regulation of veterinary pharmacy. Methodological guide to the discipline of specialization in pharmacy "Management and Economics of pharmacy". - Krasnodar, 2012, 100 p.
11. Federal law No. 61-FZ of April 12, 2010 "on circulation of medicinal products".
12. Technical regulations of the customs Union TR CU 009/2011 "on the safety of perfume and cosmetic products", approved by the decision of the Customs Union Commission of September 23, 2011 No. 799.
13. Dolgov V.A., Lavina S.A., Arno T.S., Semenova E.A., Ostrovskaya A.V., Proceedings of the V-th international Congress of veterinary pharmacologists and toxicologists "Actual problems and innovations in modern veterinary pharmacology and toxicology". Vitebsk, 2015, pp. 225-227.
14. Melekhova O.P. Biological control of the environment: bioindication and biotesting. Moscow, Academy, 2007. 288 p.
15. Terekhova V.A., Voronina L.P., Gershkovich D.V., Ipatova V.I., Isakova E.F., Kotelevtsev S.V., Poputnikova T.O., Rakhleeva A.A., Samoilova T.A., Filenko O.F., Biotest systems for environmental control tasks: Methodological recommendations for the practical use of standardized test cultures, M.: Good word, 2014, 48 p.
16. Ogay M.A., Stepanova E.F., Larionov L.P., Petrov A.Yu., Kursk scientific and practical Bulletin "Man and his health", 2010, pp. 123-126.
17. Ogay M.A. Diss. Cand. farm. Sciences. Pyatigorsk, 2000, 155 p.
18. Ogay, M.A. autoreferat Diss. Doct. Pharm. Sciences. Pyatigorsk, 2012, 46 p.
19. Kim. V E. Diss. kand. Pharm. nauk. Pyatigorsk, 2016, 24 p.
20. Kudrin A.N., Ananin V.V., Balabyan V.Yu., Russian Chemical journal, 1997, Vol. 41, No. 5, pp. 114-123.
21. Ogay M.A. [et al.]. // Ways and forms of improving pharmaceutical education. The search for new physiologically active substances: Materials of the 4th all-Russia. from Intern. participation of the scientific method. Conf. "Farmobrazovanie - 2010": 2 hours 20-22 APR. Voronezh, 2010, Part 2, pp. 277-280.
22. Rakhmanin Yu.A., Cheskis A.B. (development managers), Eskov A. P., Kiryanova L. A., Mikhailova R. I., Plitman S. I., Rogovets A. I., Tulakina N. V., Rusanova N. A., Doneryan L. G., Pozharov A. V. // Methodological recommendations for the use of biotesting methods for assessing water quality in systems of domestic drinking water supply 12.10.1995.