

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР – ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

На правах рукописи

ЕНГАШЕВА ЕКАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА

**ФАРМАКО - ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ИВЕРМЕКТИНА
ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ И АРАХНОЭНТОМОЗАХ ОВЕЦ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора биологических наук

Научный консультант:
академик РАН,
доктор биологических наук,
профессор Дорожкин В.И.

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	17
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
1.1 Фармако-токсикологические свойства ивермектина	17
1.2 Фармако-токсикологические свойства празиквантела.....	38
1.3 Фармако-токсикологические свойства никлозамида	45
1.4 Механохимическая технология как инструмент создания инновационных антигельминтных лекарственных препаратов.....	50
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	55
2.1 Фармако-токсикологические свойства и эффективность лекарственного препарата иверсан	56
2.2 Разработка препаратов пролонгированного действия иверлонг.....	63
2.3 Разработка препарата иверлонг 2	69
2.4 Супрамолекулярный комплекс никломек, исследование фармако- токсикологических свойств и эффективности	86
2.5 Фармако-токсикологическая характеристика и изучение противопаразитарной эффективности монизен форте	92
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	101
3.1 Фармако-токсикологические свойства, фармакокинетика и сроки выведения ивермектина из организма овец после применения иверсана.....	101
3.1.1 Переносимость лекарственного препарата иверсан овцами	101
3.1.2 Фармакокинетика и сроки выведения ивермектина из молока коз, органов и тканей овец после применения иверсана	104

3.1.3 Эффективность препарата иверсан при нематодозах и арахноэнтомозах овец	117
3.2 Разработка препаратов пролонгированного действия и результаты изучения их фармако - токсикологических и противопаразитарных свойств.....	123
3.2.1 Рецептуры препарата иверлонг 1 и исследование их фармакокинетических параметров	123
3.2.2 Эффективность разных доз иверлонга 1 при желудочно-кишечных стронгилятозах.....	127
3.2.2.1 Производственное испытание иверлонга 1 при смешанной инвазии овец	129
3.2.2.2 Определение длительности профилактического эффекта против желудочно-кишечных стронгилят после однократного введения иверлонга 1....	130
3.2.2.3 Оценка различных схем применения препарата иверлонг 1 при желудочно-кишечных стронгилятозах овец.....	132
3.3 Создание комбинированной парентеральной пролонгированной формы препарата иверлонг 2, содержащей ивермектин и празиквантел.....	133
3.3.1 Нарботка опытных образцов препарата на основе сополимеров молочной и гликолевой кислот и N-метилпирролидона для изучения <i>in vitro</i>	133
3.3.2 Результаты изучения кинетики высвобождения празиквантела из образцов препарата <i>in vitro</i>	134
3.3.3 Результаты изучения кинетики высвобождения ивермектина из образцов препарата <i>in vitro</i>	143
3.3.4 Разработка лабораторной технологии получения стерильного препарата иверлонг 2	146
3.3.5 Изучение фармако-токсикологических свойств препарата иверлонг 2	147
3.3.5.1 Изучение параметров острой токсичности иверлонга 2	147

3.3.5.2	Определение местно-раздражающего, алергизирующего действия иверлонга 2.....	149
3.3.5.3	Оценка иммунотоксических свойств препарата иверлонг 2	149
3.3.5.4	Результаты исследования высвобождения ивермектина и празиквантела из имплантируемой системы <i>in vivo</i>	151
3.3.5.5	Результаты клинических испытаний иверлонга 2 при смешанных гельминтозах овец.....	172
3.4	Фармако-токсикологические свойства и эффективность супрамолекулярного комплекса никломека.....	174
3.4.1	Данные, полученные при исследовании размеров частиц никломека и субстанций ивермектин и никлозамид.....	174
3.4.2	Результаты исследования острой токсичности препарата никломека.....	175
3.4.3	Результаты изучения субхронической токсичности никломека (вариант №1)	177
3.4.4	Местно-раздражающее действие никломека (вариант 1).....	182
3.4.5	Результаты испытания на модели <i>Hymenolepis nana</i> цестодоцидной активности никломека	182
3.4.6	Результаты изучения нематодоцидной активности никломека на модели <i>Trichinella spiralis</i>	183
3.4.7	Результаты клинических испытаний никломека при гельминтозах овец... ..	184
3.5	Результаты доклинических и клинических испытаний лекарственного средства монизен форте.....	190
3.5.1	Острая токсичность препарата монизен форте.....	190
3.5.2	Кумулятивные свойства препарата монизен форте.....	196
3.5.3	Результаты изучения субхронической токсичности монизен форте.....	198

3.5.4 Местно-раздражающее, алергизирующее действие препарата монизен форте.....	204
3.5.5 Иммунотоксичность препарата монизен форте.....	207
3.5.6 Переносимость монизен форте в терапевтической и повышенных дозах при многократном введении овцам	209
3.5.7 Фармакокинетика и динамика выведения ивермектина и празиквантела после применения препарата монизен форте.....	214
3.5.8 Изучение терапевтической эффективности препарата на овцах	220
3.5.8.1 Эффективность монизена форте при пероральной даче.....	220
3.5.8.2 Эффективность монизена форте при парентеральном введении препарата.....	225
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	234
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	247
РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	250
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	252
ПРИЛОЖЕНИЯ	305

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Паразитарные заболевания животных широко распространены в разных климатогеографических зонах России и зарубежных странах. В некоторых регионах России зараженность овец желудочно-кишечными нематодозами и цестодозами составляет 90%, лёгочными стронгилиятами 80%, трематодозами 60% [40]. Гельминтозы у овец, как правило, протекают в форме микстинвазий [174]. Паразиты, локализуясь в различных органах и тканях, вызывают их механическое повреждение, открывая ворота инфекции, снижают иммунный статус организма и вызывают нарушение обмена веществ [32–33; 88]. Паразитозы наносят экономический ущерб животноводству, складывающийся из падежа животных, вынужденного убоя, недополучения мяса и шерсти, снижения воспроизводительной функции и общей резистентности организма [5; 63; 75; 170; 182].

Основным методом борьбы с гельминтозами на сегодняшний день остается дегельминтизация. Существует большое количество лекарственных средств из разных классов химических соединений для лечения и профилактики паразитозов мелкого рогатого скота, в том числе из групп авермектинов, бензимидазолов, салициланилидов и др. [23; 81; 117].

Лечение животных при каждом гельминтозе имеет свои особенности. Однако чаще всего после дегельминтизации животные вновь заражаются через достаточно короткий промежуток времени [20; 91].

В связи с этим перспективны разработки препаратов пролонгированного действия, комплексных противопаразитарных средств широкого спектра действия и инновационных препаратов путем механохимической технологии. Разработка эффективных и безопасных пролонгированных лекарственных средств является актуальной задачей [203]. Они уже активно применяются в гуманной медицине в виде рассасывающихся наночастиц, микросфер, гранул на основе биodeградируемых полимеров [9; 44; 236]. В ветеринарии за рубежом разработаны и применяются болюсы пролонгированного действия с

антигельминтиками [126; 317]. Однако, они не нашли широкого применения из-за высокой стоимости и невозможности их удаления из пищеварительного тракта животного по завершении их действия.

Большинство фармакологических противопаразитарных субстанций плохо растворимы в воде. Это часто обуславливает недостаточную эффективность антигельминтиков при применении их внутрь, так как большая часть действующего вещества чаще всего выводится с фекалиями в неизменном виде. Хорошая растворимость почти или практически не растворимых антигельминтных субстанций достигается за счет получения твердых дисперсий с водорастворимыми полимерами, полученных с помощью механохимической технологии. Механохимическая технология позволяет получать комплексы лекарственных веществ, образующие при растворении весь спектр систем доставки типа «гость–хозяин» [101; 196; 197].

Таким образом, широкое распространение болезней овец паразитарной этиологии, экономический ущерб, наносимый ими, выработка паразитами резистентности и появление новых подходов к разработке противопаразитарных препаратов диктуют необходимость поиска новых путей и средств борьбы с паразитами овец.

Степень разработанности темы исследования. Паразитарные заболевания наносят непоправимый вред здоровью животных, вызывая часто летальный исход. Невозможно вести промышленное или частное животноводство без обработки овец от эндо- и эктопаразитов. Соответственно проблемой защиты мелкого рогатого скота от паразитозов человек занимается уже более 100 лет. Но, к сожалению, не смотря на большое количество лекарственных препаратов, прописанных схем борьбы с паразитами овец, эти болезни до сих пор наносят ущерб овцеводству. Для борьбы с цестодозами овец разработано большое количество лекарственных препаратов: сульфат меди, филиксан, мышьяковокислородное олово, мышьяковокислый кальций, фенасал, дихлорфен, битионил, оксид. В последнее время с успехом применяются препараты, содержащие фенбендазол, альбендазол [23]. Лучшим из этой линейки

действующих веществ считается празиквантел [415; 416]. Для борьбы с нематодозами и эктопаразитами разработаны антипаразитарные препараты. Наиболее современные из нематоцидов это препараты, содержащие альбендазол, авермектины, левамизол, тетрализол, фенбендазол и мебендазол. Против эктопаразитов овец в основном обрабатывают купанием (применяется в настоящее время редко) в растворах пиретроидов, фосфорорганических соединений или инъекциями препаратов, содержащих авермектины. Существуют как моно, так и комбинированные препараты. Все они обладают разной эффективностью, имеют свои преимущества и недостатки, но большинство из них более 50 лет применяются для борьбы с паразитами овец, соответственно ко многим из них выработалась резистентность паразитов, некоторые из них из-за высокой токсичности сняты с производства. Кроме того, в условиях интенсивного ведения овцеводства стоит задача свести к минимуму трудозатраты на ветеринарные обработки, минимизировать токсическое воздействие препаратов на организм животного, поэтому поиск современных способов и средств борьбы с паразитами овец ведется постоянно учеными в разных странах мира. Этой проблематике посвящена и эта работа. Проанализирован достаточно большой объем литературы, посвященной этой теме, но в доступных источниках нет упоминаний о разработке и испытании противопаразитарных препаратов, содержащих авермектины для групповой обработки овец, а именно групповая обработка животных считается наименее затратной. В силу специфики (отгонное овцеводство) отрасли очень сложно проводить противопаразитарные обработки с необходимой кратностью, чтобы надежно защитить животное. Чрезвычайно важно иметь в арсенале ветеринарного врача и препараты пролонгированного действия. В настоящее время существует один препарат, содержащий действующее вещество из группы авермектинов (эприномектин) – Longrange, обеспечивающий защиту овец до 150 дней [400; 401]. Этот препарат в России не зарегистрирован и в нашей стране не испытан. В последние годы российскими учеными под руководством профессора Архипова И.А. ведутся активные исследования по разработке принципиально новых антигельминтных препаратов,

получаемых по механохимической технологии. Эти препараты отличаются от известных своей низкой токсичностью и чрезвычайно низкой дозой применения (в 5–10 раз ниже общепринятой). Однако, в доступных источниках описываются комбинации только одного действующего (антигельминтного) вещества с формообразующими агентами. В то же время ветеринарной практикой востребованы комплексные препараты, воздействующие на разные классы паразитов. Результаты разработки такого препарата по механохимической технологии с сохранением всех достоинств Drug Delivery Systems приведены в диссертационной работе. Комплексные антигельминтные препараты очень востребованы ветеринарными врачами, но, к сожалению, в России они широко применяются только для борьбы с гельминтозами мелких домашних животных. Для одновременного лечения и профилактики нематодозов и цестодозов овец в России зарегистрированы несколько препаратов: монизен, празивер, альбен форте. Из проработанных литературных источников можно сделать вывод, что лучшим цестодоцидом на сегодняшний момент является празиквантел, а одновременным высокоэффективным воздействием на нематод и эктопаразиты овец обладают ивермектины. Наиболее распространенный из них – это ивермектин. Большинство лечебно-профилактических обработок овец проводятся инъекционно. До выполнения работы в России не существовало комбинации празиквантела и ивермектина в форме раствора, который можно было бы применять как перорально, так и парентерально.

Целью настоящей работы явилась разработка лекарственных препаратов на основе ивермектина и изучение их фармако-токсикологических свойств, эффективности при гельминтозах и арахноэнтомозах овец.

Задачи исследований. Для реализации цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить переносимость иверсана овцами, фармакокинетику ивермектина и определить сроки его выведения из органов и тканей овец, молока коз после применения препарата; изучить эффективность иверсана при паразитарных болезнях овец; разработать на него нормативную документацию.

2. Разработать подходы к приготовлению парентеральной имплантируемой системы пролонгированного действия, содержащей ивермектин (иверлонг 1) и ивермектин + празиквантел (иверлонг 2).

3. Изучить эффективность и длительность действия иверлонга 1 при нематодозах овец.

4. Изучить фармако-токсикологические свойства препарата иверлонг 2, фармакокинетику ивермектина и празиквантела в сыворотке крови овец, эффективность и длительность действия препарата при нематодозах и цестодозах овец.

5. Разработать супрамолекулярный комплекс никломек, содержащий ивермектин и никлозамид, с применением механохимической технологии; изучить его фармако-токсикологические и антигельминтные свойства.

6. Разработать лекарственный препарат монизен форте на основе ивермектина и празиквантела в форме раствора для инъекций и для перорального применения; изучить его фармако-токсикологические свойства, фармакокинетику ивермектина и празиквантела, определить сроки выведения препарата из органов и тканей овец, молока коз; изучить эффективность при паразитарных болезнях овец; разработать на него нормативную документацию.

Научная новизна. Впервые изучена переносимость, фармакокинетика ивермектина в сыворотке крови овец, определен срок убоя овец после применения иверсана, изучена его противопаразитарная эффективность при паразитарных болезнях овец, разработана инструкция по его применению мелкому рогатому скоту. Впервые разработаны экспериментальные образцы парентеральной имплантируемой системы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот, содержащей ивермектин (иверлонг 1) и ивермектин + празиквантел (иверлонг 2). Изучены фармако-токсикологические свойства иверлонга 2, фармакокинетика ивермектина и празиквантела в сыворотке крови овец, противопаразитарная эффективность имплантируемых систем. Механохимическим методом впервые разработан супрамолекулярный комплекс никлозамида и ивермектина (никломек), изучены его фармако-токсикологические

свойства и эффективность. Впервые разработан и изучен лекарственный препарат монизен форте для парентерального и перорального применения. Изучены его фармако-токсикологические свойства, фармакокинетика, определен срок убоя овец после применения препарата. На основании полученных результатов разработаны новые схемы лечения овец при гельминтозах и арахноэнтомозах. Новизна проведенных исследований и полученных данных подтверждена шестью патентами на изобретение.

Теоретическая и практическая ценность работы. Для борьбы с паразитами овец предложен высокоэффективный лекарственный препарат иверсан, изучена его противопаразитарная активность, разработаны дозы и схемы применения. Это позволит значительно повысить эффективность противопаразитарных обработок овец, сократить их стоимость и кратность, а также снизить трудозатраты на их проведение. Разработаны новые комбинации пролонгированной формы ивермектина (иверлонг 1), ивермектина с празиквантелом (иверлонг 2) и сополимерами молочной и гликолевой кислот, обеспечивающие длительное поддержание терапевтической концентрации препарата в организме овец. Это имеет большое теоретическое значение, так как в работе показаны новые подходы к разработке пролонгированных лекарственных форм, ранее не используемые в ветеринарии. Практическое значение этого фрагмента работы значительно, достигнут результат, позволяющий 2,5 месяца профилактировать заражение овец нематодозами.

Важное теоретическое и практическое значение имеет повышение эффективности комбинации антигельминтиков (никлозамида и ивермектина) за счет применения механохимической технологии, позволяющей получать твердые композиции лекарственных веществ с полимерами в качестве систем доставки молекул антигельминтика (Drug Delivery System). Это способствует повышению растворимости, биодоступности лекарственных субстанций и как следствие, снижению токсичности и повышению их эффективности (снижение терапевтической дозы антигельминтика в 5–10 раз).

Разработан и изучен комплексный лекарственный препарат монизен форте в форме раствора для парентерального и перорального применения.

Полученные в ходе работы результаты научно-исследовательской работы вошли в нормативную документацию на лекарственные препараты иверсан (номер регистрационного удостоверения 77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238) и монизен форте (номер регистрационного удостоверения 77-3-10.19-4509№ПВР-3-10.19/03484), утвержденные Россельхознадзором РФ в установленном порядке. Результаты исследований под авторским контролем с положительным эффектом внедрены в ветеринарных учреждениях и животноводческих хозяйствах России. Оба лекарственных препарата выпускаются отечественной фармацевтической промышленностью и в больших объемах применяются для лечения и профилактики паразитозов овец. Методические рекомендации по технологии приготовления супрамолекулярного комплекса никломек и его применению для профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота утверждены в установленном порядке Российской академией наук. Теоретические и практические разработки диссертационной работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Методология и методы исследований. Методологические подходы в решении задач основаны на биологических особенностях возбудителей паразитарных болезней мелкого рогатого скота и их клинических проявлений.

При выполнении исследований использовали паразитологические, фармакологические, токсикологические методы. Проводили доклинические и клинические исследования лекарственных препаратов, изучали их эффективность действия при гельминтозах и эктопаразитах мелкого рогатого скота, их безвредность, фармакокинетику и динамику выведения действующих веществ из организма овец.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартным процедурам, с помощью приложения Microsoft Excel 2010, с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследовательской работы по изучению переносимости иверсана, фармакокинетики и определения остаточных количеств ивермектина в органах и тканях овец, молоке коз, после его применения, противопаразитарной эффективности препарата иверсан.
2. Результаты изучения свойств имплантируемой системы пролонгированного действия иверлонг 1, ее эффективности и длительности действия при нематодозах овец.
3. Данные, полученные в ходе изучения фармако-токсикологических свойств имплантируемой системы пролонгированного действия иверлонг 2, фармакокинетика препарата и его эффективность при гельминтозах овец.
4. Результаты изучения фармако-токсикологических и противопаразитарных свойств препарата никломек.
5. Фармако-токсикологические свойства препарата монизен форте, его фармакокинетика, результаты определения остаточных количеств действующих веществ препарата в органах и тканях овец, молоке коз. Противопаразитарная эффективность препарата монизен форте.

Личный вклад. Инновационное значение имеют разработанные автором лекарственных средств иверсан, иверлонг 1, иверлонг 2, никломек и монизен форте. Автором определены план и ход исследований по каждому из этих препаратов. Определены методы проведения исследований, лично выполнена большая часть исследовательской работы, описанной в диссертации. Автор самостоятельно осуществляла планирование и выполнение экспериментов, проведение диагностических исследований, отбор проб, доклинических и клинических исследований, анализ и интерпретацию полученных данных,

участвовала в подготовке патентов, написании статей, готовила доклады и выступала на научных конференциях. Часть исследований проведена и опубликована в соавторстве. Автором написан раздел инструкции по применению лекарственного препарата иверсан овцам и составлена инструкция по применению препаратов монизен форте. Методические рекомендации по технологии приготовления супрамолекулярного комплекса никломек и его применению для профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота утверждены в установленном порядке Российской академией наук.

Соавторами некоторых исследований были ведущие ученые страны. Супрамолекулярный комплекс никломек создавался при участии д.х.н. Халикова С.С. (ФГБУ Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН) и д.в.н., профессора Архипова И.А. (ВНИИП – филиал ФГБУ ФНЦ ВИЭВ имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН). Лекарственные формы препарата иверлонг были разработаны при сотрудничестве с д.т.н., профессором Кедик С.А. и к.х.н. Сусловым В.В. (ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА); АО «Институт фармацевтических технологий»). За что выражаем благодарность.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Все научные заключения, приведенные в работе, основаны на анализе цифровых данных, полученных в результате экспериментальных исследований, большом объеме фактического материала, достоверность которых подвергнута статистическому анализу с помощью приложения Microsoft Excel 2010, с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий.

Тема диссертационной работы и материалы работы обсуждены и одобрены на заседаниях ученых советов ВНИИВСГЭ - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Основные результаты диссертационной работы доложены на научных конференциях: Международной научно-практической конференции «Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции», 2016 (Ставрополь); II Международном паразитологическом форуме, 2017 (Санкт-Петербург); VI Всероссийской конференции с международным

участием (к 50-летию Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова), 2017 (Чебоксары); Международной научно-практической конференции «Научные достижения современной науки: инновация, история, действительность, перспективы и правила реализации», 2017 (Санкт-Петербург); Международной научно-практической конференции «Наука и инновации в современных условиях», 2017 (Казань); XXXV Международной научно-практической конференции «Приоритетные научные направления: от теории к практике», 2017 (Новосибирск); II Международном паразитологическом форуме «Современные проблемы общей и частной паразитологии», 2017 (Санкт-Петербург); Международном симпозиуме «Современные проблемы зоологии и паразитологии: достижения и перспективы», 2017 (Кишинев); XII Научно-практической конференции, посвященной памяти профессора В.А. Ромашова «Современные проблемы общей и прикладной паразитологии», 2018 (Воронеж); конференции, посвященной 140-летию со дня рождения академика Скрябина К.И., 2018 (Москва); Международной научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», посвященной 90-летию со дня рождения А.С. Бессонова», 2019 (Москва).

Достоверность и новизна полученных данных подтверждена 6-ю патентами РФ на изобретения, нормативной документацией на лекарственные препараты иверсан (СТО 76069684-0188-2014 и «Инструкция по применению лекарственного препарата ИВЕРСАН®») и монизен форте (СТО 76069684-0246-2017 и «Инструкция по применению лекарственного препарата МОНИЗЕН® форте»), утвержденной Россельхознадзором РФ в установленном порядке.

Публикации. Автором опубликовано по материалам диссертации 41 статья, из них 23 в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России в перечне российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации, 4 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Web of science и Scopus, 14 работ опубликовано в сборниках научных трудов конференций; 2 методические рекомендации, 1 монография, 6 патентов.

1. Патент «Способ получения противопаразитарного препарата пролонгированного действия для животных» RU 2611387 C1.
2. Патент «Лекарственное средство для лечения гельминтозов животных» RU 2635514 C1.
3. Патент «Способ лечения и профилактики псороптоза овец» RU 2495673 C1.
4. Патент «Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных» RU 2568906 C1
5. Патент «Противопаразитарная композиция для защиты сельскохозяйственных животных» RU 2659174 C1
6. Патент «Способ профилактики и лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных животных и птиц RU 2709535 C1.

Объем и структура диссертации. Работа оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011 и изложена на 334 страницах компьютерного текста, включает в себя введение, обзор литературы, основную часть, заключение, список использованной литературы и приложения. Список использованной литературы включает 443 источника, в том числе 228 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 110 таблицами, 51 рисунком.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Фармако-токсикологические свойства ивермектина

Одним из основных мероприятий по борьбе с гельминтозами животных является дегельминтизация [92; 211]. Успех дегельминтизации зависит от наличия высокоэффективных антигельминтиков. В связи с этим постоянно ведется работа по изысканию антигельминтиков широкого спектра действия как в нашей стране, так и за рубежом [109]. Один из наиболее эффективных современных паразитицидов ивермектин был создан в 1979 году в научно-исследовательской лаборатории фирмы «Мерк» (Merk Sharp & Dohme Research Laboratories).

Ивермектин состоит из 5-о-диметил-22,23,-дигидроавермектина В_{1а} - ивермектин В_{1а} и 5-о-диметил-25-ди(1-метил-пропил)-22,23-дигидро-25-(1-метилэтила) - авермектин В_{1в} (ивермектин В_{1в}), то есть ивермектин не индивидуальное соединение, а смесь двух очень близких по строению веществ Н2В1а ($\geq 80\%$) и Н2В1в ($\leq 20\%$). Структурная формула ивермектина изображена на рисунке 1 [256].

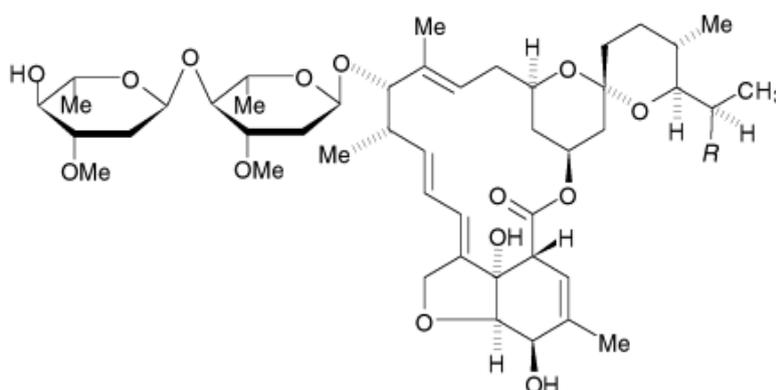


Рисунок 1 - Структурная формула ивермектина

По структуре ивермектин относится к классу макроциклических лактонов, его получают путем химической модификации (гидрирования двойной связи (C22=C23) природного авермектина В₁ и он может быть обозначен как Н2В1

(химический дериват авермектина В₁). Ивермектин – не природное вещество и не может быть получен путем ферментации микроорганизма *Streptomyces avermitilis*, как авермектины А₁, В₁, А₂ и В₂ [104]. Ивермектин получают путем селективного каталитического восстановления абамектина, который в свою очередь является продуктом жизнедеятельности почвенных организмов *Streptomyces avermitilis* [216].

Ивермектин обладает инсектицидной, акарицидной и нематоцидной активностью [258; 380; 383]. Антибактериальной и антигрибковой активности у ивермектина не обнаружено. Ивермектин воздействует на эктопаразитов и гельминтов, нарушая передачу импульсов между нервными клетками или от нервной клетки к клетке мышечной ткани посредством гаммааминомасляной кислоты (ГАМК) [171]. Ивермектин усиливает высвобождение ГАМК в пресинаптических нейронах. ГАМК – универсальный тормозной медиатор, блокирующий постсинаптическую стимуляцию соседних нейронов у нематод и мышечных волокон у членистоногих. Путем стимуляции высвобождения ГАМК ивермектин вызывает паралич и гибель паразитов [104; 420]. В отличие от низших организмов у млекопитающих ГАМК можно обнаружить только в головном и спинном мозге, с отсутствием определяемых уровней в периферийной нервной системе [69; 256]. У нематод ивермектин вызывает блокировку передачи нервных импульсов, вызывая паралич гельминтов.

Ивермектин блокирует передачу нервных импульсов (у членистоногих паразитов) между нервным окончанием и клеткой мышечной ткани [67; 171]. Кроме того, имеются данные по нарушению авермектинами проводимости Ca²⁺ — зависимых хлорных каналов с внешней стороны клеточных мембран.

Ивермектин очень хорошо изучен многими исследователями и характеризуется как высокоэффективный паразитоцид. Однако, кроме высокой эффективности препарата, чрезвычайно важны его токсикологические характеристики [62]. Для млекопитающих токсичность ивермектина зависит от его воздействия на ГАМК рецепторы центральной нервной системы животного. В терапевтических концентрациях ивермектин не способен на них

воздействовать, но при увеличении дозы более чем в 10 раз у животных появляются конвульсии, тремор и коматозное состояние – характерные признаки поражения центральной нервной системы. Ивермектин обладает нервнопаралитическим действием [172]. ЛД₅₀ для лабораторных животных при однократном оральном введении 15–60 мг/кг массы тела. Грызуны являются значительно более чувствительными к ивермектину по сравнению с другими видами животных. После введения ивермектина мышам и крысам интоксикация проявлялась в атаксии, замедленном и поверхностном дыхании, треморе. Такая картина наблюдалась при любых способах введения препарата, в течение первых 48 часов после введения ивермектина животные погибали [172]. По данным Lancas G.R., Gordon L.R. (1989), Семенова С.В. (2009), для мышей значения ЛД₅₀ после перорального и внутривентриального введения вещества составляли приблизительно 25 и 30 мг/кг соответственно. Препарат менее токсичен для крыс: при тех же путях применения ЛД₅₀ равняется 50 и 55 мг/кг. Имеется четко выраженная возрастная чувствительность: ЛД₅₀ для новорожденных крысят - всего 2-3 мг/кг. При накожном нанесении ЛД₅₀ ивермектина для крыс >660 мг/кг [172; 344].

Клинические проявления острой токсичности изучены и на продуктивных животных, таких как лошади, телята, овцы и свиньи. Данные испытаний представлены в таблице 1 [344].

Таблица 1 - Острая токсичность ивермектина для продуктивных животных

Вид животных	Способ введения	Доза, мг/кг ж.в. (кратность от терапевтической дозы)	Кол-во животных общее/павшие
Лошади	Внутримышечно	12 (60 кр.)	4/1
Телята	Подкожно	8 (40 кр.)	7/3
Овцы	Орально	8	2/1(эвтаназия)
Свиньи	Подкожно	30 (100 кр.)	4/1

У всех видов животных, приведенных в таблице 1, наблюдали следующие симптомы интоксикации: депрессия, атаксия, опускание нижнего века, поверхностное дыхание, у некоторых – кома. У телят, овец и свиней в течение 1-

2-х дней после введения ивермектина наблюдались лейкоцитоз, нейтрофилия, уменьшение концентрации сывороточного железа. Острая оральная токсичность ивермектина у собак оценивалась путем введения лекарственного препарата, растворенного в кунжутном масле, при уровнях дозировки 5; 10; 20; 40 и 80 мг/кг (в сутки) в отношении групп, каждая из которых состояла из двух сук и двух кобелей. Мидриаз у собак возникал при всех этих уровнях дозировки. Степень и длительность мидриаза были связаны с дозировкой препарата, результаты воздействия у некоторых собак проявлялись несколько дней. Более серьезные признаки интоксикации ЦНС, включающие атаксию и дрожание, возникали при дозах 10 мг/кг и выше. Две собаки в группе, получавшей ивермектин в дозе 80 мг/кг, пали в течение 12–24 часов после введения препарата, а одна собака в группе, получавшей 40 мг/кг, пала через 4 дня после введения препарата. Падежу предшествовало состояние, подобное коматозному. Значения оральной токсичности ивермектина у разных видов животных варьируются приблизительно в пределах 11,6–80,0 мг/кг.

При изучении токсичности ивермектина на овцах установлено, что ивермектин, введенный в дозе, в 25 раз превышающий терапевтическую, не вызывает токсикоза [104]. По данным Campbell W.C., et al. (1983), ивермектин - для овец малотоксичное действующее вещество, его ЛД₅₀ почти в 400 раз превышает его терапевтическую дозу [255].

Субхроническая токсичность ивермектина изучена на многих видах животных, в частности, при его введении белым крысам в течение трех месяцев в дозах 0,4; 0,8; 1,6 мг/кг в сутки было отмечено увеличение селезёнки лишь при применении ивермектина в дозе 0,8 мг/кг и выше [344]. При изучении эмбриотропных свойств ивермектина на крысах, мышах и кроликах установлено его отрицательное влияние на беременность мышей [333]. Однако имеются данные, что применение ивермектина в дозе, в несколько раз превышающей терапевтическую, не оказывает отрицательного влияния на репродуктивную способность различных видов сельскохозяйственных животных [256].

С целью определить тератогенное действие ивермектина его вводили лабораторным животным в разной стадии органогенеза (мыши – 6- и 15-й, крысы – 6- и 17-й, кролики – 6- и 18-й дни беременности) [172; 344]. Показано, что препараты ивермектина не оказывают тератогенного действия в терапевтических дозах менее 0,4 мг/кг массы тела в сутки [344]. Мутагенное действие ивермектина изучали на быках-производителях (в дозе 0,4 мг/кг однократно подкожно), на баранах (6-кратно перорально в дозе 0,4 мг/кг с интервалом в 21 день), хряках (подкожно однократно в дозе 0,6 мг/кг массы тела). В этих экспериментах исследователями не выявлено влияние на качество и активность сперматозоидов у данных видов животных [208; 344]. Достаточно хорошо изучено и влияние ивермектина на физиологические показатели и иммунитет животных. Ивермектин в терапевтической дозе ингибирует иммунную реакцию на тимусзависимый антиген, так была показана иммуносупрессивная активность ивермектина [137]. В эксперименте на овцах установлено, что ивермектин в терапевтической дозе, в течение 5 – 7 дней после введения вызывает угнетение Т и В систем иммунитета. В результате однократного введения ивермектина в терапевтической дозе наступает достоверное снижение В клеточной популяции лимфоцитов с $20,90 \pm 0,87$ % до $14,2 \pm 0,8$ % ($P < 0,05$). Такой эффект наблюдается в течение 10 суток. К концу этого срока относительное число В лимфоцитов достигало показателей, которые были у контрольных животных [88; 104].

В 1987 году ивермектин в виде 1% раствора для инъекций под торговой маркой Ивомек был рекомендован Главным управлением ветеринарии СССР для широкого применения при гельминтозах, а спустя год его отнесли к заслуживающим особого внимания препаратам [104]. Несколько позже в середине 90-х годов в России были зарегистрированы ивермектинсодержащие антигельминтная паста Эквалан для антигельминтной обработки лошадей, Ивомек премикс для противопаразитарной обработки свиней, «Цевамек» (Sanofi, Франция), «Баймек» (Bayer, Германия) это были первые импортные ивермектинсодержащие лекарственные препараты, появившиеся на рынке нашей страны. В настоящее время в России производится большая линейка препаратов,

содержащих ивермектин, – новомек, иверсект, диронет, иверсан, алезан паста, монизен, ивермек и другие. Эти препараты широко применяются ветеринарной службой страны для борьбы с паразитами животных. Ивермектин высокоэффективен против нематод, личинок оводов, вшей, иксодовых и саркоптоидных клещей.

Необходимо отметить, что, по мнению Camargo J. A. (2010), антипаразитарное действие ивермектина неодинаково при использовании разных лекарственных форм при различных путях его введения продуктивным животным [253].

Так, имеются данные по эффективности ивермектина при подкожном и оральном введении телятам. Согласно этим данным, ивермектин при подкожном введении более эффективно действует на личинок *Dictyocaulus spp.*, *Parafilaria bovicola* и *Thelazia spp.*, а также на эктопаразитов. Оральное введение ивермектина эффективно при инвазии телят желудочно-кишечными нематодами [327–366]. В опытах типа «контрольный тест» установлена 98 %-ная эффективность ивермектина в дозе 0,2 мг/кг интрамускулярно в форме раствора и перорально в форме пасты против личинок гастрофил, взрослых *T. axei*, *S. vulgaris*, *S. edentatus* и *Habronema spp.* Препарат в форме пасты и раствора проявил соответственно 100 и 93 %-ный эффект против личинок оксиур [336; 419]. Однако было установлено, что ивермектин не эффективен против взрослых *Oncocerca cervicalis*, локализующихся в выйной связке, но губительно действует на микрофилярии *O. cervicalis* [356]. Ивомек при подкожном введении и паста эквалан проявили 100%-ный эффект при параскаридозе, стронгилятозах пищеварительного тракта и гастрофилезе лошадей [11; 74; 111; 113–115; 145; 155; 221; 238; 285]. Также была установлена 100%-ная эффективность ивермектина в дозе 200 мкг/кг против личинок 4- и 5-й стадии *Delofondia vulgaris* [334]. Об эффективности ивермектина против личиночных и половозрелых стадий *Alfortia edentatus*, *Oxyuiris equi*, *D. vulgaris* сообщают многие исследователи [280; 353; 355; 438; 438]. Ивермектин в дозе 200 и 300 мкг/кг при внутримышечном применении лошадям показал 99%-ную эффективность против *Gastrophilus spp.*,

Alfortia edentatus, *Strongylus equinum*, *Draschia megastoma*, *D. vulgaris* [286; 441]. Более высокая эффективность ивермектина при его даче перорально в форме пасты, чем в инъекционном растворе, была установлена у лошадей. Ивермектин в дозе 200 мкг/кг оказал 100%-ный эффект против личинок *Oxyuris equi* при даче его внутрь в форме пасты, а в форме раствора эффективность ивермектина была 93% [334; 419]. При даче ивермектина внутрь через рот или внутримышечно в дозе 200 мкг/кг против личинок *Alfortia edentates* и *D. vulgaris* половозрелых оксиурисов и параскарид также была получена 100%-ная эффективность [438]. Исследователи установили эффективность ивермектина против мигрирующих личинок, в том числе и *D. Vulgaris* [355; 376]. Внутримышечное введение ивермектина в дозе 200 мкг/кг оказалось также высокоэффективным против *Strongyloides westeri* [368; 352]. Через две недели после применения ивермектина в дозе 200 мкг/кг внутримышечно лошадям с клиническими признаками дерматита, вызванного микрофиляриями *Onchocerca cervicaiis*, состояние лошадей улучшилось, на пораженных участках кожи появилась шерсть. Обследование лошадей через 4–9 месяцев после лечения показало, что в 9 случаях микрофилярии отсутствовали полностью, а в шести случаях их отмечали в незначительном количестве [323]. Эффективность ивермектина против микрофилярий онхоцерков подтвердили и другие учёные [254; 285].

Антипаразитарная эффективность ивермектина широко испытана на крупном и мелком рогатом скоте. Высокая эффективность (98–99%) ивермектина была получена в дозе 200 мкг/кг при его подкожном введении крупному рогатому скоту против *Trichostrongylus axei*, *T. columbriformis*, *Ostertagia ostertagi*, *Oesophagostomum radiatum*, *Haemonchus placei*, *Cooperia oncophora*, *C.punctata*, *Dictyocaulus viviparus*, его эффективность против личинок этих гельминтов была равна 95–99% [218; 296; 297; 299]. Многие авторы сообщают о высокой эффективности ивермектина при подкожном его применении крупному рогатому скоту (в дозе 200 мкг/кг) против половозрелых желудочно-кишечных и лёгочных нематод, а также их личинок [171; 427; 230; 240; 241; 289; 373]. У крупного рогатого скота ивомек высокоэффективен в дозе 0,2 мг/кг подкожно против

нематод пищеварительного тракта – нематодир и остертагий [107; 124; 233; 241; 244; 326; 345; 410], трихостронгилид [10], буносом и стронгилоидов у телят [90; 239; 241].

Ивомек показал 100%-ный эффект против диктиокаул [14; 67; 107; 129; 241]. Также его высокую эффективность против телязий (90–100%) отмечали многие авторы [15; 89; 105; 133]. Ивермектин является одним из немногих эффективных средств лечения эктопаразитарных заболеваний крупного рогатого скота. Его эффективность против псороптоза отмечал целый ряд советских паразитологов [7; 97; 177]. Была также неоднократно установлена высокая эффективность ивермектина против демодекоза [179; 213], гиподерматоза [15; 97]. Также в литературе имеются данные о высокой активности ивермектина против чесоточных и иксодовых клещей [160; 300; 374]. Подкожное применение ивермектина также освобождает коров и от вшей [349]. Однако в литературе приводятся данные, что разовое оральное применение ивермектина не вызывало излечения коров от эктопаразитозов [358]. Разовое подкожное применение ивермектина 8-месячным бычкам излечило животных от псороптоза. Тем не менее отсутствие повторной обработки привело к рецидиву заболевания. Поэтому ивермектин против эктопаразитов крупного рогатого скота рекомендуется применять двукратно с интервалом 10–14 дней [171; 364].

Ивомек активно применяют и в овцеводстве. Введенный подкожно в дозе 200 мкг/кг он оказывает 100%-ный или близкий к этому эффект против гемонхов и остертагий, кооперий [152; 209; 233; 244; 410], нематодир [207], эзофагостом [152], трихоцефал [87] и протостронгилид [204; 203], буносом [6]. При смешанных нематодозах пищеварительного тракта овец ивермектин также показал высокую эффективность [38; 108; 116; 138; 209; 276]. При диктиокаулезе овец многие авторы также отмечали его высокую эффективность [116; 138; 147; 148; 184]. Подкожное применение овцам ивермектина в дозе 400 мкг/кг было эффективно против *Nematodirus spp.* – 81,3%, *Muellerius capillaris* – 77,8%, *Bunostomum trigonocephalum* – 100%, *Oesophagostomum spp.* – 93,1%,

Trichostrongylus spp. – 100%, *Ostertagia spp.* – 100%, *Dictyocaulus filaria* – 95,9% [171; 241].

При подкожном введении овцам ивермектин высокоэффективен против большинства эктопаразитов овец: против псороптесов [159; 122; 123; 161; 241]. При эстрозе овец его высокий эффект отмечали многие исследователи [48; 106; 108; 152; 189; 164; 386]. Хорошие результаты ивермектин показал и при его введении внутрь овцам, в дозе 0,2 мг/кг он показал эффективность против *Nematodirus spathiger*, *Trichostrongylus colubriformis*, *T. axei*, *Ostertagia circumcincta*, *Haemonchus contortus* – 100%, против *Strongyloides papillosus* – 99,8%, *Dictyocaulus filarial* – 99,4%, *Trichuris ovis* – 98,9% [439].

Ивермектин является наиболее эффективным препаратом для лечения нематодозов свиней [68; 69; 165; 168]. Его эффективность равна при эзофагостомозе – 86–100%, аскаридозе – 100%, трихоцефалезе – 70–100% [150; 166; 167; 175; 186; 241]. Более низкие значения эффективности ивермектина при этой же дозе (0,3 мг/кг) были получены в другом эксперименте – против *Oesophagostomum dentatum* – 65,0%, *Ascaris suum* – 98,2%, *Trichocephalus suis* – 64,6%, *Metastrongylus spp.* – 99,2%. Подкожно испытан ивермектин в дозе 0,2 мг/кг против *Strongyloides ransomi*, *Metastrongylus pudendodectus*, *Oesophagostomum dentatum*, *O. giadrispinulata*, *Ascaris suum*. В этом опыте был получен соответственно 100, 99,9, 49,1, 80,4, и 100%-ный эффект [408]. Высокая эффективность ивермектина против *Ascaris suum*, *Trichocephalus suis*, *Metastrongylus spp.* доказана и другими исследователями [408; 422; 443]. В виде премикса ивермектин при нематодозах свиней испытали советские паразитологи и получили эффективность при аскаридозе – 98,7–100%, при эзофагостомозе – 97,5–100%, при трихоцефалезе – 55,8–75% [70; 169].

При подкожном ведении ивермектина свиньям в дозе 0,3–0,5 мг/кг установлена его высокая эффективность против *Sarcoptes scabiei* [241; 279 346; 408]. При гематопинозе свиней в дозе 0,2 мг/кг препарат также показал высокую эффективность [162; 291; 234]. Его высокую эффективность при саркаптозе свиней в дозе 0,3 мг/кг подтвердили и советские ученые [41; 159 169; 175; 191].

Многие исследователи отмечают пролонгированный антигельминтный эффект ивермектина. Продолжительность антигельминтного действия ивермектина (введенного подкожно в дозе 200 мкг/кг) против стронгилят пищеварительного тракта бычков составила 7 суток [244]. Ивомек обладает высокой эффективностью против микроонхоцерков (91–100%), причем его действие при этом гельминтозе является пролонгированным до 181 суток [12–14; 16; 17]. При подкожном применении ивермектина ягнятам в дозе 0,2 мг/кг через 12 суток после введения получена 96%-ная эффективность против диктиокаул, гемонхов, остертагий, маршалагий, трихостронгил. Эффективность препарата против нематодирусов была 80–85%, кооперий 92–100% [428].

При разработке и применении любого лекарственного средства кроме его эффективности огромное значение имеет его фармакокинетика в организме целевого животного и выделение его метаболитов в окружающую среду. Это важно не только для определения сроков ожидания, но и для определения существования угрозы загрязнения окружающей среды действующим веществом препарата или его метаболитами [70]. Результаты изучения фармакокинетики ивермектина на животных приведены в ряде работ. Авторами были определены параметры при использовании инъекционной формы при подкожном и внутримышечном введении. Данные, полученные в результате этих экспериментов, наглядно иллюстрируют фармакокинетические параметры, вычисленные для любых путей введения ивермектина у различных видов животных (таблица 2) [257].

Таблица 2 - Фармакокинетические параметры, полученные после введения ивермектина различным видам животных

Источники литературы и вид животного	Способ введения	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	AUC (ng day/ml)
КРС Lifschitz et al. (2000) Lifschitz et al. (1999b)	ПК	40	24	278
	ВМ	22,6	54	189
Овцы Barber et al. (2003)	ПК	25.8	29.8	82.1(0–15d)

Продолжение таблицы 2

Свиньи Craven et al. (2002b) Animals weighing 51 kg	ПК	8	75,1	70,5
Animals weighing 60 kg	ПК	7,2	48	87,7
Лошади Marriner et al. (1987)	ПК	60,7	80	550,4
Perez et al. (2002)	О	51,3	3,6	137.1(0-30d)
Собаки Daurio et al. (1992) Standard tablet	О	44,3	4,2	43,1
Modified tablet (crystalline)	О	48,4	3,8	41,7

С_{max} —максимальная концентрация в плазме; t_{max} — время достижения С_{max}; AUC —area under the plasma concentration–time curve (область под кривой, показывающая концентрацию препарата в плазме); ПК— подкожно; О — орально; ВМ—внутримышечно.

Подкожное введение ивермектина наиболее изучено. Результаты показывают высокую степень изменчивости кинетических параметров, которая может происходить из-за различий в породе, конституции, числе образцов или точек данных, методов определения количества ивермектина и кинетической обработки данных, или нестабильному поглощению препарата в месте инъекции. Несмотря на эту изменчивость, было показано, что концентрации препарата в плазме, которая определяется у рогатого скота, клинически эффективна против некоторых разновидностей эндо - и эктопаразитов [272–273]. Против желудочно-кишечных нематод концентрация ивермектина эффективна в течение приблизительно 10 дней, а против *Dictyocaulus viviparus* в течение 21 дня. У рогатого скота концентрации ивермектина в плазме 0,5-1 нг/мл оказывает действие на желудочно-кишечных и легочных нематод, а концентрация 0,5 нг/мл также воздействует на мух *Hypoderma spp.*

Уровни ивермектина в плазме у овец ниже, чем у рогатого скота. Бионакопление при подкожном введении колеблется в пределах от 22% до 98,2%. Концентрации ивермектина в плазме при пероральном введении также значительно ниже, чем при подкожном введении. Таким образом, пероральный прием приводит к более низкой эффективности и более короткой продолжительности действия. Фармакокинетические параметры ивермектина

зависят от способа введения, состава препарата и вида животного [247; 303]. Ивермектин обладает высокой липофильностью и имеют низкую растворимость в водных растворах, которая колеблется от 0,006 до 0,009 ppm [326]. Это приводит к его значительному депонированию в жировой ткани вне зависимости от способа введения и, как следствие, к медленному высвобождению и достаточно продолжительному присутствию препарата в плазме [268; 273]. Период полувыведения ивермектина из плазмы крови при подкожном введении составляет: для овец 3,7 дня, для коров 5 дней, для свиней 4 дня, для лошадей 6,5 дня [301; 421], для собак 1,8 дня [274; 327]. Минимальная терапевтическая (антигельминтная) концентрация авермектинов, в том числе ивермектина, составляет 0,5–1 нг/мл [347]. Концентрация ивермектина в плазме, обеспечиваемая такими высокоэффективными препаратами, как Ivomec и Ivomec Gold, составляет от 1 нг/мл до 8 нг/мл [348; 418]. По данным ученых Lifschitz. A. (2007), Borges F.A. (2007), Bridi A.A. (2001), Rehbein S. (2002), это инъекционные препараты, представляющие собой 1–3,5 % растворы ивермектина в смеси пропиленгликоль/глицеролформаль или других неводных растворителей [242; 245; 348; 382].

При подкожном введении ивомека в дозе 0,2 мг/кг в смеси растворителей пропиленгликоля и глицеролформалья (в объемных соотношениях 60:40) $t_{1/2}$ равнялся 8,3 суткам, что связано с депонированием и медленным высвобождением препарата из подкожной клетчатки [350]. Более медленное высвобождение препарата при подкожном введении имеет большое клиническое значение, так как антигельминтное действие ивомека сохраняется в течение 2 недель [256]. При инъекции ивомека бычкам в дозе 0,3 мг/кг и последующем анализе 25 проб тканей и органов исследователи установили максимальную концентрацию в печени, желчном пузыре и жире соответственно 782; 273 и 270 мкг. $T_{1/2}$ для печени и жира составил соответственно 4 и 7 суток [303]. Большое значение имеет лекарственная форма препарата и его состав, потому что вспомогательные компоненты также могут существенно изменять фармакодинамику действующего вещества лекарственного средства. В частности,

при введении ивермектина в форме водного мицеллярного раствора и в смеси последнего с глицеролформалем (в объемных соотношениях 50:50) максимальную концентрацию у телят установили соответственно через 1 и 2 суток; она равнялась 84 ± 7 и 25 ± 14 нг/мл, а $t_{1/2}$ в первом случае был равен $2,0 \pm 0,3$, во втором – $3,7 \pm 0,7$ [350]. При внутривенном введении ивермектина овцам в дозе 0,3 мг/кг в смеси растворителей пропиленгликоль-глицеролформаль (в объемных соотношениях 60:40) $t_{1/2}$ был аналогичен таковому показателю для коров – 2,7 суток, однако объем распределения был значительно выше (4,6 л/кг), а фаза распределения была такой же, как и у коров, короткой $K_d=10$ суток [350]. Установлено, что у овец период полувыведения равен 61 часу [360], в то время как другими авторами приводится значение 7,4 суток [379]. При введении овцам ивермектина через рот в пропиленгликоле и в форме водного мицеллярного раствора в дозе 0,8 мг/кг период его полувыведения колебался незначительно, от трех до пяти суток [350]. При пероральном и подкожном введении ивермектина свиньям в дозе 0,2 мг/кг в смеси пропиленгликоль-глицеролформаль концентрация препарата в плазме крови достигла пика быстрее при оральном пути введения по сравнению с подкожным (0,5 и 2 суток соответственно), что свидетельствует о более высоком уровне всасывания в первом случае. В то же время биодоступность при введении препарата через рот была ниже и составила 41% от таковой при подкожном пути введения [350]. В другом опыте ивермектин вводили в дозе 0,4 мг/кг двум группам хряков, в одном случае в форме 0,22% премикса на молотом пшеничном зерне, в другом – в форме 0,6% премикса на том же носителе. Пик в плазме крови в обоих случаях отмечали быстро, через 4–8 часов, кроме этого, препарат и выделялся быстрее при оральном пути введения ($t_{1/2}$ составил 0,5 суток) [350]. Применяется в животноводстве и ивомек пурон – накожное нанесение раствора ивермектина показывает высокую эффективность при нематодозах и гиподерматозе крупного рогатого скота [16]. Лошадям ивермектин вводили в дозе 0,2 мг/кг в двух различных формах: в форме пасты и водно-мицеллярной композиции. В последнем случае препарат всасывался значительно быстрее, пик концентрации отметили уже через 4-5 часов, в то время

как для пасты он составил 15 часов. Биодоступность препарата при введении в форме водного, мицеллярного раствора была на 20% выше [231].

При изучении принципиально новых противопаразитарных препаратов пристальное внимание уделяют изучению не только их противопаразитарной активности, но и воздействию на копробинтов и других представителей фауны, изучая при этом качественный и количественный состав выделяющихся продуктов распада препарата. Исследователями установлено, что у крыс и быков основными метаболитами ивермектина были 2,4-гидроксиметил- H_2V_{1a} и 2,4-гидроксиметил- H_2V_{1b} , а у свиней - 3"-0 - диметил - H_2V_{1a} и 3"-0-десметил- H_2V_{1b} . Среди метаболитов преобладали моносахариды вышеуказанных гидроксированных соединений [272; 369]. В то же время есть данные, что у бычков, овец, свиней и крыс 50% радиоактивности в фекалиях, после введения им ивермектина, составляли H_2V_{1a} и H_2V_{1b} , а остальную часть составляли полярные метаболиты [270]. Отмечают также, что основные метаболиты при введении ивермектина свиньям – 3"-0-десметил- H_2V_{1a} и - H_2V_{1b} [269]. С фекалиями у крупного и мелкого рогатого скота, свиней и крыс в течение семи дней после введения ивермектинсодержащих препаратов выделяется от 62 до 83% действующего вещества, при этом, от 23 до 78% ивермектина выделяется в неизменном виде (в зависимости от вида животных) [269]. В прямой зависимости от вида животных, дозы и кратности введения им ивермектина находится количество выделяемых в окружающую среду его остатков [317]. Так, после применения ивермектина овцам и бычкам в дозе 0,3 мг/кг, свиньям – в дозе 0,4 мг/кг содержание ивермектина у них в фекалиях составило 61; 44 и 39% [365]. Большое значение для экологии играют стабильность, метаболизм и мобильность авермектинов в почве. Известно, что метаболиты менее токсичны для *Daphnia magna* по сравнению с ивермектином [318]. При изучении поведения ивермектина во внешней среде отмечается его неподвижность в почве ($K_{oc} < 4000$), как результат прочной его сорбции на поверхности почвенных частиц [320; 433]. Установлено, что в лабораторных условиях и во внешней среде в зимний период ивермектин в почвенно-фекальной смеси деградирует довольно медленно ($t_{1/2} = 90$ -

240 дней). При этом препарат подвергается быстрой деградации во внешней среде в летний период ($t_{1/2}=7-14$ дней) [318]. Токсичность ивермектина по отношению к почвенным бактериям оценивали по их влиянию на процессы дыхания и нитрификации в почве. Токсичный эффект не был обнаружен [319]. Вместе с тем установлено, что в течение 28 суток после подкожного введения ивермектина крупному рогатому скоту в дозе 200 мкг/кг в навозе полностью задерживалось развитие малой коровьей жигалки (*Haematobia irritans*), а при ежедневном его введении через рот в дозе 0,01 мг/кг – развитие мух полностью подавлялось. При применении ивермектина внутрь в дозе 0,05 мг/кг имела место гибель: жигалки обыкновенной (*Stomoxys calcitrans*) – 60%, а комнатной мухи (*Musca domestica*) 90% [366; 368]. *Scatophaga stercoraria* проявила очень высокую чувствительность к микроколичествам препарата в навозе коров. При концентрации ивермектина в фекалиях коров 0,015 мкг наблюдалось 50%-ное ингибирование окукливания, а при уровне 0,001 мкг – 50%-ное угнетение выводимости. При концентрации препарата всего 0,0005 мкг у нового поколения отмечали морфологические аномалии в строении крыльев [409]. После подкожного введения ивермектина в дозе 0,2 мг/кг только через 35 суток было отмечено появление имаго малой коровьей жигалки [394].

После обработки овец ивермектином в терапевтической дозе отмечали полную гибель личинок *Musca vetustissima* Wolker в течение 7 суток [425]. Остатки ивермектина в навозе коров угнетали развитие *Musca neveli* Kleynhans, оно выразилось в задержке развития личинок до 4 недель. У появившегося поколения отмечалось снижение плодовитости [340]. В течение 2 дней с момента обработки овец ивермектином у вида *Lucilia cuprina* Wiedemann, питающегося на навозе от овец, зафиксировано снижение выживаемости, задержка в развитии яиц и снижение плодовитости нового поколения [359]. После обработки крупного рогатого скота ивермектином в терапевтической дозе отметили угнетение развития насекомых представителей семейств *Sphaeroceridae*, *Sepsidae* и двух видов *Gymnodia* [394]. После обработки крупного рогатого скота ивермектином в дозе 0,2 мг/кг полностью угнеталось развитие личиночных стадий жуков

O. gazella в течение 21 суток [387]. Личиночные стадии жуков-навозников рода *Aphodius* в течение 7 суток после обработки животных также были чувствительны к неблагоприятному воздействию ивермектина [409]. Высокую чувствительность к остаткам ивермектина в фекалиях овец также проявили навозные жуки *Euonificellus fulvus* Goeze. После обработки животных в течение суток отмечали снижение плодовитости у взрослых особей, задержку развития личиночных стадий, а также гибель имаго нового поколения. Через двое суток регистрировали полную гибель личинок. Однако через 5 суток действие препарата практически уже отсутствовало [425]. Наряду с этим советскими учеными не было отмечено отрицательного действия на жуков-копробионтов в навозе от телят, обработанных ивомеком. Однако, имело место снижение количества личинок мух и коротконадкрылых жуков в первые 4–7 суток после применения препарата [45].

При применении болусов с ивермектином (0,4 мг/кг/в сутки) навозные лепешки от обработанных животных оставались твердыми и без всяких изменений на протяжении 100 дней, тогда как фекалии от контрольных животных разлагались в течение 40 дней. По мнению авторов, такое существенное различие явилось результатом почти полного отсутствия в навозе жуков *Coleoptera* [424]. С целью установления параметров острой токсичности ивермектина для дождевых червей *Eisenia foetida* препарат добавляли в почву в диапазоне концентраций от 12 до 200 мкг/кг. Расчетная LC_{50} равнялась 315 мкг [317]. Недействующей была концентрация 12 мкг/кг [315]. При использовании болусов с ивермектином крупному рогатому скоту определялось количество дождевых червей в навозе и нижележащей почве через различные интервалы времени. Чёткие различия между опытными и контрольными пробами в числе и времени появления дождевых червей отсутствовали [424]. В навозе телят, обработанных ивомеком в трехкратной терапевтической дозе, количество и выживаемость дождевых червей *Eisenia foetida*, *L. rubelus*, *E. rosea* не отличалось от контроля [70].

Таким образом, анализируя представленные в литературном обзоре данные, можно констатировать достаточно высокий уровень изученности подкожного

применения ивермектина животным, в том числе и овцам, а также экологическое воздействие этого паразитоцида.

Подводя итог обзора литературы по паразитарной активности ивермектина, можно заключить, что ивермектин является высокоэффективным и хорошо изученным действующим веществом, на основе которого можно успешно создавать новые перспективные лекарственные препараты. Особую актуальность имеет создание новых лекарственных препаратов, имеющих большую продолжительность действия ивермектина и расширяющих возможности его применения, важно также и создание современных лекарственных средств для групповой обработки овец. Создание антигельминтных препаратов пролонгированного действия позволяет снизить периодичность обработок животных и уменьшить их стоимость, что делает исследования в этом направлении весьма значимыми [119]. Для создания препаратов пролонгированного действия хорошим приемом является введение в их состав биосовместимых полимеров с образованием полимерной матрицы, содержащей действующие вещества. Высвобождение лекарственных веществ из полимерных матриц осуществляется за счет диффузии и/или постепенной деградации полимерной матрицы под действием гидролитических ферментов, что обеспечивает длительное поддержание эффективной концентрации действующего вещества в организме [119; 378]. Возможность создания антигельминтных препаратов пролонгированного действия активно изучается как в нашей стране, так и за рубежом [252; 261; 262; 263; 274]. В медицине и ветеринарии метод лечения – пролонгированная химиотерапия известен, сущность его заключается в удлинении срока действия лекарственного вещества, введенного в организм [388]. Наиболее полное экспериментально-теоретическое обоснование проблемы разработки лекарств пролонгированного типа дано в работе Buri P. V. (1972) [250]. В настоящее время чаще всего при создании лекарственных композиций используются полилактиды, полигликолиды и их сополимеры. Наиболее легко в живых организмах гидролизуются полилактиды. В медицине биоразлагаемые полимеры уже используются достаточно широко [210; 357; 363].

Пролонгированное действие лекарственных веществ может быть достигнуто тремя способами:

– уменьшением скорости выделения препарата из организма путем назначения веществ, ингибирующих выделительную функцию почек или других органов выделения [290];

– замедлением биотрансформации препарата, которое достигается совместным назначением лекарственных веществ с ингибированием ферментных систем, например, глюкуронидазной системы, обеспечивающей превращение левомецетина и некоторых сульфаниламидов [246];

– замедлением всасывания лекарственных веществ.

Последний способ в наибольшей степени отвечает физиологическим требованиям, доступен в техническом плане и широко используется в медицине более 30 лет при создании инъекционных и пероральных лекарственных форм [290].

По механизму действия пролонгированные препараты подразделяются на две группы:

– с периодическим освобождением определенных доз лекарственных веществ – препараты повторного действия;

– с постоянным и равномерным поддержанием концентрации лекарственных веществ – препараты поддерживающего действия.

Для получения препаратов поддерживающего действия лучшей формой являются таблетки с так называемым нерастворимым каркасом (сердцевиной), или дурулы. Лекарственные вещества из них высвобождаются путем вымывания [187].

Способы получения препаратов пролонгированного действия для перорального назначения подразделяют на физические и химические [339]. Физические методы включают покрытие оболочками кристаллических частиц лекарственных веществ, гранул и таблеток, смешивание препаратов с веществами, замедляющими всасывание, биотрансформацию и выделение, а также образование нерастворимых основ (каркасных таблеток). Химические методы в

свою очередь включают адсорбцию на ионитах и образование комплексов, взаимодействующих по химическим структурам веществ.

В последнее время успешно применяют и испытывают средства пролонгированной терапии с полимерными материалами, на основе которых производят гормональные, анальгизирующие препараты [295]. Использование полимеров в качестве основы лекарственного средства, содержащего известные лекарственные субстанции, позволяет существенно увеличить его биологическую активность, пролонгировать срок действия, снизить токсичность, а также выявить новые качества лекарства [120; 288; 304]. Синтетические биоразлагаемые полимеры и их сополимеры широко применяются в гуманной медицине при разработке полимерных лекарственных форм [260; 377]. Несмотря на ряд достоинств применения полимерных лекарственных форм, нельзя не учитывать их возможные ограничения, такие как токсичность полимерной матрицы и ее биологическая несовместимость.

Из новых лекарственных форм для ветеринарной практики целесообразны и перспективны капсулированные формы (микро - и нанокapsулы), липосомальные лекарственные формы, твердые дисперсные системы и иммобилизированные лекарственные препараты [71; 82; 183].

Иммобилизация лекарственного вещества дает возможность увеличить длительность его пребывания в организме животного. Правильно выбранные полимерный носитель и вспомогательные вещества не только обеспечивают пролонгацию, но и предотвращают разрушение лекарственного вещества в процессе хранения, снижают его побочное действие, улучшают его фармакокинетические параметры [43; 44]. Для ветеринарии, как и для медицины, важной задачей является разработка новых способов профилактики заболеваний посредством применения пролонгированной химиотерапии [304; 328]. С целью создания препарата более длительного действия была изучена возможность получения полимерных микросфер, содержащих ивермектин и формируемые имплантаты [252].

Исследования фармакокинетики ивермектина в виде полимерных микросфер (рисунок 2) в организме собак и его эффективности были проведены на примере *Dirofilaria immitis*, паразитирующих в сердце собак [274].

Каждой собаке (6 собак в каждой группе) была сделана однократная инъекция из расчета 0,5 мг/кг.

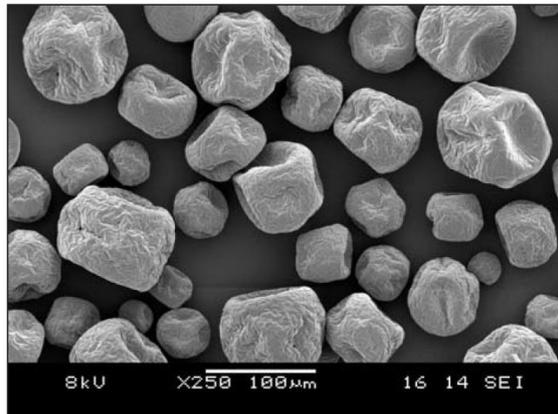


Рисунок 2 - Микрофотография микросфер T₃ содержание 50% ивермектина

По данным изучения фармакокинетики для дальнейших исследований были выбраны наиболее перспективные микросферы T₃ и T₄, которые обеспечивали наиболее равномерный профиль концентрации ивермектина в плазме животных около 1-2 нг/мл.

Терапевтическая эффективность ивермектин – PLGA микрочастиц против инфицирования собак *Dirofilaria immitis* в этом эксперименте на 121- и 170-й день после однократной инъекции микросфер ивермектина (0,5 мг/кг) составила 100%. Однако фармакокинетика и терапевтическая эффективность таких форм ивермектина для борьбы с экто- и эндопаразитами, по словам автора, требует дополнительного изучения. Исследования по получению формируемых имплантатов, содержащих ивермектин, ограничиваются изучением влияния биосовместимых растворителей с различными физико-химическими свойствами на высвобождение (in vitro) ивермектина из имплантатов данного типа [252; 252].

В качестве успешного решения этого вопроса можно назвать создание компанией «Мериал» инъекционного противопаразитарного препарата Longrange на основе эприномектина [400]. Препарат Longrange™ обеспечивает концентрацию эприномектина в плазме крови животного на уровне не менее

1 нг/мл в течение 150 дней. Но этот препарат не зарегистрирован в России. Весьма хорошо зарекомендовала себя пастбищная профилактика кишечных стронгилятозов крупного рогатого скота путем применения болюсов «Паратект», содержащих антигельминтик морантел тартрат. Препарат из болюса поступает в организм животного практически в течение всего пастбищного периода. Широкие производственные испытания этого способа профилактики желудочно-кишечных стронгилятозов проведены в разных странах. Они показали очень высокий профилактический и экономический эффект [328; 329; 330]. Профилактический и лечебный эффект болюсов обусловлен созданием определенной концентрации антигельминтика в желудочно-кишечном тракте, губительно действующего как на самих гельминтов, так и на их личинок в течение длительного времени. Количество яиц стронгилят в фекалиях леченых телят с мая по июль может уменьшаться на 55%. Это способствует увеличению прироста массы животных на 8–34 кг (в среднем на 24 кг по сравнению с контрольными животными), снижению трудоемкости дегельминтизаций и связанных с этим затрат, повышению эффективности лечебных и профилактических мероприятий. Применение «Паратекта» снижало рассеивание инвазионного начала на пастбище, последнее оставалось практически свободным от яиц и личинок гельминтов к началу нового сезона выпаса [413].

Устройства пролонгированного антигельминтного действия типа болюсов «Паратект» в настоящее время широко используются за рубежом в ветеринарной практике для химиопрофилактики гельминтозов и других паразитарных заболеваний жвачных животных. К сожалению, российских аналогов этих препаратов или подобных оригинальных продуктов пока не создано, хотя работы в этом направлении ведутся.

Парентеральное применение нилверма (тетрамизола) адсорбированного на нейтральном носителе – активированном угле и подкожное применение такой смеси на растительном масле позволило создать в организме животного медленно рассасывающийся запас антигельминтика и пролонгировать действие препарата на 2-3 месяца при лечении стронгилятозов жвачных [151].

В качестве носителей также используются кремнийорганические соединения [8; 141; 212]. Использование биосовместимых полимеров в качестве основы лекарственных форм может не только устранить многие недостатки традиционных противопаразитарных препаратов, но и добавить новые свойства, такие, например, как пролонгированное действие препарата [283]. Постепенный выход действующего вещества из биополимерных микрочастиц обеспечивает длительное поддержание необходимой концентрации действующего вещества в организме или локально в определенном органе или ткани. Тем самым устраняется необходимость дополнительного многократного введения препарата, снижаются его токсичность и побочные эффекты, повышается его эффективность за счет равномерной скорости подачи и эффективного расходования действующих веществ. Если же в качестве носителя используется биоразлагаемый полимер, то лекарственная форма после высвобождения действующего вещества полностью деградирует, а продукты биodeградации выводятся из организма. В настоящее время разработка полимерных лекарственных форм ведется в основном с использованием широко применяемых в медицине синтетических биоразлагаемых полимеров – полилактидов, полигликолидов и их сополимеров [260; 377]. Несмотря на ряд достоинств использования полимерных лекарственных форм, нельзя не учитывать их возможные ограничения, в частности, высокую их стоимость по сравнению с традиционными лекарственными формами.

Одной из очень перспективных композиций, по нашему мнению, является комбинация ивермектина с празиквантелом, так как обе эти фармакологические субстанции являются низкотоксичными и высокоэффективными антигельминтиками, действующими на разные классы паразитов.

1.2 Фармако-токсикологические свойства празиквантела

Празиквантел является широко применяемой с 1980 года противопаразитарной фармакологической субстанцией, как в медицине, так и в ветеринарии, он применяется для борьбы с цестодозами, а в медицине и в борьбе с трематодозами (описторхозом, шистосомозом). Препарат впервые синтезирован

и запатентован в 1975 году фирмой Bayer AG (ФРГ) и предложен в качестве антигельминтика широкого спектра действия (синонимы: дронцит, Embay-8440, бильтрицид, цезол, пиквитон, азинокс) [104].

Празиквантел (2-циклогексилкарбонил-1, 3, 4, 6, 7, 11Ь-гексагидро- 4Н-пиразино[2,1-а] - изоквинолин-4-один). Структурная формула празиквантела изображена на рисунке 3 [228].

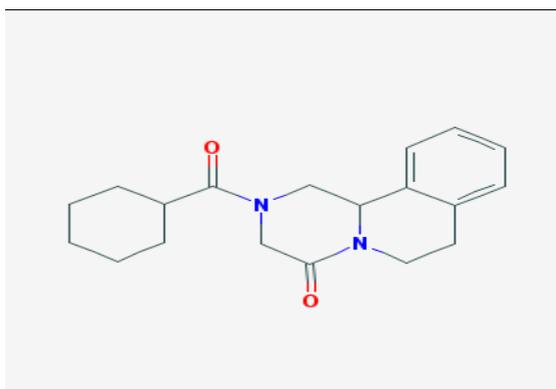


Рисунок 3 - Структурная формула празиквантела

Это белого цвета кристаллический порошок, с горьким вкусом, стойкий при обычных условиях, температура плавления 136–140°C с распадом. Практически не растворим в воде, растворим в хлороформе и диметилсульфоксиде, умеренно растворим в этиловом спирте [36; 91].

Препарат активен по отношению ко всем стадиям развития ленточных гельминтов, в т.ч. *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Mesocestodes spp.*, *Taenia spp.*, *Dipylidium caninum*, *Difillobotrium latum*.

Его фармакокинетика и эффективность *in vitro*, *in vivo* хорошо изучена [104; 225; 284; 351; 361; 362; 370; 416; 417]. Механизм действия празиквантела основан на нарушении у цестод транспорта глюкозы и микротубулярной функции, угнетении активности фумаратредуктазы и синтеза АТФ, повышения проницаемости клеточных мембран и нарушении мышечной иннервации [104]. Действие празиквантела обусловлено его способностью вызывать очень быстрое увеличение проницаемости мембран для двухвалентных катионов, что приводит к увеличению концентрации ионов кальция в мускулатуре трематод и цестод и

вызывает паралич их мускулатуры. Кроме того, празиквантел вызывает вакуолизацию их оболочек, что делает паразитов восприимчивыми к действию иммунной системы и пищеварительных ферментов хозяина [227]. Он быстро вызывает повреждение тканей гельминтов и паралитическое мышечное сокращение паразитов, а затем их смерть и выход из организма, возможно, это связано с увеличением проницаемости клеточной мембраны к ионам кальция, и со вторичным воздействием организма хозяина на паразита [287].

Празиквантел – малотоксичный препарат (терапевтический индекс 40), не обладает эмбриотропными и мутагенными свойствами, не влияет на постнатальное развитие [96; 104; 227; 305; 306; 157]. Его токсичность для лабораторных животных при пероральном введении (LD_{50}) колеблется от 1000 до 7000 мг/кг. Плотоядные животные способны переносить дозы, превышающие терапевтическую в 40 раз [104]. При пероральном применении празиквантела LD_{50} для мышей 2454 мг / кг, крыс 2840 мг / кг, а кроликов около 1050 мг / кг [307; 396]. В исследованиях токсичности препарата при длительном его применении в течение 13 недель не было отмечено никаких отклонений от нормы у крыс и гончих собак, получавших празиквантел в течение четырех недель по 180 мг / кг / сутки. Подострая токсичность при оральном применении препарата исследовалась в течение 4 недель на крысах в дозе 33 мг / кг массы тела/ сутки и собаках 60 мг / кг/ сутки. Отклонений от нормы в состоянии подопытных животных не наблюдали [182; 295]. Ежедневное пероральное введение препарата в дозе 20, 60 и 180 мг на 1 кг массы тела в течение 4 недель не сопровождается появлением у животных признаков интоксикации, за исключением повышения в крови уровня щелочной фосфатазы у некоторых собак, получавших более высокую дозу празиквантела. Даже при ежедневном приеме препарата в дозе 180 мг на 1 кг массы тела в течение 12 недель у животных не появлялись клинические отклонения от нормы. При использовании в рекомендуемых дозах препарат хорошо переносится, не вызывая нежелательных побочных реакций [104; 224]. Исследования репродуктивной токсичности показали, что препарат не понижает репродуктивную способность, не обладает эмбриотоксичностью и

тератогенностью. Применение празиквантела в дозе 300 мг/кг в день беременным собакам не показало пренатальной и постнатальной токсичности, при этом препарат применяли на 15–21-е сутки беременности. Препарат не обладает мутагенной активностью [104; 285]. Празиквантел не показал вредных эффектов в экспериментах по изучению сегмента I (фертильность) и сегмента II (эмбриональная и материнская токсичность и тератогенность) при дозах до 300 мг/кг/день. Ограниченный тест на сегмент III (пред / постнатальная токсичность) также не показал вредного воздействия празиквантела в дозе 300 мг / кг / на 15–21-й дни беременности. Празиквантел одобрен для применения кошкам и собакам, включая беременных животных и овцам, включая суягных [295; 394]. Празиквантел быстро всасывается в пищеварительном тракте. Максимальная концентрация в плазме крови достигается через 1 час после перорального введения. Период полувыведения из плазмы крови у овец составляет 4,2 часа. Около 70–80 % препарата, находящегося в крови, связано с сывороточными белками. В виде метаболитов он также накапливается в печени и почках, правда в малых количествах [104; 136]. Основные метаболиты празиквантела у животных и человека представляют собой моно- и дигидроксипроизводные. Примерно 38 и 66% метаболитов у крыс и собак в течение 8 ч выводится с мочой, и около 15% с желчью. Биотрансформируется празиквантел в печени с образованием гидроксильных производных, а также конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. Препарат выделяется в основном с мочой – до 55 %. Через 24 часа после введения концентрация препарата становится ниже предела обнаружения, 90 % празиквантела экскретируется в течение 72–96 часов [407].

Празиквантел является лучшим цестодоцидным препаратом [282; 398]. При парентеральном введении празиквантел создает в кишечнике высокую концентрацию, выделяясь в его просвет через слизистую оболочку. Наиболее распространенной лекарственной формой празиквантела являются таблетки под названием азинокс, азинокс плюс, диронет, дронцит. Дронцит (5,68% празиквантела) в форме инъекции проявил аналогичную с другими

лекарственными формами празиквантела эффективность [157; 216; 220; 221; 237; 310; 311; 337; 396; 408; 415; 430].

Дронцит во многих экспериментах проявлял высокую эффективность при цестодозах собак [157; 207; 431; 432]. Однократное назначение дронцита собакам в дозе 5 и 10 мг/кг способствовало полной элиминации альвеококков. Дронцит в дозе 2,5 мг/кг при однократной даче показал при эхинококкозе эффективность 75,0–95,5 %, а в дозе 5 мг/кг – 91,6–100 % [60; 86; 104; 386]. Была доказана эффективность дронцита (100 %) в дозе 5 мг/кг против эхинококков в возрасте 5, 18 и 31 суток, а также против неполовозрелых эхинококков и мультицепсов при смешанной инвазии на 35-й день после заражения собак [118; 149; 227; 404]. Таблетки дронцита в дозе 5 и 10 мг/кг обладали 100 %-ной эффективностью против смешанной инвазии эхинококками, мультицепсами и тениями гидатигенными в возрасте 15, 30 и 60 суток [104; 188]. Таким образом, высокая эффективность, отсутствие токсичности, сравнительно малые терапевтические дозы и возможность перорального и парентерального применения позволили считать празиквантел самым предпочтительным средством для борьбы с цестодозами, в том числе и эхинококкозом [47; 104; 156; 279; 312; 337; 338; 413; 430]. К этому следует добавить, что празиквантел обладает выраженным трематодоцидным действием и широко зарекомендовал себя в медицинской практике при лечении шистосомоза и описторхоза [46; 215; 228; 265; 276; 303; 314; 427]. Особый интерес представляют материалы об эффективности празиквантела при ларвальных цестодозах человека, лабораторных, домашних и с.-х. животных. Так, применение препарата в дозах 50–70 мг/кг массы тела перорально в течение 15 суток оказалось эффективным при цистицеркозе головного мозга человека [104; 244; 315; 385]. Празиквантел в дозе 25 мг/кг вызывает стойкое излечение у 90–97,7% больных гименолепидозом [392]. При пероральном, подкожном и внутримышечном введении празиквантел в дозах 2,5–5,0 мг/кг вызывает гибель личинок многих видов тений и гименолеписов [30; 31; 39; 104; 178; 233; 390; 238; 309; 313; 415; 424]. Лечебные кормовые гранулы с празиквантелом в дозах 5 и 10 мг/кг по ДВ показали, 100%-ную эффективность

против 30-дневных эхинококков, мультицепсов и теней гидатигенных [37]. Эффективность празиквантела в дозе 2,5 и 5,0 мг/кг против *M. expansa* и *Th. giardi* составила 100 % при хорошей переносимости его овцами [104].

Многими исследователями изучалась эффективность различных комбинаций празиквантела с другими антигельминтиками. Против неполовозрелых эхинококков и альвеококков с успехом была испытана паста празиквантела с фебентелом и установлена ее 100 %-ная эффективность [223]. В Новой Зеландии изучалась комбинация празиквантела в дозе 3,75 мг/кг с левамизолом (7,5 мг/кг) в форме суспензии против *M. expansa*. Установлено полное удаление мониезий во всех опытах и сколексов в двух из четырех опытов, по одному сколексу находили в каждом из двух опытов. В то время как оксиклозанид оказывал действие на стробилы цестод и только на 28 % снижал количество сколексов. Комбинации албендазола с левамизолом и оксиклозанида с левамизолом были не эффективными против *M. expansa* [403]. Для дегельминтизации животных при мониезиозе изучались и комбинации празиквантела и бензимидазолов [399]. Против *M. expansa* празиквантел в дозе 2,5; 3,75 и 5,0 мг/кг показал соответственно 75; 100 и 100 %-ную эффективность [399].

При внутривенном введении стерильного раствора празиквантела в дозе 1,25 и 3,75 мг/кг получена 100 %-ная эффективность при мониезиозе овец. Выделение фрагментов мониезий происходило через 18–48 ч после введения препарата. Препарат Азинокс плюс, содержащий празиквантел и пирантела помоат, показал 100 %-ный эффект при дрепанидотениозе гусей однократно в дозе 1 таблетка на 10 кг массы птицы [104]. Достаточно большая группа цестодозов относится к зооантропонозам, соответственно их профилактика социально значима. Как известно, профилактика болезни наиболее эффективна в случаях четкого соблюдения сроков дегельминтизации животных и применения пролонгированных форм лекарственных препаратов. С целью создания полимерных комплексов с празиквантелом для увеличения продолжительности его антигельминтного действия были проведены исследования учеными Yue Wen-Ju (1987), С. Li (2010) [260; 442].

В частности, на основе поликапролактона (PCL) и его смеси с полиэтиленгликолем (PEG-PCL) была создана пролонгированная форма празиквантела для перорального применения [260; 262; 263]. Такие имплантаты, содержащие празиквантел, получали экструдированием расплава смеси празиквантела и полимеров (рисунок 4) [260].

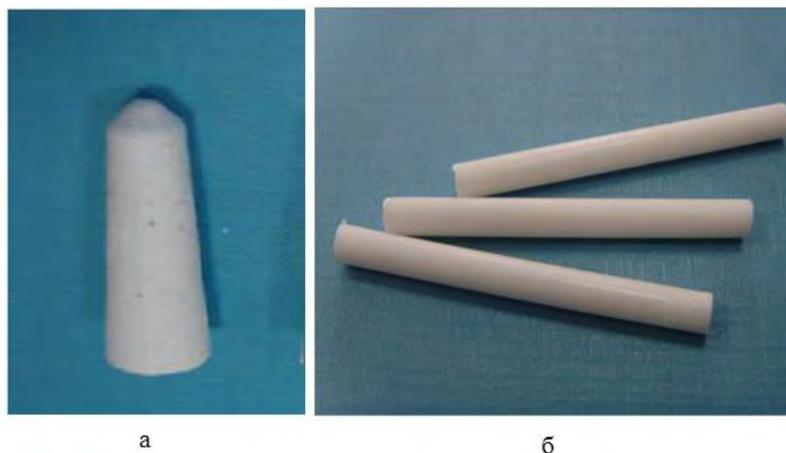


Рисунок 4 - Имплантат (250x50 мм) на основе PCL (а), имплантат (20x3 мм) на основе смеси PCL и PEG (б)

Исследования кинетики высвобождения празиквантела из полученных имплантатов показали, что высвобождение лекарственного вещества происходит в две стадии: быструю и медленную. Впервые 2 дня наблюдается высвобождение с высокой скоростью от 5 до 35 мг/день, а затем скорость значительно падает, что делает маловероятным достижение терапевтической концентрации празиквантела при использовании имплантатов на основе PCL [263]. На основании этих и аналогичных исследований было показано, что минимальная эффективная концентрация празиквантела равна 100 нг/мл [332; 406]. Терапевтическое действие имплантатов с включенным в их состав полиэтиленгликоля было показано в эксперименте на мышах, инвазированных шистосомозом (*Schistosoma japonicum*), с различным временем введения имплантата от 0 до 6 недель с момента заражения. Эксперимент показал эффективность имплантата на различных стадиях развития паразитов [264]. Приведенные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности создания пролонгированных препаратов празиквантела в форме имплантатов, однако, достаточно высокая

терапевтическая концентрация (более 100 нг/мл) и относительно высокая скорость полувыведения (около 1,5 часов) могут затруднить создание препарата с продолжительностью действия более 1-2 месяцев и потребуют весьма высокого содержания активного вещества в препарате. В настоящее время отсутствуют пролонгированные лекарственные формы для инъекционного введения, содержащие два активных компонента – ивермектин и празиквантел. В ряде патентных источников [278; 402] в описательной части упоминается возможность реализации изобретения в форме комбинированного препарата.

Доказано, что ивермектин и празиквантел являются высокоэффективными и низкотоксичными антигельминтиками. Создание на их основе новых комплексных препаратов представляет большой научный и практический интерес [104]. Ивермектин и празиквантел являются хорошо изученными фармакологическими субстанциями, на основе которых создано большое количество ветеринарных препаратов. Но, к сожалению, эти субстанции не производятся в России. Единственный цестодоцид, который производится в нашей стране, это фенасал (никлозамид). Поэтому он попал в зону нашего интереса и послужил фармакологической субстанцией, вошедшей в состав разработанного лекарственного препарата.

1.3 Фармако-токсикологические свойства никлозамида

Никлозамид (синонимы: фенасал манзонил, вермитин, дивермин, циклозамид, йомезан) представляет собой N-(2¹хлор-4¹-нитрофенил)-5-хлорсалициламид. Никлозамид не всасывается в желудочно-кишечном тракте и проявляет антигельминтное действие, вступая непосредственно в контакт с гельминтом [308]. Цестоды погибают при контакте с фенасалом и затем лизируются, это не позволяет определить вид гельминта в выделенных фекалиях. Никлозамид нарушает окислительное фосфорилирование, ингибирует синтез АТФ в митохондриях цестод, нарушает митохондриальное фосфорилирование их мышц. Лизирование же цестод обусловлено воздействием протеолитических ферментов пищеварительного тракта животного [249]. Никлозамид разрушает первый и второй слои кутикулы цестод, а третий слой кутикулы разрушается

только при совместном воздействии фенасала и протеолитических ферментов кишечника животного. После его введения в кишечнике крыс обнаруживали только полупереварившиеся фрагменты стробил [35; 163]. Основным метаболитом никлозамида является 4-аминосоединение, которое не обладает биологической активностью [229].

Фенасал – малотоксичный препарат, он не обладает тератогенным действием [78]. Хорошо переносится кроликами (в дозе 5 г/кг). Более чувствительны к препарату собаки и кошки, но он хорошо ими переносится даже в дозе 1 г/кг [323]. При пероральном введении фенасала мышам доказаны следующие параметры его острой токсичности – ЛД₀ – 10,5 г/кг; ЛД₁₆ – 12,5 г/кг; ЛД₅₀ – 13,5 г/кг; ЛД₈₄ – 14,5 г/кг; ЛД₁₀₀ – 17,5 г/кг [61; 94.] Для крыс максимально переносимая доза фенасала в твердых лекарственных формах находилась в пределах 6,3–6,5 г/кг. Из-за низкой токсичности препарата не удалось установить ЛД₅₀ для крыс при таком введении им препарата [110]. Баяндина Д.Г. (1962) отмечает, что мыши и крысы переносят дозу 10 г/кг йомезана при его введении в желудок [34]. Установлено, что никлозамид не влияет на онтогенез и сперматогенез крыс. Йомезан при пероральном введении лабораторным животным не обладает кумулятивным действием. Его переносимость была удовлетворительной, биохимические показатели крови и мочи находились в пределах нормы при его применении кроликам (в дозе 0,1 г/кг в течение 11 суток), собакам (0,1 г/кг в течение 84 и 96 суток), кошкам (0,1 г/кг в течение 12 суток) [173; 323]. Ягнтятам 3-4-месячного возраста и взрослым овцам перорально, однократно вводили фенасал в дозах 1,25; 1,5; 5,0; 7,5 и 10 г/кг, при этом через 24 часа отмечали незначительное снижение активности холинэстеразы, которая восстановилась до исходной величины на 15-е сутки, на 5-е сутки после введения препарата также отмечали незначительное снижение общего белка, в то время как гемоглобин, эритроциты и лейкоциты у подопытных животных были в пределах физиологической нормы [95; 146]. Даже увеличенная в 10 раз терапевтическая доза фенасала овцами переносилась удовлетворительно, а 20–40-кратные дозы вызывали лишь сильное послабление, угнетение, изменения показателей крови и

мочи [64; 65]. Фенасал, введенный овцам в дозе 200 мг/кг, не оказывал токсического влияния на организм овец и при этом в два раза усиливал перистальтику кишечника [4].

Впервые антигельминтное действие йомезана было установлено на крысах при гименолепидозе, в дозе 0,05 г/кг йомезан проявил 100%-ную эффективность [308; 372; 373]. Линтекс (аналог йомезана) при мониезиозе овец в дозе 0,05 г/кг показал 84,9 – 99,9%-ную эффективность [325]. На ягнятах, козах и телятах, спонтанно инвазированных мониезиями, авителлинами и тилезиями, в 1961 году препарат испытали и получили положительный результат в Африке [405]. При цестодозах овец, телят и коз установили высокую эффективность йомезана в Южной Африке [382]. При его испытании на овцах в Северном Гессене получили высокую эффективность в слабо зараженных отарах при дозе 0,05 г/кг, а в сильно зараженных отарах при дозе 0,075 г/кг [121; 443]. Высокая эффективность фенасала также была зафиксирована в Австрии – при мониезиозе овец [412], на Цейлоне – при мониезиозе и авителлинозе коз [376], в Индии – при мониезиозе телят и мониезиозе овец и коз [333]. Эффективность фенасала достаточно активно изучалась в Советском Союзе и в России. Фенасал проявил высокую эффективность как в отношении преимагинальных, так и имагинальных форм мониезий мелкого и крупного рогатого скота [51; 126; 190]. В дозах 0,05; 0,075 г/кг эффективность составила 86,6%, а в дозе 0,1 г/кг при мониезиозе, авителлинозе и тизаниезиозе овец была получена 100 %-ная эффективность [72; 73; 128]. Была доказана высокая эффективность при мониезиозе групповой дегельминтизации овец фенасалом [125; 206]. После введения фенасала в терапевтической дозе овцам употреблять в пищу их мясо рекомендуется не ранее чем через 15 дней [3]. Фенасал также высокоэффективен при цестодозах плотоядных [130; 185].

В ВИГИСе проводилась большая работа по созданию новых антигельминтных препаратов с фенасалом. Например, паста фенапэг при мониезиозе в дозе 35 мг/кг проявила 100%-ную эффективность [134]. Также на основе фенасала были разработаны другие его лекарственные формы. В

частности, феналидон в дозе в два раза ниже общепринятой при мониезиозе овец показал 100%-ную эффективность [93], фенадек при цестодозах овец также показал высокую эффективность [3; 18; 19; 126]. Высокую эффективность против стронгилятозов крупного рогатого скота и мониезиоза овец показал вигисокс (комплекс фенасала и фенбендазола) [24]. Супрамолекулярный комплекс фенасала с арабиногалактаном показал в низких дозах высокую эффективность при мониезиозе крупного рогатого скота [131]. По мнению профессора Архипова И.А. (2002), фенасал – цестодоцид высокоэффективный против мониезий, авителлин и тизаниезий жвачных [21].

Высокая эффективность и безопасность применения фенасала при цестодозах сельскохозяйственных животных многократно доказана [64; 65; 76; 135]. Поэтому исследователи часто брали его для создания антигельминтных препаратов комплексного действия на разные классы гельминтов.

Создание новых лекарственных препаратов комбинированного действия имеет важное прикладное значение, направленное на решение основных проблем фармакологии и ветеринарной медицины. В частности, комбинированные антигельминтные препараты на основе активных веществ разного спектра действия позволяют значительно упростить дегельминтизацию и повысить эффективность обработки животных. Создание комбинированных препаратов пролонгированного действия позволило бы снизить периодичность санации животных и уменьшить затраты на их обработку, что делает разработку таких препаратов весьма актуальной [22; 23; 119].

Хорошо себя зарекомендовавшим подходом для создания препаратов пролонгированного действия является введение в их состав биосовместимых полимеров с образованием полимерной матрицы, содержащей активные вещества. Высвобождение лекарственных веществ из полимерных матриц осуществляется за счет диффузии и/или постепенной деградации полимерной матрицы под действием гидролитических ферментов, что обеспечивает длительное поддержание эффективной концентрации лекарственного вещества в организме

[119]. Возможность создания антигельминтных препаратов пролонгированного действия активно изучается в нашей стране и за рубежом [22; 253; 262; 263; 264].

Результатом усилий ученых компании Merial было создание инъекционного препарата пролонгированного действия LONGRANGE™ (Merial) на основе эприномектина, обладающего эффективностью в течение не менее 150 суток [402]. Комбинированных антигельминтных препаратов пролонгированного действия в настоящее время не создано, также до сих пор не создано и препарата пролонгированного действия на основе ивермектина.

Создание новых лекарственных препаратов комбинированного действия имеет важное прикладное значение, направленное на решение основных проблем ветеринарной паразитологии. В частности, комбинированные антигельминтные препараты на основе действующих веществ разного спектра действия позволяют значительно упростить обработку животных и повысить ее эффективность. Этот прием в создании новых лекарственных препаратов используется достаточно давно. Относительно недавно появилось новое направление в ветеринарной фармацевтике – создание систем адресной доставки действующих веществ антигельминтного препарата. При этом одним из основных моментов является перевод не растворимых в воде действующих веществ в их растворимые формы. Достигается это эффективнее всего с помощью механохимической технологии. Механохимия твердых веществ – это исследование их превращений под действием высоких давлений и деформаций. Механохимический процесс не сводится только к измельчению материалов. Превращения твердых веществ в механохимии весьма многообразны. Измельчение является только первой стадией процесса. Затем измельченные фрагменты нескольких веществ образуют агрегаты, а при продолжении механической активации происходит смещение твердых веществ на молекулярном уровне. Причем в зависимости от природы этих веществ могут происходить химические реакции, в которых молекулы могут вступать в разного рода взаимодействия. Далее при тепловом воздействии или гидратации происходит химическая реакция с образованием целевых продуктов [98; 99; 100; 195].

1.4 Механохимическая технология как инструмент создания инновационных антигельминтных лекарственных препаратов

Управление солубилизационными характеристиками лекарственных веществ является одним из основных направлений в разработках современных систем доставки лекарств – Drug Delivery Systems [284]. В этом направлении наиболее востребованы методы повышения растворимости и скорости растворения активных фармацевтических субстанций. Растворимость играет существенную роль в действии лекарств, прежде всего предназначенных для перорального приема, так как максимальная скорость пассивного транспорта препарата через биологические мембраны – основной путь для поглощения лекарственных веществ – зависит от проницаемости мембраны и концентрации раствора/растворимости. Учитывая, что примерно 40 % выпускающихся лекарственных субстанций классифицируются как практически нерастворимые, а ~85 % самых продаваемых препаратов в США и Европе применяются перорально, актуальность исследований в данном направлении становится очевидной [101]. В настоящее время FDA принята система биофармацевтической классификации лекарств (2009, 2016) для прогнозирования биодоступности при пероральном приеме. Эта система основана на использовании соотношений параметров растворимости и проницаемости стенок желудочно-кишечного тракта. Растворимость классифицирована на основании стандартов Фармакопеи США (USP) [267]. Так, лекарственное вещество считается хорошо растворимым, когда максимальная разрешенная его доза растворяется в объеме < 250 мл воды в диапазоне рН от 1,0 до 7,5. Классификация биодоступности из пищеварительного тракта основана на сравнении с внутривенной инъекцией. Считается, что лекарственное вещество обладает высокой биодоступностью, если ~ > 90 процентов его дозы проникает в кровоток при пероральном введении.

Для повышения растворимости лекарств используют различные физико-химические подходы: уменьшение размеров частиц, модификация кристаллической структуры, получение твердых дисперсий лекарственных веществ с наполнителями и т.д. [266; 343; 433; 435; 436]. Однако наиболее

значимые результаты достигаются за счет перевода действующих веществ в их водорастворимые соли, а также за счет включения его молекул в супрамолекулярные водорастворимые образования (межмолекулярные комплексы, мицеллы) со специально подобранными «вспомогательными» веществами [26; 198]. Одной из наук, позволяющей этого добиться, является механохимия, которая является разделом химии твердого тела. Механохимия изучает физико-химические превращения твердых веществ и их смесей в условиях интенсивных ударно-истирающих воздействий [42]. Суть технологии механохимии заключается в получении твердых дисперсий лекарственных веществ со вспомогательными веществами различной химической природы [197; 199; 200]. Механохимическая технология позволяет наиболее эффективно получать твердые композиции лекарственных веществ, образующие при растворении супрамолекулярные комплексы, которые можно рассматривать как системы доставки типа «гость – хозяин» [201]. Механохимическая технология дает возможность сочетать вещества независимо от их растворимости и получать в конечном итоге прочные системы «гость – хозяин» по сравнению с известными традиционными жидкофазными технологиями синтеза, а также избегать нежелательных побочных химических реакций, зачастую проявляющихся при использовании традиционных жидкофазных технологий [1].

Увеличение растворимости лекарственных веществ и повышение эффективности фармакологического действия в зависимости от их физико-химических свойств достигается:

- образованием твердых дисперсий, в которых лекарственное вещество диспергировано в молекулярной форме или находится в аморфном состоянии;
- образованием водорастворимых солей;
- образованием водорастворимых комплексов включения с полисахаридами по типу «гость – хозяин», а также мицелл.

Получение мелкодисперсных порошков лекарственных веществ делает возможным приготовление стабильных суспензий и аэрозолей, способствует равномерному распределению действующего вещества в его лекарственной

форме [103]. При этом после измельчения часто фиксируется изменение скорости растворения и растворимость действующих веществ. Японскими учеными по результатам биологических исследований образцов фенитиона после его измельчения в шаровой мельнице было отмечено существенное изменение его физико-химических свойств [437]. В дальнейшем исследования растворимости образцов субстанций, подвергавшихся механохимической обработке с полимерами, продемонстрировали во всех случаях увеличение скорости их растворения по сравнению с исходными смесями, и тем более с просто измельченными исходными субстанциями. Сотрудниками Института химии твердого тела и механохимии, Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова обоснована перспективность применения механохимической технологии для получения усовершенствованных систем доставки лекарств (DDS) [100; 101].

При разработке инновационных лекарственных средств на основе Drug Delivery используются многообразные подходы. В настоящее время самым популярным подходом является «адресная» доставка лекарственного средства в область патологических очагов или к чувствительным рецепторам организма. Для этого молекулы фармакологической субстанции прикрепляются к частицам-носителям, которые и осуществляют такую целевую доставку. Такими частицами носителями могут быть макромолекулы водорастворимых полимеров, супрамолекулярные системы типа мицелл или липосом, образованные гидрофильно-липофильными веществами, а также наноразмерные частицы неорганических оксидов. Огромную роль в адресной доставке молекул фармакологических субстанций в живом организме имеет повышение их растворимости и скорости растворения. Растворимость играет существенную роль в действии лекарств, прежде всего предназначенных для перорального приема, так как максимальная скорость пассивного транспорта препарата через биологические мембраны организма зависит от проницаемости мембраны и концентрации раствора [235; 436; 400]. Следует отметить, что образование водорастворимых супрамолекулярных комплексов, как правило, также приводит к

повышению водорастворимости лекарственных веществ [201]. Известно, что включение альбендазола в комплексы, полученные путем механохимической модификации с арабиногалактаном позволяет многократно увеличить его водорастворимость [293; 294].

Доказано, что использование ряда субстанций в виде их механохимических синтезированных комплексов с полисахаридами позволяет повысить их фармакологическую эффективность и уменьшить побочные эффекты [52; 53; 103, 437]. Это позволяет получить терапевтический эффект при многократно сниженных относительно официально рекомендованных дозах, следовательно, позволяет уменьшить токсическое воздействие препаратов на живой организм [55–57; 79]. С помощью механохимической модификации антигельминтных препаратов путем их совместной механической активации с полисахаридами и циклодекстрином показана возможность повышения их водорастворимости и дисперсности водных суспензий. Получены результаты по повышению их антигельминтной активности [25; 27-29; 80; 202]. Так, в работе Архипова И.А. доказана эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки при нематодозах овец в дозе 2 мг/кг по фенбендазолу, что в 5 раз ниже терапевтической дозы других препаратов, содержащих фенбендазол. По результатам эксперимента супрамолекулярный комплекс показал 89,2%-ную эффективность против нематодирозов, при этом базовая субстанция фенбендазола в дозе 2 мг/кг показала эффективность 22,7% [28]. Высокая эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец доказана Варламовой А.И. [54]. В других испытаниях авторы получили 99,1%-ную эффективность при нематодирозе и 98,8%-ную эффективность при других стронгилятозах овец в дозе 2 мг/кг и 3 мг/кг супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном. Известна также работа Халикова М.С. (2020) по увеличению растворимости в 30 раз субстанции триклабендазола с помощью механохимической модификации со смесью полимеров поливинилпирролидона, арабиногалактана и диоктилсульфосукцината натрия [202]. Супрамолекулярный комплекс фенасала с арабиногалактаном при

аноцефалидозах лошадей показал 100%-ную эффективность в дозе в 5 раз меньшей, чем общепринятая доза по действующему веществу – фенасалу [132]. Супрамолекулярный комплекс альбендазола проявил высокую эффективность при мониезиозе овец [25]. В производственных условиях доказана высокая эффективность супрамолекулярных комплексов альбендазола против желудочно-кишечных стронгилятозов овец [53]. Мусаев получил 100%-ную эффективность супрамолекулярного комплекса триклабендазола с арабиногалактаном в дозе 2,0 мг/кг по действующему веществу против половозрелых фасциол и 1,0 мг/кг против неполовозрелых фасциол (по отношению к терапевтической, доза снижена в 5 раз) [2; 143; 144; 202]. В другой работе по изучению физико-химических и антигельминтных свойств супрамолекулярной композиции триклабендазола показано увеличение растворимости в воде, биологической биодоступности и спектра антигельминтной активности при 3–5-кратно сниженных дозах при фасциолезе овец. [142]. Высокую эффективность супрамолекулярного комплекса с никлозамидом против цестод доказал Архипов И.А. [230]. В последние годы появилось много научных работ подобного плана, выполненных под руководством профессора Архипова И.А. Большинство из них посвящены исследованию супрамолекулярной композиции одного антигельминтика и носителя [50; 56; 58; 59; 143].

В доступной литературе мы не нашли упоминания о супрамолекулярных комплексах с комбинацией никлозамида и ивермектина. Эта композиция должна обладать высокой антигельминтной активностью. При использовании обыкновенных фармацевтических технологий (например, смешивание) ее недостатком являются очень высокая доза никлозамида и плохая растворимость этих субстанций в воде. Эти недостатки, на наш взгляд, можно устранить, если создать такой комплекс с помощью механохимии, используя в качестве носителя в системе один из широко применяемых в фармацевтической практике полимер.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диссертационная работа выполнена в период с 2013 по 2021 год. Объектом исследования явились лекарственные препараты иверлонг 1, иверлонг 2, никломек, иверсан и монизен форте, а также препараты сравнения альвет 10%, ивермек. Разработку препаратов иверлонг 1 и иверлонг 2 проводили совместно со специалистами кафедры Биотехнологии и промышленной фармации Российского технологического университета – МИРЭА Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, никломек – в лаборатории активных фторорганических соединений ФГБУН ИНЭОС РАН, иверсан, монизен форте – на базе Научно-внедренческого центра «Агроветзащита». Общетокические свойства препаратов изучали в виварии лаборатории фармакологии и токсикологии ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Изучение фармакокинетики и определение остатков в органах и тканях проводили на базе опытного хозяйства ВНИИОК Ставропольского края и аналитической лаборатории ООО «АВЗ С-П», изучение эффективности действия препаратов проводили в лаборатории экспериментальной терапии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, в овцеводческих хозяйствах Ставропольского края, Курской, Рязанской, Калининградской, Самарской и Саратовской областей.

Исследования на животных проводили в соответствии с правилами лабораторной практики [153; 300]. В исследования были включены 382 особи белых мышей, 105 белых крыс, 45 кроликов, 1029 овец, 11 коз.

Изучение общетокического действия препаратов (острая токсичность, кумуляция, субхроническая токсичность, местно-раздражающее действие) и специфической токсичности (иммунотоксичность) проводили общепринятыми методами согласно руководствам Смирнов А.М., Дорожкин В.И. (2008), Хабриев Р.У. (2012), Миронов А.Н. (2012) [181; 193; 140], а также Буреш Я. (1991) [49], ГОСТ ISO 10993-10-2011 [85], ГОСТ 12.1.007-76 [83], [139], Уланова И.П. (1970) [192], Красовский Н.А. и др. (1978) [127]. Статистическую обработку токсикологических исследований проводили согласно рекомендациям

Прозоровского В.Б. (1956) [154; 158]. Изучение фармакокинетических параметров празиквантела и ивермектина в сыворотке крови овец и определение остатков препаратов в органах и тканях, молоке проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и флуориметрическим детектированием соответственно. В работе использовали рекомендации Alvinere M. et al. (1987), S. H. Chiu et. al. (1985), C. Hartmann J. et al. (1998) [218; 267; 321], Shrivastava A. (2011) [396; 393], а также гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды [77; 102]. Изучение противопаразитарного действия препаратов оценивали по результатам копроовоскопического, энтомологического исследований образцов биоматериала (фекалии и шерсть) в соответствии с рекомендациями Водянова А.А. (2009), ГОСТ 54627-2011 [66], [84]. В экспериментах были использованы общепринятые методы исследования фекалий: Фюллеборна, Щербовича, последовательных промываний и метод Бермана - Орлова в модификации В.И. Шильникова. Обнаруженных гельминтов, личинок оводов и клещей идентифицировали по определителям К.И. Скрябина, Н.П. Шихобалова, Р.С. Шульц и др. (1952); В.И. Ивашкин, С.А. Мухамадиев (1981) [112; 180].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартным процедурам, с помощью приложения Microsoft Excel 2010, с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий.

2.1 Фармако-токсикологические свойства и эффективность лекарственного препарата иверсан

Иверсан в качестве действующего вещества в 1 мл содержит ивермектин – 40 мг и вспомогательные вещества: витамин Е, полиэтиленгликоль сукцинат и полиэтиленгликоль-400 (производитель ООО «АВЗ С-П», Россия). По внешнему виду препарат представляет собой прозрачную маслянистую жидкость зеленовато-желтого цвета.

Изучение переносимости лекарственного препарата иверсан овцами проводили в ЛПХ «Абдулаев» Петровского района Саратовской области на ягнятах 3-4-месячного возраста массой тела от 25 до 30 кг. В опыт были

включены 18 клинически здоровых ягненка. Было сформировано две опытные и одна контрольная группы (по 6 животных в каждой группе). Овцам опытных групп задавали внутрь иверсан перорально индивидуально с небольшим количеством воды по беззубому краю двукратно с интервалом 14 суток в следующих дозах: группе № 1 препарат вводился в терапевтической дозе (0,1 мл на 20 кг), а группе № 2 в трехкратной терапевтической дозе (0,3 мл на 20 кг массы животного). Животные контрольной группы получали воду в том же объеме и с такой же кратностью. У животных всех групп отбирали кровь для исследования трехкратно – первый раз до введения, затем через 14 суток и 28 суток. В эти же дни проводили контрольное взвешивание животных. В ходе исследования в течение 28 дней вели наблюдение за приростом массы животных. Определяли количество лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобин, гематокрит. Функциональное состояние печени характеризовали по показателям активности аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы, белка. Изучение функционального состояния почек проводили, определяя количество мочевины и креатинина.

Фармакокинетику и динамику выделения ивермектина из органов и тканей мелкого рогатого скота после применения препарата иверсан изучили на 19 овцах романовской породы в возрасте 8-9 месяцев, массой 35–45 кг, а также 6 дойных коз русской белой породы в возрасте 2–2,5 года массой 45–55 кг. Условия кормления и содержания опытных и контрольных групп были одинаковы. Для изучения фармакокинетики ивермектина была сформирована опытная группа из 6 овец. Всем овцам опытной группы однократно выпоили иверсан в дозе 0,1 мл на 20 кг веса тела. Пробы крови объемом до 5 мл отбирали у всех овец опытной группы до введения препарата (контрольные пробы) и через 2, 4, 6, 12, 24 ч, далее 2, 4, 7, 10, 15 суток после дачи препарата. Из отобранных проб крови после формирования сгустка отделяли сыворотку, которую использовали для количественного определения ивермектина. Сыворотку хранили до исследования при температуре не выше минус 18 °С. Перед началом эксперимента овец и коз не поили.

Для изучения динамики выведения остаточных количеств ивермектина с молоком была сформирована группа из 6 коз. Животным однократно выпоили иверсан в терапевтической дозе двукратно с интервалом 14 суток. Пробы молока для анализа отбирали до дачи препарата, а также через 12, 24 часа, 2, 4, 7, 10 суток после последнего введения иверсана.

Для определения динамики выведения ивермектина из органов и тканей была сформирована группа из 13 овец. Одно животное было использовано как контрольное, от него были отобраны пробы тканей проб до введения препарата. Далее 12 овцам выпоили иверсан. Убой 6 овец был проведен спустя 14 суток после введения препарата, убой ещё 6 овец – спустя 28 суток после приема препарата. От животных были отобраны пробы органов и тканей (мышечная ткань, печень, сердце, легкие, селезенка, сальниковый жир) для последующего анализа.

Пробы органов и тканей овец, молока коз маркировали и замораживали. Пробы хранили до исследования при температуре не выше минус 18 °С.

Исследование проводили на HPLC системе Helwett-Packard (насосный блок HP 1090, флуоресцентный детектор 1040A, инжектор Rheodyne 9740-001, хроматографической обращеннофазовой колонке Luna C18 (2) (100 Å, 5 µm), 150 x 3,0 мм (Phenomenex) и вспомогательном оборудовании. Для проведения анализа содержания ивермектина провели следующие подготовительные работы. Предварительно готовили мобильную фазу: в мерной колбе (1000 мл) смешивали ацетонитрил, метанол и дистиллированную воду в соотношении 400 мл / 590 мл / 10 мл. Мобильную фазу фильтровали с одновременным дегазированием непосредственно перед использованием. Срок хранения мобильной фазы в герметично закрытой емкости при температуре +5°C – +7°C – не более 14 суток. Затем готовили калибровочные растворы для исследования кинетики аналита.

Стоковый раствор (раствор стандартного образца ивермектина для построения калибровочного графика) готовили следующим методом: на аналитических весах взвешивали (с точностью до четвертого десятичного знака) 0,1 г ивермектина стандарта, навеску переносили в мерную колбу объемом 100

мл, добавляли 50 мл мобильной фазы, перемешивали до полного растворения, после чего мобильной фазой объем раствора доводили до метки. Полученный в результате раствор имел концентрацию 1000 мкг ивермектина/мл.

Затем из стокового раствора методом разведений мобильной фазой готовили калибровочные растворы стандартных образцов с концентрациями ивермектина 200, 100, 50 и 10 нг/мл.

Для приготовления «blank»-образцов сыворотки крови с внесенными растворами стандартного образца ивермектина в 4 пробирки вносили по 1 мл калибровочных растворов стандартного образца ивермектина с концентрациями 200, 100, 50 и 10 нг/мл и упаривали досуха. В пробирки внесли по 1 мл образцов сыворотки крови объемом 1 мл, полученные от животных до применения препарата, сухие остатки растворяли сывороткой при ультразвуковой обработке. Дальнейшую пробоподготовку проводили по описанной методике.

Для исследования динамики выведения остаточных количеств ивермектина с молоком также готовили калибровочные растворы. Стоковый раствор готовили по описанной выше методике. Затем из стокового раствора готовили калибровочные растворы стандартных образцов с концентрациями ивермектина 200, 100, 50 и 10 нг/мл.

Для приготовления «blank»-образцов молока (с внесенными растворами стандартного образца ивермектина для построения калибровочного графика), в 4 пробирки вносили по 1 мл калибровочных растворов стандартного образца ивермектина с концентрациями 200, 100, 50 и 10 нг/мл и упаривали досуха. В пробирки внесли по 1 мл образцов молока объемом 1 мл, полученные от животных до применения препарата, сухие остатки растворяли молоком при ультразвуковой обработке. Дальнейшую пробоподготовку проводили по описанной методике.

Для исследования динамики выведения остаточных количеств аналита из органов и тканей готовили калибровочные растворы для построения калибровочного графика. Также сначала готовили стоковый раствор ивермектина (по описанной методике). Затем готовили калибровочные растворы стандартных

образцов с концентрациями ивермектина 200, 100, 50 и 10 нг/мл. Для построения калибровочного графика готовили «blank»-образцы органов и тканей с внесенными растворами стандартного образца ивермектина по следующему методу – в 4 полипропиленовых пробирки перенесли по 1 мл растворов стандартного образца ивермектина с концентрациями 200, 100, 50 и 10 нг/мл, растворы упарили досуха, после чего в пробирки вносили по 1 г предварительно гомогенизированных образцов органов и тканей, полученных от животных контрольных групп. К образцам добавляли по 2 мл физиологического раствора, после чего образцы встряхивали на шейкере в течение 10 минут. Дальнейшую пробоподготовку проводили по описанной методике.

Затем готовили пробы сыворотки крови, молока, органов и тканей для анализа содержания в них ивермектина. Экстрагировали из них ивермектин и полученные экстракты анализировали методом HPLC-FLD.

Условия HPLC-разделения при анализе экстрактов сыворотки крови, молока, органов и тканей на наличие ивермектина:

- колонка хроматографическая: Luna C18 (2) (100 Å, 5 µm), 150 x 3,0 мм (Phenomenex);
- предколонка хроматографическая: C 18, 4,0 x 3,0 мм;
- температура термостатирования колонки: + 30°C;
- элюирование: изократическое;
- мобильная фаза: ацетонитрил / метанол / деионизированная вода
- скорость потока подвижной фазы: 1,30 мл/мин;
- давление: 2135,75±50 psi;
- объем петлевого дозатора: 100 мкл;
- величина инъекции: 100 мкл;
- длины волн детекции: $\lambda_{ex.} = 365 \text{ nm}$, $\lambda_{em.} = 480 \text{ nm}$.

Эффективность препарата иверсан при нематодозах и арахноэнтомозах изучали на спонтанно зараженных животных в Курской, Рязанской и Калининградской областях России. При групповом способе применения иверсана использовали два способа обработки животных – выпаивание лечебного раствора

и скармливание животным кормолекарственной смеси препарата с зерном. И в том и другом случае сначала определяли массу обрабатываемых овец. Для приготовления лечебного раствора иверсан в дозе, рассчитанной на обрабатываемое поголовье, разводили в $\frac{1}{3}$ части суточной нормы воды, потребляемой овцами. Кормолекарственную смесь для обработки животных готовили следующим образом. Отмеряли количество зерна, необходимое по норме разового кормления животных. Затем готовили лекарственный раствор иверсана (воду брали в количестве $\frac{1}{2}$ от массы подготовленного зерна и растворяли в ней препарат исходя из дозы 0,005 мл/кг (200 мкг ивермектина / кг) – 0,005 мл умноженное на общую массу группы животных). Этим раствором заливали зерно, перемешивали и оставляли до полного выпитывания раствора зерном. Насыпали полученную кормолекарственную смесь в кормушки, обеспечивающие свободный доступ всех животных группы, и подпускали к ним овец. В процессе испытания противопаразитарной активности иверсана применяли оба этих метода групповой обработки животных, оценивая их эффективность.

Исследования в Курской области в августе–сентябре 2017 года провели на 38 овцах романовской породы в возрасте от 6 месяцев до 4-х лет, средней массой 45 кг. При исследовании овец установлено, что все животные спонтанно заражены гельминтами, кровососками и власоедами. Из овец были сформированы 2 группы – опытная и контрольная по 19 животных каждая.

Опытная группа получила препарат иверсан с зерном групповым способом. Зерно перед скармливанием было пропитано препаратом в дозе из расчета 0,1 мл иверсана на 20 кг массы животного. Обработку проводили двукратно с интервалом 14 суток. Контрольная группа, состоящая из 19 овец, получала в той же дозе зерно, замоченное водой. В период проведения опыта все животные выпасались. Рацион овец опытной и контрольной групп был одинаков, животные имели постоянный доступ к воде. Животные подвергались клиническому обследованию в 1-, 7-, 14- и 30-й дни опыта.

В июле 2017 года в ООО «Авангард» Рязанской области было проведено изучение эффективности действия иверсана при гельминтозах и мелофагозе на 38 ярках романовской породы в возрасте 1,5 года массой 25–35 кг. В течение всего периода исследований животные опытных и контрольной групп находились днем на пастбище, ночью – в кошаре.

Зараженных животных разделили на 3 группы: 1 и 2 опытные группы – по 15 овец, 3-я контрольная группа – 8 овец. Иверсан применяли овцам опытных групп орально индивидуально, смешивая необходимое количество препарата с водой в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного. Овцам первой опытной группы иверсан применяли однократно, во второй опытной группе животных обрабатывали двукратно в той же дозе с интервалом 12 суток. Овцам контрольной группы иверсан не давали до окончания опыта. Эффективность препарата иверсан определяли по результатам копроовоскопического, ларвоскопического, энтомологического исследований образцов биоматериала (фекалии и шерсть) через 10 суток после применения иверсана. Эффективность иверсана определяли по отсутствию у ярок опытных групп клинических признаков заболевания и на основании результатов лабораторных исследований после его применения. Клинические обследования проводили ежедневно, а лабораторные – через 10 суток после применения препарата.

В Калининградской области испытание иверсана проводили в июле–октябре 2017 года. Из 90 овец были сформированы 3 опытные и 3 контрольные группы. В опыт брали только инвазированных животных. Масса животных опытных и контрольных групп составляла от 35 до 80 кг. Животные контрольной группы препарат не получали. В первой опытной группе было 34 овцы и в первой контрольной – 10 овец. Половина животных первой опытной группы получили иверсан однократно индивидуально внутрь с водой. Другая половина – однократно групповым способом с овсом, пропитанным раствором иверсана, в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного. Оценку эффективности обработок проводили по наличию или отсутствию клинических признаков заболевания,

результатам исследования фекалий до и через 20 суток после введения препарата овцам.

Вторая опытная группа – 16 овец и вторая контрольная группа – 10 овец были заражены псороптозом. Животные второй опытной группы получили иверсан двукратно с интервалом 14 суток внутрь с водой для поения в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного. Эффективность действия препарата определяли по наличию клинических признаков псороптоза, результатам микроскопии соскобов кожи с мест поражения (до и через 28 дней после лечения овец подопытной группы). Определяли количество, стадии развития клещей и их состояние. Третья опытная группа – 10 овец и третья контрольная группа – 10 овец были заражены эстрозом. Животные 3-й опытной группы однократно получили иверсан внутрь с водой для поения в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного. Эффективность обработки определяли по результатам учета проявления характерных клинических признаков заболевания, а также по результатам вскрытий лобных пазух и носовой полости у выборочно убитых овец (по 3 животных из каждой группы).

2.2 Разработка препаратов пролонгированного действия иверлонг

В 2014 году совместно с учеными МИРЭА, института тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (д.х.н., профессором Кедик С.А. и к.х.н. Сусловым В.В.) была начата работа по разработке новых лекарственных форм противопаразитарных препаратов иверлонг 1 и иверлонг 2, препаратов пролонгированного действия. Иверлонг 1 – инъекционный препарат пролонгированного действия, содержащий в качестве действующего вещества ивермектин, а в качестве вспомогательных компонентов N-метилпирролидон, триацетин и биоразлагаемый полимер PLGA. Иверлонг 2 в отличие от препарата иверлонг 1 дополнительно содержал празиквантел в качестве второго действующего вещества. При проведении отбора образцов вспомогательных компонентов препаратов были использованы биоразлагаемые полимеры Purasorb DDLG 5004 и Purasorb PDL 05 производства Pura Biomaterialia сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA 75/25) .

В работе использовали субстанции ивермектина (Huashu pharmaceutical corporation, Китай) и празиквантела (Nanjing pharmaceutical factory co. LTD, Китай); PLGA, 75:25 (производства Evonik Industries, Германия); метилцеллюлоза водорастворимая (Schin Etsu, Япония); поливиниловый спирт (Chang Chun Petro chemical co. LTD, Тайвань); хлористый метилен (хч, Россия), N-метилпирролидон (Eur. Ph.).

Разработку составов и технологию изготовления опытных образцов препаратов проводили следующим образом: для получения образцов полимерных микросфер раствор полимера PLGA, ивермектина или празиквантела и сополимера молочной и гликолевой кислот эмульгировали с помощью верхнеприводной лопастной мешалки IKARW 16 Basik (IKA, Германия) в водном растворе метилцеллюлозы и поливинилового спирта. Полученную эмульсию выливали в воду и выдерживали при температуре от 4 до 25 °С для затвердевания микрочастиц. Микрочастицы концентрировали центрифугированием, разделяли фугат и супернатант, разбавляли суспензию дистиллированной водой для промывания, повторно концентрировали центрифугированием и лиофилизировали.

Образцы жидкой имплантируемой системы получали посредством последовательного растворения ивермектина или празиквантела, ивермектина и сополимера молочной и гликолевой кислот в N-метилпирролидоне при обработке ультразвуком и перемешивании.

Образцы, используемые для изучения фармакокинетики, подвергали стерилизующей фильтрации, разливали в стерильные флаконы и укупоривали под ламинаром. Распределение полимерных частиц по размерам определяли методом лазерного светорассеивания на приборе Beckman Coulter. Количественное содержание лекарственных веществ (ивермектина и празиквантела) в полимерных микросферах и жидких имплантируемых системах определяли методом ВЭЖХ.

Методика ускоренного изучения кинетики высвобождения ивермектина (in vitro) заключается в том, что первоначально готовится полимерная дисперсия, образующаяся in situ при введении исследуемого раствора

в среду высвобождения, и затем через определенные промежутки времени проводится определение концентрации активного вещества в среде высвобождения, нагретой до температуры 57 °С, что в 1,5 раза выше той, при которой имитируют высвобождение в биологических объектах (37 °С). Применение повышенной температуры было использовано с целью увеличения скорости гидролиза полимерной матрицы и ускорения процессов диффузии.

После предварительных испытаний в качестве среды растворения был выбран водный фосфатный буферный раствор с добавлением додецилсульфата натрия, обеспечивающего растворимость ивермектина в водной среде. рН буферного раствора составлял 7,35–7,45, что близко к значениям рН клеток и межклеточной жидкости. Для обеспечения однородности геометрии исследуемых «имплантатов» образцы вводили в среду высвобождения порциями одинакового объема, что позволяло получать достаточно однородные крупнозернистые фрагменты суспензии (рисунок 5).



Рисунок 5 - Частицы полимерной суспензии

Среду растворения готовили следующим образом. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещали 2,76 г натрия дигидрофосфата моногидрата (хч), 11,36 г натрия гидрофосфата (хч), 1,6 г натрия хлорида (хч), 2 г додецилсульфата натрия (Panreac, кат. № 142363.1209), 0,2 г натрия азиды (Fluka, кат. №71290) и 950 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы перемешивали до полного растворения солей. Определяли рН полученного раствора, который должен быть в пределах от 7,35 до 7,45. В случае необходимости корректировали значение рН с

помощью раствора едкого натра или 10% раствора кислоты ортофосфорной. Объем раствора доводили водой до метки и перемешивали.

При проведении исследований осуществляли следующий порядок проведения анализа и отбора проб.

В мерную колбу вместимостью 200 мл помещали 120 мл среды растворения. Колбу взвешивали, помещали в нее магнитный якорек и при перемешивании на магнитной мешалке порциями по 30 мкл, осторожно приливали около 1 мл исследуемого образца. Затем выдерживали полученную смесь при перемешивании 5 мин для образования частиц полимерной матрицы. Осторожно извлекали магнитный якорек и определяли точную массу введенного образца. Суспензию доводили средой высвобождения до метки. Колбу закрывали полипропиленовой пробкой и помещали в термостатирующую баню с температурой $57 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Уровень воды в бане поддерживали выше уровня воды среды растворения в колбе. Для анализа отбирали по 5 мл среды растворения. Непосредственно перед отбором проб содержимое колбы перемешивали 2-кратным переворачиванием и затем отстаивали в течение 2 мин. При отборе избегали попадания частиц полимерной суспензии в отбираемый раствор. После отбора каждой пробы в колбу осторожно приливали свежую порцию среды растворения, подогретой до температуры $57 \pm 0,3^\circ\text{C}$, доводя объем в колбе до метки. Отобранные пробы охлаждали до комнатной температуры, профильтровывали через мембранный фильтр из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первый 1 мл фильтрата. Полученный профильтрованный раствор анализировали и определяли концентрацию действующего вещества, перешедшего в среду высвобождения.

Для определения концентрации вышедшего в среду растворения ивермектина использовали спектрофотометрический метод.

Изучение эффективности препарата иверлонг 1 проводили в животноводческих хозяйствах Самарской области, Шпаковского района Ставропольского края в 2016 –2019 годах на спонтанно зараженных животных. Перед началом каждого эксперимента проводили диагностические исследования

овец на зараженность паразитами. Фекалии для исследования на наличие яиц гельминтов брали из прямой кишки овец. Овцам контрольных групп подкожно вводили физраствор в той же по объему дозе, что и испытуемый препарат, который вводили в дозе 1 мл/50 кг (с разным содержанием ДВ). Все овцы опытных и контрольных групп были примерно одного возраста.

Титрацию терапевтической дозы иверлонга 1 при желудочно-кишечных стронгилятозах овец провели в Самарской области в ООО «Агроресурс» в 2016 году с мая по сентябрь на 81 овце массой тела 15–30 кг. Цель эксперимента – подобрать наиболее экономичную и эффективную дозу препарата. В опыте использовали иверлонг 1 (серия 31 с содержанием в 1 мл 50 мг ивермектина). Исследование эффективности действия иверлонга провели в сравнении с препаратом ивермек. Животных распределили на 6 групп (5 опытных и 1 контрольную). Схема введения препарата представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Схема введения иверлонга 1

Группа	Количество животных	Доза, мл/кг	Доза по ивермектину
Опытная 1	13	1/50	1 мг/кг
Опытная 2	15	0,5/50	0,5 мг/кг
Опытная 3	13	0,75/50	1,5 мг/кг
Опытная 4	12	0,25 /50	0,25 мг/кг
Опытная 5 (ивермек)	14	1/50	0,2 мг/кг
Контроль	14	–	–

Оценку результатов проводили по копроовоскопическим исследованиям фекалий овец до лечения, через 15, 48, 80, 104, 128 дней. В течение эксперимента все животные опытных и контрольных групп выпасались на пастбище.

Испытание эффективности иверлонга 1 при смешанных нематодозах проводили в Ставропольском крае в 2016 году с июля по сентябрь на 78 овцах. В опытную группу отобрали 50 овец, в контрольную – 28. Животным опытной группы в дозе 1мг/кг (по ивермектину) однократно вводили иверлонг 1, а контрольной группе – физраствор в той же по объему дозе. Исследование фекалий

на наличие яиц гельминтов проводили дважды – в день начала эксперимента и на 75-е сутки после введения препарата.

Длительность защитного эффекта однократного введения препарата иверлонг 1 от заражения желудочно-кишечными стронгилятами изучали в эксперименте в Ставропольском крае в 2018 году с июня по сентябрь. В опытную и контрольную группы взяли по 12 животных. Препарат овцам опытной группы вводили однократно в дозе 1 мг/кг, овцы контрольной группы антигельминтиков не получали. За животными вели наблюдение девяти суток, проводя гельминтоооскопию на 30-, 40-, 50-, 60-, 75- и 90-е сутки эксперимента.

С сентября по декабрь 2018 года продолжили опыт по изучению длительности защитного действия иверлонга. Животные были распределены на две группы опытная и контрольная по 6 овец в каждой. Ягнята подопытных групп были помечены ушными номерными бирками и краской. На протяжении эксперимента подопытные животные выпасались вместе со стадом. Препарат иверлонг 1 (серия 31) ввели в дозе 1 мл/50 кг (1 мг/кг по ивермектину) однократно подкожно. Результаты эффективности оценивали копроооскопическим методом на наличие яиц стронгилят желудочно-кишечного тракта до, через 15, 30, 45, 60, 108 дней у животных опытной группы. Интенсивность стронгилятами животных контрольной группы оценивали до, через 30, 60, 108 дней после введения препарата опытной группе.

Разработку схемы применения препарата иверлонг 1 для профилактики желудочно-кишечных нематодозов проводили в Ставропольском крае в мае–октябре 2019 года на 34 овцах. При этом провели испытание эффективности двукратного применения иверлонга 1 в дозе 1 мг/кг. В опытную группу взяли 22 овцы, в контрольную группу – 12 животных. Препарат вводили в первый раз на 5-й неделе выпаса, а второй на 12-й после первой обработки. Эффективность обработки контролировали по наличию яиц гельминтов в фекалиях животных на 30-й день после первого введения препарата, далее через каждый месяц до конца октября (6-й месяц опыта).

2.3 Разработка препарата иверлонг 2

Для приготовления экспериментальных образцов в коническую колбу помещали точную навеску празиквантела и ивермектина, затем добавляли необходимое количество N-метилпирролидона. Колбу закрывали пробкой и помещали в ультразвуковую ванну до полного растворения компонентов. Затем к полученному раствору добавляли точную навеску сополимера молочной и гликолевой кислот и перемешивали на Vortex до полного растворения.

Разработку методики определения кинетики высвобождения ивермектина и празиквантела проводили in vitro в стандартных условиях при температуре 37–39 °С. Для исследования кинетики высвобождения ивермектина и празиквантела из экспериментальных образцов был выбран метод, получивший название Sample-separation (рисунок 6), который позволяет снизить влияние растворителя (НМП), входящего в состав исследуемых образцов, на процесс высвобождения [338].



Рисунок 6 - Метод Sample-separation

При проведении исследования методом Sample-separation образец помещается в пластиковую или стеклянную пробирку, заполненную средой растворения, в качестве которой используется фосфатный буферный раствор (рН=7,4). Затем пробирка помещается в термостатируемую баню либо водяную

баню-шейкер. Отбор проб среды растворения с перешедшим в нее веществом с последующим ее полным замещением осуществляется через определенные промежутки времени (Kranz H. (2008), Santhosh Kumar J. (2012), Wischke C. (2010)) [338; 390; 432]. В процессе эксперимента проводили полную замену среды растворения, так как органический растворитель, входящий в состав исследуемых систем, попадая в среду высвобождения, может значительно изменять профиль высвобождения вещества из исследуемого образца. При проведении анализа кинетики высвобождения ивермектина и празиквантела из образцов состава было установлено, что при введении одних образцов в среду высвобождения происходило формирование плотных агломератов, тогда как для других происходило образование мелкодисперсной взвеси, которая не оседала при центрифугировании (4000 об/мин, 15 мин), что делало корректный отбор проб и анализ невозможным. С целью предотвращения образования мелкодисперсной взвеси при введении исследуемых образцов в среду растворения и формирования устойчивой полимерной матрицы было решено использовать кварцевый песок (фракция 1,2 – 2,0 мм).

Для этого в пластиковую пробирку помещали 3,7 г кварцевого песка, пробирку взвешивали и в слой песка с помощью шприца через иглу 16 G вводили 0,5 мл раствора. Точное количество введенного раствора определяли повторным взвешиванием, затем объем среды растворения медленно доводили до метки. Пробирку закрывали горловинной крышкой и помещали в термостатирующую баню с температурой $37 \pm 0,3$ °C.

Разработку методики проведения анализа и отбора проб проводили на основании литературных данных Camargo J.A., (2013) [253]. Для анализа кинетики высвобождения была разработана методика, в соответствии с которой в пластиковую пробирку вместимостью 50 мл с помощью шприца через иглу 16 G помещали 0,5 мл раствора и доводили до метки средой растворения. Пробирку закрывали крышкой и помещали в термостатирующую баню с температурой $37 \pm 0,3$ °C. Уровень воды в бане должен быть выше уровня среды растворения в пробирке. Через определенные промежутки времени с помощью медицинского

шприца осторожно отбирали весь раствор над имплантатом. Перед отбором пробы содержимое пробирки, не встряхивая, перемешивали в течение 20 сек. В пробирку наливали новую среду растворения, подогретую до температуры $37 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Пробу отобранной среды растворения (5 мл) охлаждали до комнатной температуры, затем фильтровали через мембранный фильтр из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первый 1 мл фильтрата. Количество празиквантела и ивермектина в образце среды растворения определяли с помощью разработанного хроматографического метода.

Разработку аналитических методов определения содержания в органических растворах ивермектина и празиквантела проводили с использованием ВЭЖХ. В литературе описана методика совместного количественного определения ивермектина и празиквантела в твердых лекарственных формах Kulik A. (2011) [341]. Апробация данных условий хроматографирования на практике показала, что значительные различия в строении и подвижности определяемых веществ приводят к тому, что их совместное определение требует применения градиентного режима элюирования и значительных временных затрат, что при большом числе одновременно исследуемых образцов делает использование такой методики нецелесообразным. Условия хроматографирования определения ивермектина и празиквантела приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Условия хроматографирования для совместного определения празиквантела и ивермектина

Колонка	Supelcosil LC-ABZ+ 5 μm , 250*4.6 mm
Подвижная фаза А	Ацетонитрил/вода (40/60, об/об)
Подвижная фаза В	100% ацетонитрил
Режим градиента (время, мин/ %В):	0-5/0; 5-20/0→80; 20-25/80; 25-30/80→0; 30-35/0
Детектирование	УФ, 245 нм

Для индивидуального определения ивермектина использовали условия хроматографирования, предложенные Tway и др. [421], с заменой токсичного метанола на н-пропанол и детектированием на 250 нм (таблица 5) [219].

Таблица 5 - Условия хроматографирования для определения ивермектина

Колонка	Luna C18(2), 5 мкм, 250 x 4,6 мм или аналогичная
Подвижная фаза	вода для хроматографии / ацетонитрил / н-пропанол (10/70/20)
Режим хроматографирования	скорость потока - 1 мл/ мин температура - 40° С объем петли - 20 мкл
Объем вводимой пробы	20,0 мкл.
Детектирование	УФ, 250 нм

Впоследствии уменьшение длины колонки и замены Luna C18(2), 5 мкм, 250 x 4,6 мм на Luna C18(2), 5 мкм, 150 x 4,6 мм позволило сократить среднее время проведения единичного анализа.

Для количественного определения празиквантела были использованы условия хроматографирования, предложенные в Европейской фармакопее 5.0. Для сокращения времени анализа описанную в этом методе колонку заменили на более короткую: Luna C18(2), 5 мкм, 150 x 4,6 мм, изменили состав подвижной фазы, увеличив в нем долю ацетонитрила, и увеличили температуру термостатирования колонки до 40 °С, что позволило сократить время анализа. При детектировании при длине волны 210 нм была выявлена недостаточная сходимость, что, возможно, обусловлено высокой чувствительностью прибора к примесным соединениям и растворителям при данной длине волны. Проведение детектирования при длине волны 263 нм, соответствующей максимуму поглощения празиквантела, позволило получить достаточную сходимость результатов. Условия хроматографирования для определения празиквантела представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Разработанные условия хроматографирования для определения празиквантела

Колонка	Luna C18(2), 5 мкм, 150 x 4,6 мм
Подвижная фаза	вода для хроматографии/ацетонитрил (50/50)
Режим хроматографирования	скорость потока – 1 мл/мин; температура – 40 °С объем вводимой пробы: 20,0 мкл
Детектирование	УФ, 263 нм

Методика определения ивермектина сводилась к следующему.

1. Анализируемый раствор (образец) - 200 мкл помещали в мерную колбу (на 10 мл), подвижной фазой доводили объем до метки и тщательно перемешивали. Полученный в результате раствор выдерживали при комнатной температуре 5 минут и затем использовали для введения в хроматограф.

2. При определении концентрации ивермектина в среде растворения. Среду растворения, полученную после фильтрации, анализировали без дополнительной обработки.

3. При определении остаточного содержания его в полимерной матрице. Для определения содержания ивермектина в полимерной матрице, весь сухой остаток полимера, полученный после фильтрации, помещали в мерную колбу объемом 25 мл, растворяли в 12 мл ацетонитрила и доводили до метки ПФ. Концентрация полученного раствора была около 1 мг/мл. Раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1-2 фильтрата.

4. При определении остаточного содержания в полимерной матрице, содержащей кварцевый песок.

Для определения содержания ивермектина в полимерном остатке, содержащем кварцевый песок, весь сухой остаток полимера с кварцевым песком помещали в мерную колбу объемом 25 мл, растворяли в 12 мл ацетонитрила при обработке ультразвуком и после охлаждения раствора, доводили до метки подвижной фазой. Раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1-2 мл экстракта.

Полученный испытуемый раствор (200 мкл), за исключением случая анализа среды растворения, помещали в мерную колбу (объемом 10 мл), доводили объем до метки подвижной фазой и перемешивали. Затем полученный раствор выдерживали при комнатной температуре 5 минут и использовали для введения в хроматограф.

Раствор стандартного образца ивермектина готовили следующим образом. Ивермектин (10,0 мг) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в подвижной фазе и доводили ею объем до метки, получали раствор с

концентрацией 1000 мкг/мл. Стандартный раствор №1 готовили следующим методом – раствор стандартного образца (0,1 мл) помещали в мерную колбу (объемом 10 мл), приливали 8,0 мл подвижной фазы, перемешивали и его доводили объем до метки. Получали раствор с концентрацией 10 мкг/мл. Аналогично готовили стандартный раствор №2 (с концентрацией раствора 50,00 мкг/мл), стандартный раствор №3 (с концентрацией раствора 100,00 мкг/мл), стандартный раствор №4 (с концентрацией раствора 500,00 мкг/мл).

Исследование проводили, используя следующую методику.

В хроматограф, выведенный на рабочий режим, 5 раз вводили стандартный раствор №1. На хроматограммах идентифицировали пики ивермектина и определяли их площади. Время удерживания около 4,5 мин.

В хроматограф последовательно вводили стандартные растворы, начиная с раствора с наименьшей концентрацией. Строили график зависимости концентрации ивермектина от площади пика. В хроматограф вводили 3 раза испытуемый раствор. На хроматограммах идентифицировали пики ивермектина и определяли их площади. По графику зависимости концентрации ивермектина от площади пика определяли концентрацию ивермектина в испытуемом растворе (рисунок 7).

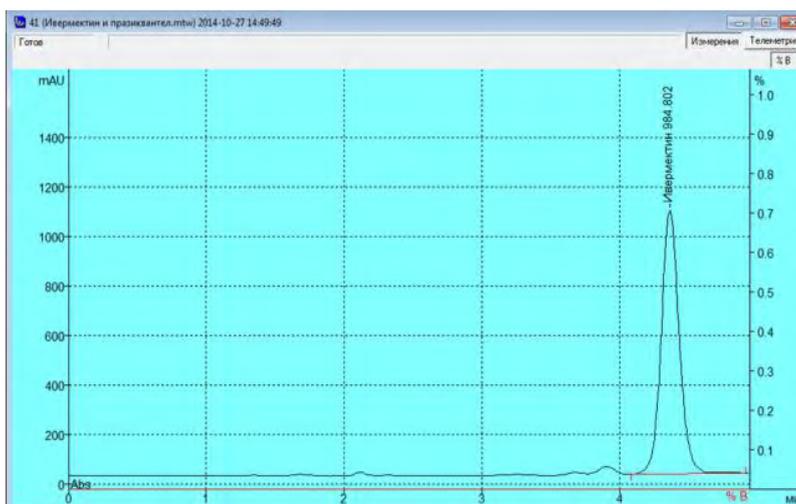


Рисунок 7 - Вид хроматограммы раствора ивермектина

Для количественного определения ивермектина с использованием стандартных растворов была построена градуировочная зависимость (рисунок 8). Экспериментально полученные точки описываются уравнением прямой $y=2,03x$ с коэффициентом корреляции 0,99991. Относительное стандартное отклонение площади пика основного вещества, рассчитанное по хроматограммам стандартных растворов, не более 1,63 %.

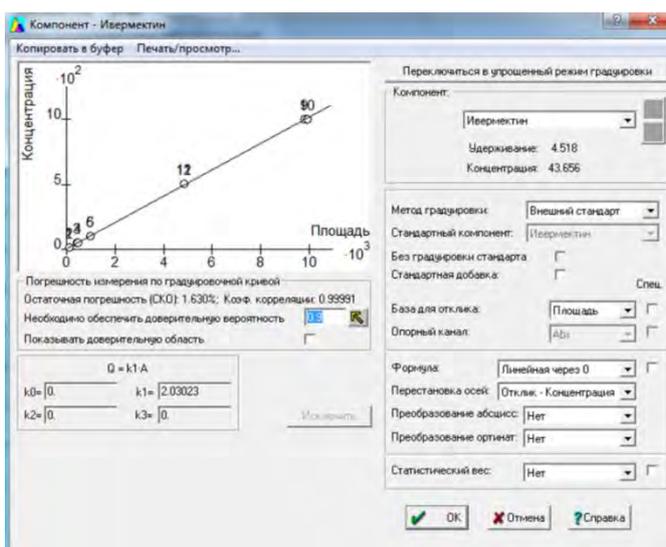


Рисунок 8 - Линейность методики определения ивермектина

Была проверена специфичность методики – должны отсутствовать пики, мешающие определению. На хроматограмме образца растворителя отсутствовали пики, имеющие такое же время удерживания, как и ивермектин.

Из найденной концентрации ивермектина в аликвоте среды растворения рассчитывали количество ивермектина в общем объеме среды растворения.

Методика определения празиквантела заключалась в следующем.

1) При определении концентрации празиквантела в органических растворителях/экспериментальных образцах. Двести микролитров анализируемого раствора (образца) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, затем подвижной фазой доводили объём до метки и тщательно перемешивали. Раствор выдерживали при комнатной температуре 5 минут и использовали для введения в хроматограф.

2) При определении концентрации в среде растворения. Среду растворения, полученную после фильтрации, анализировали без дополнительной обработки.

3) При определении остаточного содержания в полимерной матрице (имплантате). Для определения содержания празиквантела в полимерной матрице весь сухой остаток полимера, полученный после фильтрации, помещали в мерную колбу объемом 25 мл, растворяли в 12 мл ацетонитрила и доводили до метки подвижной фазой. Концентрация полученного раствора была 1 мг/мл. Раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1-2 мл фильтрата.

4) При определении остаточного содержания в полимерной матрице с кварцевым песком. Для определения содержания празиквантела в полимерном остатке, содержащем песок, весь сухой остаток полимера с кварцевым песком помещали в мерную колбу объемом 25 мл, растворяли в 12 мл ацетонитрила при обработке ультразвуком и после охлаждения раствора, доводили до метки подвижной фазой. Раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 1-2 мл фильтрата.

Приготовление образца для хроматографирования.

Двести микролитров первичного раствора имплантата помещали в мерную колбу на 10 мл, далее действовали так же, как и в пункте 1 этой методики.

Приготовление раствора стандартного образца празиквантела. Празиквантел (10,0 мг) помещали в мерную колбу (объемом в 10 мл), растворяли в подвижной фазе и ею же доводили объем раствора до метки. Получали раствор с концентрацией 1000 мкг/мл

Подготовка стандартного раствора №1.

Раствор с концентрацией 1000 мкг/мл (0,1 мл) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляли 8 мл подвижной фазы, тщательно перемешивали и ею же доводили объем раствора до метки. Получали раствор с концентрацией 10 мкг/мл. Аналогично готовили стандартные растворы №2 (с концентрацией 50 мкг/мл), №3 (с концентрацией 100 мкг/мл), №4 (с концентрацией 500 мкг/мл).

Исследования проводили по следующей методике.

В хроматограф, выведенный на рабочий режим, 5 раз вводили стандартный раствор №1. На хроматограммах идентифицировали пики празиквантела и определяли их площади. Время удерживания примерно 5,4 мин.

В хроматограф последовательно вводили стандартные растворы, начиная с раствора с наименьшей концентрацией. Строили график зависимости концентрации празиквантела от площади пика.

В хроматограф вводили 3 раза испытуемый раствор. На хроматограммах идентифицировали пики празиквантела и определяли их площади. По графику зависимости концентрации празиквантела от площади пика определяли концентрацию празиквантела в испытуемом растворе (рисунок 9).

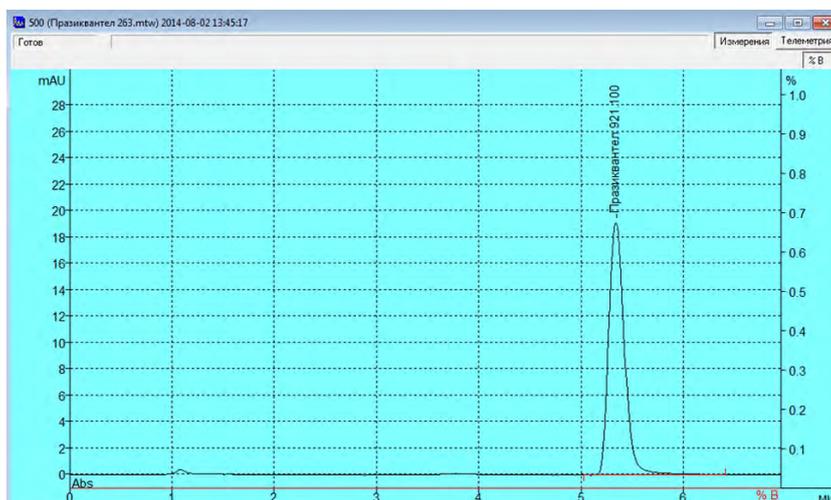


Рисунок 9 - Вид хроматограммы раствора празиквантела

Для количественного определения празиквантела с использованием стандартных растворов была построена градуировочная зависимость (рисунок 10). Экспериментально полученные точки описываются уравнением прямой $y=45,2x$ с коэффициентом корреляции 0,99987. Относительное стандартное отклонение площади пика основного вещества, рассчитанное по хроматограммам стандартных растворов, не более 1,62 %.

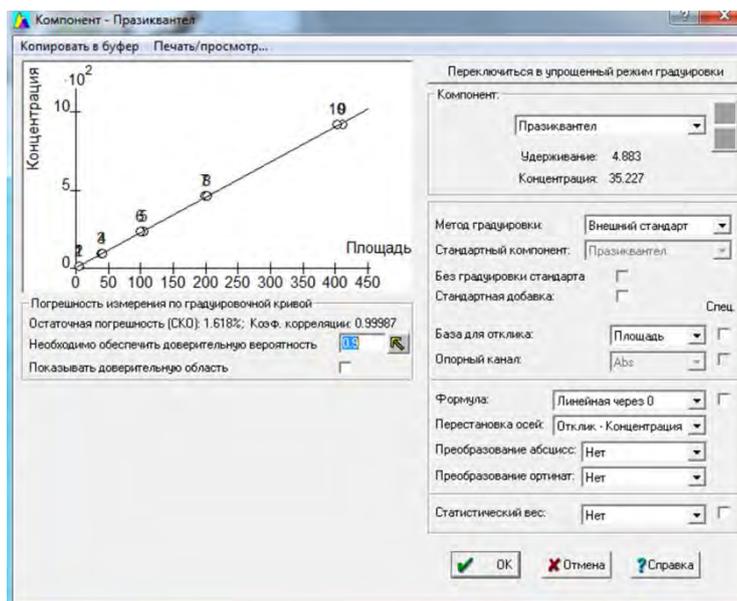


Рисунок 10 - Линейность методики определения празиквантела

Из найденной концентрации празиквантела в аликвоте среды растворения рассчитывали количество празиквантела в общем объеме среды растворения.

Изучение фармако-токсикологических свойств препарата иверлонг 2 (образец 9)

Изучение острой токсичности препарата проводили в условиях введения в желудок. Было использовано 30 белых крыс-самцов. Исходный вес животных колебался в пределах 230–250 г. В опыт брали клинически здоровых животных, которые предварительно выдерживались на 15-дневном карантине. Статистические группы состояли из 6 животных.

За животными вели наблюдение в течение двух недель после введения, отмечая сроки гибели или выздоровления животных. Учитывали общее состояние животных, сохранение двигательных функций, аппетита, состояние шерстного покрова, дыхания, реакцию на внешние раздражители.

В опыте использовался 30%-ный препарат в триацетине. Были испытаны дозы – 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 и 6,0 г/кг. По результатам острого опыта было определено среднее время гибели животных (ET_{50}), которое является быстрым и довольно объективным тестом оценки кумулятивных свойств препарата в организме [127].

Местно-раздражающее, аллергезирующее действие препарата определяли методом накожной и конъюнктивальной пробы на 20 кроликах

массой 3-4 кг. В первую опытную группу взяли 10 кроликов для испытания местно-раздражающего действия на кожу, во вторую 10 кроликов для проведения испытаний раздражающего действия на слизистую оболочку глаза. Кроликам первой опытной группы накожно 1 раз в день в течение 20 суток с экспозицией 4 часа наносили на правый бок в нативном виде препарат иверлонг 2 в дозе 1 мл/кг массы тела животного, им же на левый бок наносили в этой же дозе физраствор. После завершения опыта вели наблюдение за животными еще в течение 14 дней. Кроликам второй опытной группы в правый глаз закапывали по 1 капле раствора препарата иверлонг 2. Левый глаз служил контролем, в него закапывали дистиллированную воду.

Влияние иверлонг 2 на клеточный иммунитет изучали с использованием реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при введении в качестве антигенов эритроцитов барана на 20 белых мышах.

На следующие сутки после последней инъекции препарата мышей первой группы (10 животных) иммунизировали подкожно в межлопаточную область 10% суспензией эритроцитов барана (ЭБ) в дозе 0,1 мл. Животные 2-й группы (10 животных) служили контролем, им вводили только 10% суспензию ЭБ. Через 5 дней после окончания введения препарата всем животным вводили разрешающую дозу 2%-ной суспензии эритроцитов барана в количестве 0,02 мл в правую лапку, а в левую стерильный физиологический раствор в дозе 0,02 мл. Через 24 часа животных умерщвляли, отрезали лапки на уровне голеностопного сустава и взвешивали на аналитических весах марки для учета индекса стимуляции по формуле:

$$I_p = \frac{M_{on} - M_k}{M_k} \times 100\%$$

где I_p – индекс реакции; M_{on} – масса опытной лапы; M_k – масса контрольной лапы.

Влияние препарата иверлонг 2 на гуморальный иммунный ответ изучали с помощью определения числа антителообразующих клеток (АОК) после иммунизации 20 мышей линии Balb/c эритроцитами барана. Исследование

проводили согласно руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Хабриев, 2005) [194]. Индекс стимуляции вычисляли по формуле:

$$ИС = \frac{АОК \text{ в опыте}}{АОК \text{ в контроле}}$$

Для изучения фармакокинетики ивермектина и празиквантела в сыворотке крови овец после применения препарата иверлонг 2 была сформирована опытная группа из 5 овец романовской породы массой тела 50-54 кг. Овцам опытной группы однократно ввели иверлонг 2 (образец 4) подкожно в дозе 1 мл на 25 кг массы тела.

Пробы крови для анализа отбирали у всех овец опытной группы до применения препарата (контрольные пробы) и через 1; 1,5; 2; 4; 12; 24; 36 часов, через 2; 4; 7; 10; 15; 20; 30 суток после применения. Отбирали кровь объемом до 6 мл и после формирования сгустка отделяли сыворотку, которую далее использовали для количественного определения ивермектина и празиквантела. Сыворотку хранили до исследования при температуре не выше минус 18 °С, транспортировку в лабораторию осуществляли в термоконтейнерах.

Для расчета фармакокинетических параметров использовали программное обеспечение PK Solver.

Для определения ивермектина в сыворотке крови разработали методику на основе ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Впоследствии с помощью этой методики выполняли также анализ проб молока, органов и тканей овец в экспериментах с препаратом монизен форте. В основе методики определения ивермектина – гомогенизация образцов, селективная экстракция из гомогенатов этилацетатом, дериватизация, элюирование в изократическом режиме с использованием хроматографической колонки Luna C18 (2) (100 Å, 5 µm) и флуоресцентное детектирование при $\lambda_{ex.} = 365 \text{ nm}$, $\lambda_{em.} = 480 \text{ nm}$. Для построения калибровочных кривых и количественного определения содержания ивермектина

использовали аналитический стандарт ивермектина (22,23-Dihydroavermectin B1, МК-933), Fluka, CAS Number 70288-86-7, analytical standard. На аналитических весах взвешивали навеску стандарта, соответствующую массе чистого вещества 100 мг, и растворяли метанолом в мерной колбе объемом 100 мл, получая основной раствор с концентрацией 1 мг/мл. Из полученного основного раствора готовили промежуточные растворы путем разведения в мерных колбах. Для построения калибровочных кривых готовили калибровочные растворы с концентрациями 200, 100, 50 и 10 нг/мл. Калибровочные растворы готовили как в подвижной фазе, так и в экстрактах «чистых проб» («blank-образцы»), для целей оценки степени извлечения. Для количественного определения использовали калибровочные растворы в экстрактах «blank-образцов», для компенсации матричных эффектов.

Для определения содержания ивермектина пробы готовили по следующей схеме. Пробу извлекали из морозильной камеры и размораживали при температуре 4 °С, после чего перемешивали 10 минут при комнатной температуре (в случае анализа тканей образцы измельчали). Отбирали в пробирку 1 мл образца сыворотки крови или молоко (при анализе тканей – 1 г гомогената), добавляли по 1,5 мл смеси метанол-вода (1/1), встряхивали в течение 1 минуты и обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут. Затем к полученным смесям добавляли по 8 мл этилацетата (при анализе тканей – 20 мл), в течение 5 минут встряхивали на шейкере, полученные эмульсии центрифугировали при 5000 об/мин (5 минут). Экстракцию проб этилацетатом с последующим центрифугированием проводили трёхкратно. Фракции этилацетата объединяли и количественно переносили в круглодонные колбы (объемом 25 мл) для последующего упаривания досуха при температуре 40 °С.

Затем сухое вещество растворяли в 4 мл ацетонитрила при одновременной обработке ультразвуком. Ацетонитрильные экстракты переносили в пробирки объемом 15 мл и промывали пятикратно гексаном (по 4 мл). Затем гексан отбрасывали, а ацетонитрильные фракции, переносили в круглодонные колбы объемом 25 мл и упаривали досуха при температуре 40°С.

Дериватизацию полученных экстрактов проводили следующим образом. Сухие остатки в круглодонных колбах растворяли в 1 мл ацетонитрила, встряхивали на шейкере в течение 5 минут и обрабатывали ультразвуком в течение 40 секунд. Экстракты переносили в пробирки Эппендорфа, в экстракты при помощи микрошприца вносили по 0,05 мл 1-метилимидазола, герметично закрывали, встряхивали на шейкере в течение 30 секунд, обрабатывали ультразвуком в течение 5 минут, центрифугировали в течение 5 минут при 5000 об/мин и охлаждали до 0 °С в течение 15 минут. После охлаждения в пробирки с экстрактами вносили по 0,15 мл охлажденной смеси трифторуксусного ангидрида с ацетонитрилом (1/2), пробирки закрывали, перемешивали смеси на шейкере и инкубировали в течение 1 часа при температуре 4–6 °С. Полученные экстракты анализировали методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием.

Для измерения концентрации ивермектина в экстрактах применяли следующие параметры ВЭЖХ-разделения: колонка хроматографическая: Luna C18 (2) (100 Å, 5 µm), 150 x 3,0 мм (Phenomenex); предколонка хроматографическая: C 18, 4,0 x 3,0 мм; температура термостатирования колонки: 30 °С элюирование: изократическое; мобильная фаза: ацетонитрил/метанол/деионизированная вода – 400/590/10; скорость потока подвижной фазы: 1,30 мл/мин; объем инъекции: 100 мкл; длины волн детекции: $\lambda_{ex} = 365$ нм, $\lambda_{em} = 480$ нм.

Для определения празиквантела в сыворотке крови разработали методику на основе ВЭЖХ с УФ-детектированием. Впоследствии с помощью этой же методики выполняли также анализ молока, проб органов и тканей в других экспериментах.

В основе методики определения празиквантела лежит гомогенизация образцов в присутствии раствора гидроокиси натрия и калий-фосфатного буфера, экстракция из образцов при помощи ТФЭ-картриджей и элюирование в изократическом режиме с использованием хроматографической колонки Supelcosil LC-18-DB (5 µm) и ультрафиолетовым детектированием при $\lambda = 215$ nm. Для построения калибровочных кривых и количественного определения содержания

празиквантела использовали аналитический стандарт празиквантела, 98,8%, Vetranal, CAS Number 55268-74-1. На аналитических весах взвешивали навеску стандарта, соответствующую массе чистого вещества 100 мг, и растворяли метанолом в мерной колбе объемом 100 мл, получая основной раствор с концентрацией 1 мг/мл. Из полученного основного раствора готовили промежуточные растворы путем разведения в мерных колбах. Для построения калибровочных кривых при анализе сыворотки крови готовили калибровочные растворы с концентрациями 200, 100, 50 и 10 нг/мл. Для построения калибровочных кривых при анализе сыворотки крови готовили калибровочные растворы с концентрациями 1000, 500, 100 и 50 нг/мл. Калибровочные растворы готовили как в подвижной фазе, так и в экстрактах «чистых проб» («blank-образцов»), для целей оценки степени извлечения. Для количественного определения использовали калибровочные растворы в экстрактах «blank-образцов», для компенсации матричных эффектов.

Для анализа содержания празиквантела пробы готовили по следующей схеме:

1. Перед началом подготовки проб проводили предварительную активацию картриджей OASIS SPE 60 mg: последовательное промывание 4 мл метанола, 4 мл воды, 4 мл 0,025 М калий-фосфатного буфера с рН =5,8 со скоростью ~ 0,2 мл/мин).
2. Пробу извлекали из морозильной камеры и размораживали при температуре 4 °С, после чего перемешивали 10 минут при комнатной температуре (в случае анализа тканей образцы измельчали).
3. Экстракция образцов сыворотки крови (молока): в центрифужные пробирки переносили по 1 мл образцов сыворотки крови, добавляли по 0,10 мл 0,2 Н гидроокиси натрия и по 0,5 мл 0,025 М калий-фосфатного буфера (с рН=5,8), встряхивали на шейкере в течение 2 минут и обрабатывали ультразвуком в течение 5 минут.
4. При экстракции образцов тканей в центрифужные пробирки вносили по 1 г гомогенатов органов (тканей), добавляли по 0,50 мл 0,2 Н гидроокиси натрия и по

2,5 мл 0,025 М калий-фосфатного буфера (с pH=5,8), смеси встряхивали на шейкере в течение 15-и минут и обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут; далее пробы центрифугировали в течение 5 минут при 5000 об/мин; экстракцию выполняли дважды.

5. Полученные экстракты наносили на предварительно активированные картриджи OASIS SPE 60 mg.
6. Картриджи с нанесенными пробами последовательно промывали 4 мл (0,025 М) калий-фосфатного буфера (pH =5,8) и 2 мл 5%-го водного раствора метанола, затем просушивали под током азота в течение 10 минут.
7. Сорбированные на картриджах пробы элюировали в 4 мл смеси этилацетата/диэтилового эфира (в соотношении 70/30) в круглодонные колбы для последующего упаривания (при температуре не выше 40°C).
8. Полученные сухие остатки растворяли в 0,9 мл ацетона и переносили в пробирки Эппендорфа, затем упаривали досуха под током азота.
9. Сухие остатки в пробирках Эппендорфа растворяли в 1 мл мобильной фазы при одновременной ультразвуковой обработке в течение 5 мин.
10. Полученные экстракты анализировали методом ВЭЖХ с УФ-детектированием.

Для измерения концентрации празиквантела в экстрактах применяли следующие параметры ВЭЖХ-разделения: колонка хроматографическая: Supelcosil LC-18-DB (Ø сорбента – 5 мкм), 250 x 4,6 мм (Supelco), предколонка хроматографическая: C 18 ODS; 4,0 x 3,0 мм, температура термостатирования колонки: 20°C. Элюирование: изократическое. Мобильная фаза: ацетонитрил/деионизированная вода/натриевая соль гептансульфоновой кислоты/однозамещенный фосфат калия (600/400/4,4 г/1,7 г; pH водной фазы доводили до 5,5 концентрированной фосфорной кислотой). Скорость потока мобильной фазы: 0,8 мл/мин. Объем инъекции: 50 мкл, длина волны детекции: $\lambda = 215 \text{ nm}$.

Для целей обеспечения достоверности получаемых результатов предварительно провели валидацию методик. В ходе валидации были проверены следующие параметры методик.

Оценивали степень извлечения: для этого готовили 2 набора проб с добавками на 4 уровнях концентраций, из них в 1-й набор добавки вносили перед пробоподготовкой, во 2-й набор добавки вносили на последнем этапе пробоподготовки. Степень извлечения для каждого вида матрицы оценивали по отношению аналитического отклика проб из 1-го набора к отклику соответствующих проб из 2-го набора.

Линейность оценивали для каждого вида матрицы путем анализа проб с добавками на четырех уровнях концентраций и построения калибровочной кривой. Для полученных кривых оценивали квадрат коэффициента корреляции, а также совпадение обратно рассчитанных концентраций калибровочных растворов с теоретическими значениями.

Для оценки предела обнаружения и предела количественного определения проводили исследование проб «blank-образцов» разных матриц. Предел обнаружения (LoD) методик определяли как $3 \cdot SD_b \cdot k^{-1}$, где SD_b – среднеквадратическое отклонение отклика; k – угловой коэффициент. Предел количественного определения определяли как $10 \cdot SD_b \cdot k^{-1}$.

Для оценки достоверности методики оценивали внутрисерийную прецизионность путем расчета относительного среднеквадратического отклонения трех результатов измерений на каждом уровне, и межсерийную прецизионность путем расчета относительного среднеквадратического отклонения 9 результатов измерений (трех серий, по три результата на каждом уровне).

Для оценки стабильности определяемых веществ в биологических образцах проверяли изменение концентраций образцов с добавкой ивермектина и празиквантела на верхнем и нижнем калибровочном уровнях, хранившихся в течение 1, 3, 6 месяцев при температуре минус 20 °С.

Для празиквантела дополнительно провели проверку влияния разведения образца до исследования, на случай получения концентраций, выходящих за пределы калибровочной кривой.

Клинические испытания иверлонга 2 при смешанных гельминтозах проводили в СПК «Новомарьевский» Шпаковского района на 15 ягнятах в июне – августе 2014 года. Были сформированы и помечены краской две группы опытных животных и контрольная группа (по 5 животных). До опыта и через 30 и 60 суток от всех овец брали пробы фекалий для копроовоскопических исследований. Препарат иверлонг-2 (образец 4) вводили овцам опытных групп подкожно в дозах соответственно: 1,0 и 1,5 мл на 10 кг массы тела. Овцам контрольной группы внутрь задали препарат монизен в дозе 1 мл/10 кг массы тела. Копроовоскопию проводили в день начала опыта, затем на 30- и 60-е сутки.

2.4 Супрамолекулярный комплекс никломек, исследование фармако-токсикологических свойств и эффективности

В рамках совместной работы с доктором технических наук, ведущим научным сотрудником ФГБУН ИНЭОС РАН Халиковым С.С. был изготовлен супрамолекулярный комплекс в форме порошка на основе никлозамида, ивермектина и поливинилпирролидона (ПВП). Методом механохимической технологии в активаторах ударно-стирающего типа был разработан ряд серий препаратов. В эту работу вошли результаты исследования супрамолекулярного комплекса никломек серии №1 с содержанием в %: никлозамид 10%, ивермектин 0,05% и ПВП 89,95% и серии №2: никлозамид-20%, ивермектин-0,1%, ПВП-79,9 %. Комплекс получил рабочее название – никломек (вариант 1 и вариант 2). Эти два варианта препарата отличались друг от друга составом, способ их получения был одинаков.

Исследование размера частиц порошка комплекса никломек проводили в лаборатории «Аналит». Кроме того, исследовали образцы субстанции ивермектин и никлозамид. Исследование проведено методом лазерной дифракции с помощью лазерного дифракционного анализатора размеров частиц SALD 2300 (Shimadzu), предназначенного для определения размеров частиц в диапазоне от 17

нм до 2500 мкм с использованием программного обеспечения WingSALD. Сущность метода заключается в измерении углового распределения интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча через диспергированный образец.

Изучение фармако-токсикологических свойств препарата никломека.
Изучение острой токсичности никломека (вариант №1 (никлозамид 10%, ивермектин 0,05%, ПВП 89,95%), вариант №2 (никлозамид 20%, ивермектин 0,1 %, ПВП–79,9%)) провели на 66 белых мышах весом 21–23 г. Животных предварительно выдерживали на 15-дневном карантине. В опытные и контрольные группы взяли по 6 мышей. За животными вели наблюдение в течение двух недель после введения препарата, отмечая сроки гибели или выздоровления животных. Учитывали общее состояние животных, сохранение двигательных функций, аппетита, состояние шерстного покрова, дыхания, реакцию на внешние раздражители, состояние слизистых. При изучении острой токсичности варианта №1 были испытаны дозы 8,0; 10,0; 12,0; 14,0 и 16,0 г/кг массы тела животного. Объем вводимой 27,7% суспензии на мышь массой 20 г составил 0,56 мл; 0,70 мл; 0,87 мл; 1 мл и 1,2 мл соответственно. В опыте изучения варианта № 2 были испытаны дозы 8, 0; 10,0; 12,0; 14, 0 г/кг массы тела. Животным вводили 17,2% суспензию никломека. Все дозы из-за большого объема вводились дробно с интервалом 30 минут. В контрольных группах животным вводили воду в таком же объеме.

Исследование субхронической токсичности никломека (вариант 1) проводили на 30 белых крысах в течение 14 суток и при последующей 30-дневной отмене его введения. Были сформированы две опытные и одна контрольная группы крыс по 10 животных в каждой. Для изучения субхронической токсичности препарата испытали 2 дозы – в первой группе 1/10 от LD₅₀ (1,27 г/кг), во второй – 1/100 от LD₅₀ (0,1 г/кг) при ежедневном приеме в течение 14 суток. На протяжении опыта животных обследовали на 14 -, 35 - и 44-й день после введения препарата. При этом использовали интегральные и специфические показатели. В качестве интегральных показателей были взяты – поведенческие реакции, оценка

периферической крови, весовые коэффициенты внутренних органов; в качестве специфических показателей оценивали функциональное состояние центральной нервной системы, печени, почек.

Для регистрации поведенческих реакций использовались показатели динамической и статистической работоспособности животных [139].

Определение «вертикального» двигательного компонента ориентировочной реакции основано на подсчете количества вставаний животных на задние лапы (вертикальных стоек крыс) в ограниченном пространстве (в манеже) за 3 минуты. При работе с крысами размеры установки, следующие: высота 400 мм, диаметр 200 мм. После каждого животного дно тщательно протирали. Указанный метод может служить объективным интегральным показателем общего состояния животных. Имеются данные о высокой чувствительности данной реакции для крыс [49].

Для оценки статической мышечной работоспособности применяли метод удерживания животных на горизонтальном стержне. Учитывалась длительность пребывания животного на стержне.

Состояние периферической крови оценивали, определяя количество гемоглобина, лейкоцитов, эритроцитов

Кровь для исследования указанных гематологических показателей брали из хвостовой вены белых крыс. Забор крови у животных осуществлялся после 14–15-часового голодания в одно и то же время суток (9.00–11.00).

Влияние препарата на печень оценивали по изучению биохимических показателей крови (белок, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), глюкоза.

Функциональное состояние почек проводилось по комплексу методов: измерялся диурез, определялся удельный вес мочи, содержание мочевины, креатинина в сыворотке крови.

На 14 - и 44-й день опыта проводили декапитацию крыс по 5 животных в каждой группе. Определяли у них коэффициенты массы тела, внутренних

органов. Оставшихся животных опытных и контрольной группы декапитировали в последний день опыта.

Данные, полученные в эксперименте, необходимы для оценки повреждающего действия никломека при его 14-дневном введении, на наиболее чувствительные органы и системы организма животного, а также для выявления обратимости вызванных повреждений.

Местно-раздражающее действие препарата изучали методом накожной аппликации 10 кроликам массой 3,28–4,16 кг (схема опыта аналогична иверлонг 2). Никломек (вариант №1) в виде 27,7% суспензии наносили на правый бок (на предварительно выстриженный участок) кролика в дозе 1 мл на 1 кг массы тела. Выстриженный участок на левом боку служил контролем, на него наносили воду. За животными наблюдали ежедневно, учитывали состояние кожи на выстриженных участках, клиническое состояние, потребление корма и воды.

Изучение эффективности действия никломека на модели *Hymenolepis nana* и *Trichinella spiralis* провели в условиях вивария (ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН). Опыт был проведен на 24 мышах (по 6 животных в группе), экспериментально инвазированных *Hymenolepis nana*. Учет эффективности никломека проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных цестод и интенсэффективности препарата. Изучение нематодоцидной активности никломека проводили на 20 мышах (по 5 животных в группе), экспериментально инвазированных *Trichinella spiralis* в дозе 200 личинок на животное. Мышей заражали путем введения суспензии с личинками в желудок с помощью шприца с канюлей. Нематодоцидную активность учитывали по результатам гельминтологического вскрытия кишечника мышей. Учет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных нематод и интенсэффективности.

Эффективность никломека при гельминтозах овец изучали на 227 овцах в Центральном, Приволжском и Северо-Западном федеральных округах. В производственных условиях испытали никломек (вариант №1), содержащий

никлозамид 10%, ивермектин 0,05% и ПВП 89,95%. Препарат задавали спонтанно инвазированным овцам внутрь однократно, в форме порошка и суспензии. Доза, которую получали опытные животные по действующим веществам, не зависимо от лекарственной формы препарата, была одинакова. Овцы контрольных групп лекарственных препаратов не получали. Перед началом экспериментов и по их завершении проводили копроовоскопию.

Первый опыт проведен в июле 2016 года в хозяйстве «Красный Путь» Пестравского района Самарской области. В эксперимент по изучению эффективности препарата против мониезиоза взяли 21 овцу. Животных разделили на 3 группы: 1-й группе (6 овец) вводили никломек суспензию в дозе 1 мл/кг, 2-й группе (5 овец) задавали никломек (порошок) в дозе 0,2 г/кг, овцы 3-й группы (10 животных) препарат не получали и служили контролем.

В этом же хозяйстве провели испытание эффективности никломека при стронгилятозах овец. В опыт взяли 26 ягнят. Животным 1-й группы (7 ягнят) вводили никломек суспензию в дозе 1 мл/кг, животным 2-й группы (7 ягнят) задавали никломек порошок в дозе 0,2 г/кг, 12 ягнят из 3-й группы служили контролем. Копроовоскопические исследования проводили до и через 18 суток после дегельминтизации, по их результатам определяли эффективность обработки. Учет эффективности никломека проводили по типу «критический и контрольный тест» с расчетом среднего количества обнаруженных яиц гельминтов в 1 г фекалий.

Третий опыт провели в ООО «Агроресурс» этого же района Самарской области на 61-й овце породы кавказский меринос в возрасте 10–16 месяцев. Для определения эффективности никломека при желудочно-кишечных стронгилятозах сформировали две опытные и одну контрольную группу по 15 животных в каждой. Для изучения эффективности препарата при мониезиозе сформировали две опытные группы: первая (6 животных), обработанная порошком, и вторая (5 ягнят), получившая препарат в виде суспензии и одну контрольную группу (5 ягнят). Учет полученных результатов проводили через 14 суток после дегельминтизации животных. Препарат задавали овцам однократно, порошок в

дозе 0,2 г/кг, суспензию – 1,0 мл/кг массы тела животного. Овцы контрольных групп антигельминтик не получали.

Четвертый опыт по изучению эффективности никломека при нематодозах и цестодозах овец провели в КФХ «Меерис» Славского района Калининградской области в ноябре – декабре 2017 года. В этом опыте испытывали никломек в форме суспензии. Под опыт взяли 40 овец в возрасте от 6 месяцев до 3 лет, массой 18–45 кг. Животных разделили на опытную и контрольную группы по 20 овец. Провели копроовоскопию всех животных в первый день опыта (до обработки) и на 14-е сутки после начала опыта.

Пятый эксперимент был проведен на базе Подольского отдела ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН (пос. Курилово Подольского района Московской области). В этом опыте провели сравнительное испытание эффективности суспензий никломека в дозах по действующему веществу (ивермектину) 0,05 мг/кг и 0,1 мг/кг с чистой субстанцией ивермектина в дозе 0,05 мг/кг при стронгилятозах овец. Животных разделили на 2 опытные группы (по 10 овец) и одну контрольную (по 9 животных). Зараженность овец гельминтами определяли в день начала эксперимента, до дегельминтизации и через 14 суток после введения препаратов.

Шестой опыт поставили в 2017 году в Мценском районе Орловской области в ЛПХ «Мстоян Ф.З.» где провели сравнительные испытания терапевтической эффективности препарата никломек в форме порошка и препарата сравнения альвет 10% при цестодозах и нематодозах овец.

Сформировали две опытные (по 20 животных) и одну контрольную группу овец (10 животных). В этот же день с диагностической целью отобрали пробы фекалий. На следующий день овец первой опытной группы обработали препаратом никломек в дозе 0,2 г/кг. Овцам второй опытной группы задали препарат сравнения альвет 10% в дозе, согласно утвержденной инструкции по его применению (0,5 мл/10кг). Овец контрольной группы не обрабатывали.

2.5 Фармако-токсикологическая характеристика и изучение противопаразитарной эффективности монизен форте

Монизен форте относится к группе комбинированных противопаразитарных лекарственных препаратов. Средство содержит в качестве действующих веществ в 1 мл: ивермектин – 5 мг и празиквантел – 60 мг, в качестве вспомогательных веществ: спирт бензиловый, метилпирролидон и пропиленгликоль. Препарат разработан и выпускается в двух лекарственных формах: раствор для перорального и раствор для парентерального введения.

Изучение острой токсичности препарата монизен форте провели на 152 белых мышах массой 18–20г, возрастом 2–2,5 месяца. Изучили острую токсичность препарата при подкожном и пероральном введении мышам. Препарат разводили водой для инъекций при подкожном и внутрижелудочном введении (для достижения адекватных объемов введения). Для проведения эксперимента по подкожному введению препарата сформировали десять опытных и одну контрольную группы по 10 животных в каждой. Препарат вводили подкожно мышам в дозах 1800; 1900; 2000; 2100; 2200; 2300; 2400; 2500; 2600 и 2700 мг/кг по лекарственной форме. Мышам контрольных групп вводили вводу для инъекций 0,2 мл. Для оценки пероральной токсичности монизен форте сформировали 6 опытных и одну контрольную группу (по 6 мышей в каждой). Препарат вводили в желудок мышам с помощью желудочного зонда. Белым мышам внутрижелудочно вводили монизен форте в дозах (по лекарственной форме): 300, 500, 800, 1000, 1500 и 2000 мг/кг. Мышам контрольной группы вводили однократно внутрижелудочно 0,2 мл воды для инъекций. На 1-, 3-, 7- и 14-й дни после введения препарата фиксировали общее состояние и поведение животных, аппетит, сохранение двигательных функций, координацию движений, реакцию на звуковые раздражители, состояние слизистых и шерстного покрова, определяли относительный привес. Павших мышей вскрывали и подвергали макроскопическому исследованию.

На 14-е сутки после введения препарата проводили убой лабораторных животных ингаляцией эфира. Пробит-анализом определяли значения LD₅₀ и

других значений острого токсического действия монизена форте. Органы, извлеченные при некропии, взвешивали влажными, парные органы взвешивали вместе. Расчет массовых коэффициентов проводили по формуле

$$MK = \text{Масса органа (г)} / \text{масса тела (г)} * 100\%.$$

Оценку кумулятивных свойств препарата монизен форте при его пероральном введении провели на 20 белых нелинейных мышах, самцах, массой 18–20 г 2–2,5-месячного возраста. Определяли индекс кумуляции монизена форте (отношение ЛД₅₀ при однократном введении к ЛД₅₀ при кратном введении) по Lim R.K. (1961). Было сформировано две группы (опытная и контрольная), каждая по 10 животных. Опытной группе препарат вводили внутривентрикулярно один раз в день в соответствии со схемой опыта, в дозах от 0,1 ЛД₅₀ до 1,12 ЛД₅₀. Мышам контрольной группы вводили внутривентрикулярно 0,2 мл воды для инъекций. Продолжительность эксперимента составила 28 дней. Схема эксперимента указана в таблице 7.

Таблица 7 - Схема эксперимента

День эксперимента	Количество животных в опыте	Ежедневно-вводимая доза, мг/кг
1-4	10	95,38
5-8	10	143,07
9-12	10	214,60
13-16	10	321,9
17-20	10	482,85
21-24	10	724,27
24-28	10	1086,40

Субхроническую токсичность препарата монизен форте изучали при его подкожном введении самцам крыс в течение 7 дней. В эксперимент взяли 45 беспородных крыс самцов массой 200–230 г, двух-трехмесячного возраста. С целью подкожного введения препарата крысам для достижения адекватных объемов препарат разводили 0,9%-ным раствором натрия хлорида. Дозу для лабораторных крыс рассчитывали согласно результатам, полученным при исследовании острой токсичности препарата. Дозу ЛД₅₀ для крыс рассчитывали согласно межвидовому переносу доз. Так, ЛД₅₀ для мыши массой 20 г составила

2524±91,5 мг/кг. Для крысы массой 200 г дозу ЛД₅₀ рассчитывали по формуле 2524 x 3 (коэффициент для мыши) / 6,5 (коэффициент для крысы) = 1165 мг/кг. Таким образом, при расчёте на массу крысы доза ЛД₅₀ составила 1165 мг/кг массы тела по лекарственной форме.

Крысам препарат вводили в дозах по лекарственной форме. Для проведения опыта сформировали три группы крыс по 15 животных в каждой. Животным 1-й опытной группы ежедневно подкожно в течение 7 суток вводили препарат в дозе 116,5 мг/кг, что соответствовало 1/10 ЛД₅₀; 2-й группе — 11,65 мг/кг, что соответствовало 1/100 от ЛД₅₀. Животным контрольной группы вводили 0,9%-ный раствор натрия хлорида в дозе 0,1 мл/кг.

На протяжении опыта животных обследовали на 7-, 22- и 37-е сутки после введения препарата, при этом использовали интегральные и специфические показатели, аналогичные в субхроническом эксперименте никломека.

Состояние периферической крови оценивали с помощью общепринятых методик. Определяли количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, гематокрит.

Влияние препарата на печень оценивали по изучению биохимических показателей крови (белок, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ)).

Функциональное состояние почек проводилось по комплексу методов: определялся удельный вес мочи, содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови, содержание белка, рН мочи.

На 7-, 22-, 37-е сутки эксперимента проводили декапитацию крыс по 5 животных в каждой группе. Определяли у них коэффициент массы тела, внутренних органов.

Оценку местно – раздражающего, алергизирующего действия препарата монизен форте проводили на кроликах 5-6-месячного возраста массой 2,5 – 3,5 кг методом накожных аппликаций в течение 20 суток и при последующей 14-дневной отмене аппликаций [85]. В первую опытную группу взяли 10 кроликов для испытания местно-раздражающего действия на кожу, а во

вторую 5 кроликов для проведения испытаний раздражающего действия на слизистую оболочку глаза. Кроликам первой опытной группы накожно 1 раз в день в течение 20 суток с экспозицией 4 часа наносили на правый бок в нативном виде препарат монизен форте в дозе 1 мл/кг массы тела животного, им же на левый бок наносили в этой же дозе физраствор. После завершения опыта вели наблюдение за животными еще в течение 14 дней. Кроликам второй опытной группы глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко в правый глаз однократно вводили в конъюнктивальную полость монизен форте в дозах 0,02–0,05 мл/животное, в левый глаз им вводили в этой же дозе физиологический раствор.

Иммунотоксичность препарата монизен форте оценивали, используя тот же метод, что и при изучении иверлонга 2. Для оценки Т-клеточного звена иммунитета использовали 30 мышей-самцов массой 18–20 г, их разделили на три группы по 10 животных в каждой. Препарат вводили мышам первой группы в дозе 1/10 ЛД₅₀ (252,4 мг/кг). Животным второй опытной группы препарат ввели в дозе 1/100 ЛД₅₀ или 25,24 мг/кг, а мышам контрольной группы в тех же объёмах вводили воду для инъекций. Монизен форте использовали в нативном виде однократно внутривенно. Влияние введения препарата на гуморальный иммунный ответ изучали путем определения числа антителообразующих клеток после иммунизации 30 мышей-самцов массой 18–20 г эритроцитами барана.

Изучение переносимости монизен форте при его подкожном введении овцам в терапевтических и повышенных дозах провели в Петровском районе Саратовской области на 24 клинически здоровых овцах (в возрасте 3-4 месяцев массой от 25 до 30 кг). Сформировали три опытные и одну контрольную группу овец по шесть овец в каждой. Животным опытных групп подкожно в область холки вводили препарат один раз в день 7 дней подряд. Первая группа животных получала 1 мл на 20 кг (терапевтическая доза), вторая группа – 2 мл на 20 кг, третья группа – 3 мл на 20 кг. Овцам контрольной группы вводили воду для инъекций в дозе 3 мл на 20 кг в течение 7 дней. В течение всего опыта регулярно проводили клинический осмотр овец (на 1-, 7-, 14-, 21- и 37-е сутки после

введения препарата). Пробы крови от животных отбирали до введения, через 7 и 37 суток после 7-дневного введения препарата. Определяли количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов.

Изучение терапевтической эффективности монизен форте проводили на спонтанно инвазированных овцах. Овец опытных групп обрабатывали подкожно и перорально в дозах: при нематодозах и цестодозах – 1 мл/20 кг; при трематодозах – 1 мл/15 кг однократно; при эктопаразитах – 1 мл/20 кг массы тела животного – двукратно с интервалом в 14 суток. Каждое животное в группах имело индивидуальную бирку или цветную метку. Всего в экспериментах было задействовано 307 овец. Животные находились на пастбищно-выгульном содержании, их распределяли на опытные и контрольные группы по принципу аналогов с учетом возраста и массы. Перед началом опыта, а также после дегельминтизации монизеном форте проводили копрооволарвоскопические исследования. При парентеральном введении монизен форте использовали в нативном виде, а при пероральном применении – индивидуально в нативном виде, групповым способом – с зерном или питьевой водой, обработку животных и оценку эффективности проводили по той же методике, которую применяли при обработке овец иверсаном (описана выше). Животным контрольных групп противопаразитарные препараты не вводили.

Изучение эффективности монизена форте при пероральном приеме проводили в сентябре 2017 года в Орловской области в ЛПХ «Мстоян Ф.З.». Для сравнительных испытаний эффективности препарата монизен форте (для перорального применения) и препарата сравнения альвет (10%) при цестодозах и нематодозах овец сформировали две опытные (по 20 животных) и одну контрольную группу овец (10 животных). Перед началом опыта индивидуально от овец опытных групп отобрали пробы фекалий и провели исследование с помощью копроовоскопических (по Фюллеборну) и ларвоскопических (по Берману-Орлову) методов. Личинок диктиокаулюсов верифицировали путем окрашивания метиленовым синим и по наличию пуговчатого утолщения на переднем конце. За день до начала эксперимента владельцем хозяйства был произведен убой

баранчика в возрасте 9 месяцев. При вскрытии тонкого отдела кишечника были обнаружены плоские, длинные, жёлто-белого цвета гельминты (мониезии). Препаратом монизен форте, в дозе 1 мл на 20 кг массы тела животного, обработали овец первой опытной группы однократно перорально из шприца-дозатора индивидуально утром натощак. Овцам второй опытной группы этим же методом задали препарат сравнения альвет (10%) в дозе, согласно утвержденной инструкции по его применению. На 10-й день определяли эффективность путем исследования проб фекалий овец всех групп.

В августе 2017 года в Курской области Курском районе (посёлок Камыши) провели изучение эффективности препарата монизен форте на 32 зараженных гельминтозами (мониезиоз, стронгилятозы пищеварительного тракта, диктиокаулез, трихоцефалез, дикроцелиоз) и энтомозами (мелофагоз, бовиколез) овцах в возрасте от 6 месяцев до 3 лет. Были сформированы 2 группы – опытная (22 животных) и контрольная (10 животных). У овец опытной и контрольной групп отобрали пробы фекалий для копроскопического исследования на гельминтозы. Всех овец осмотрели на наличие эктопаразитов. Овец опытной группы дегельминтизировали групповым способом однократно, скормив им зерно с препаратом монизен форте в дозе 1 мл/20 кг. Кормолекарственную смесь готовили по описанной выше методике.

Через 2 недели после обработки монизеном форте у овец опытной и контрольной групп отобрали пробы фекалий и исследовали всех овец на предмет наличия эктопаразитов. Утром этого же дня кормолекарственной смесью были обработаны все овцы опытной (повторно) и контрольной (первично) группы. Через 30 дней после первой обработки и через 15 дней после второй обработки овец опытной группы осмотрели на наличие эктопаразитов: кровососок и власоедов.

Фармакокинетику и динамику выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела из организма овец, а также динамику выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела с молоком у коз изучали при введении монизен форте в терапевтической дозе 1 мл/15 кг массы. Для изучения

фармакокинетики ивермектина и празиквантела сформировали опытную группу из 6 овец, масса животных на начало опыта составляла 50–55 кг. Овцам опытной группы однократно ввели монизен форте подкожно в дозе 1 мл на 15 кг массы тела. Пробы крови для анализа отбирали и хранили по описанной выше методике у всех овец опытной группы до применения препарата (контрольные пробы) и через 4, 12, 24 часа, 2, 4, 7, 10, 15 и 28 суток после применения. Отклонений в физиологическом состоянии овец во время проведения опыта не отмечали.

Для исследования динамики выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела из органов и тканей была сформирована группа из 13 овец, масса животных на начало опыта составляла 50–55 кг. Одно животное было использовано как контрольное, от него были отобраны пробы тканей до введения препарата. Далее 12 овцам ввели монизен форте двукратно (с интервалом 14 суток), подкожно в терапевтической дозе 1 мл/15 кг массы животного. Из этих животных убой 6 овец был произведен спустя 30 суток после второго введения препарата, убой еще 6 овец – спустя 35 суток после второго введения препарата. От животных были отобраны пробы органов и тканей (мышечная ткань, мышечная ткань с места инъекции, печень, сердце, легкие, селезенка, сальниковый жир) для последующего анализа.

Для изучения динамики выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела с молоком была сформирована группа из 5 коз русской белой породы, масса животных на начало опыта составляла 50–55 кг. Козам вводили лекарственный препарат монизен форте двукратно (с интервалом 14 суток), подкожно в терапевтической дозе 1 мл/15 кг массы животного. Через определенные интервалы времени – до введения, через 12, 24 часа, 2, 4, 7 и 10 суток после последнего введения препарата у коз были отобраны образцы молока для последующего анализа.

Для определения ивермектина в органах и тканях использовали метод HPLC-FLD. В основе метода определения ивермектина в органах и тканях – гомогенизация образцов органов и тканей, селективная экстракция из гомогенатов этилацетатом, дериватизация, элюирование в изократическом режиме с

использованием хроматографической колонки Luna C18 (2) (100 Å, 5 µm), а также флуоресцентное детектирование при $\lambda_{\text{ex.}} = 365 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em.}} = 480 \text{ nm}$.

С целью определения празиквантела в органах и тканях использовали метод HPLC-UV. В основе метода определения празиквантела в органах и тканях – гомогенизация образцов органов и тканей в присутствии раствора гидроокиси натрия и калий-фосфатного буфера, экстракция из образцов при помощи SPE-картриджей и элюирование в изократическом режиме при использовании хроматографической колонки Supelcosil LC-18-DB (5 µm) и ультрафиолетовым детектированием при $\lambda = 215 \text{ nm}$. Используемые в этом эксперименте методики определения ивермектина и празиквантела в органах и тканях подробно описаны в предыдущих разделах.

Эффективность монизена форте при его парентеральном введении изучали в Курской области в Горшеченском районе (ООО «Средние Апочки»). Перед проведением эксперимента у 50 клинически здоровых молодых овец отобрали фекалии и исследовали их. В эксперимент взяли 23 овцы, разделив их на опытную (13 животных) и контрольную (10 животных) группы. Овцам опытной группы подкожно в нижнюю треть внутренней поверхности бедра ввели монизен форте в дозе 1 мл/20кг. Через две недели после дегельминтизации у овец опытной и контрольной групп индивидуально отобрали пробы фекалий, и исследовали их методом флотации.

В Рязанской области (Михайловский район) в 2016 году провели опыт в ООО «Агротехпроизводство». Овец романовской породы по принципу аналогов разделили на две группы: опытная – 50 животных, и контрольная – 10 животных. Препарат монизен форте в форме раствора для инъекций применяли в дозе 1 мл на 20 кг овцам однократно подкожно (предлопаточная область). Овец из контрольной группы противопаразитарными препаратами не обрабатывали. Перед проведением опыта и по его завершении (через 12 суток) фекалии от овец опытной и контрольной групп исследовали с помощью копроовоскопических и ларвоскопических методов.

На племзаводе ООО «Авангард» (отделение «Хирино») Рязанского района

Рязанской области на 82 овцах романовской породы также изучили эффективность монизена форте при стронгилоидозе, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и мелофагозе. Взрослые овцы романовской породы были распределены на две опытные группы по 36 животных в каждой и одну контрольную – 10 овец. При проведении исследований до начала опытов провели клиническое обследование животных, оценивали общее состояние, температуру тела (выборочно), аппетит, двигательную активность, провели копроовоскопические и ларвоскопические исследования от овец опытных и контрольной групп. Монизен форте раствор для инъекций применяли животным опытных групп однократно подкожно в дозе 1 мл на 20 кг массы тела. Овцы из контрольной группы антигельминтиков не получали. Животным контрольной группы монизен форте в вышеуказанной дозе ввели после завершения опыта. При обследовании животных до и после применения монизена форте (через 14 суток после дегельминтизации) учитывали результаты лабораторных исследований.

В декабре 2017 – январе 2018 года были проведены исследования эффективности препарата монизен форте в Калининградской области (Славский район). В эксперименте были задействованы 60 овец (1 опытная и 1 контрольная группы по 30 овец в каждой). Животных опытной и контрольной групп помечали с помощью номерных бирок. Перед дегельминтизацией определили зараженность овец в опытной и контрольной группах нематодами, цестодами, трематодами (копроовоскопическим методом). На следующий день овцам из опытной группы однократно внутримышечно ввели препарат в дозе 1 мл на 15 кг массы животного. Овцам контрольной группы противопаразитарные препараты не вводили. На 18-й день эксперимента (5 января 2018 г.) провели исследование фекалий овец опытной и контрольной групп. Оценивали эффективность обработки по результатам исследования проб фекалий до и через 18 суток после введения препарата овцам опытной группы. Из первой опытной и контрольной группы овец через 18 суток после введения препарата монизен форте было убито по три особи животных с целью проведения гельминтологического вскрытия.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Фармако-токсикологические свойства, фармакокинетика и сроки выведения ивермектина из организма овец после применения иверсана

Иверсан противопаразитарное средство для перорального применения, предназначенное для борьбы с нематодозами и арахноэнтомозами сельскохозяйственных животных. Иверсан в качестве действующего вещества содержит 4% ивермектина, а также вспомогательные вещества: витамин Е, полиэтиленгликоль сукцинат, полиэтиленгликоль-400.

3.1.1 Переносимость лекарственного препарата иверсан овцами

Иверсан испытывали в терапевтической и трехкратной терапевтической дозах, задавали его овцам индивидуально с водой двукратно с интервалом 14 суток. В течение опыта (28 суток) при ежедневном осмотре животных всех групп не наблюдали никаких клинических изменений в поведении овец, также не было замечено изменений общего состояния, двигательной активности и изменения их аппетита. Результаты исследований показали, что в течение опыта внешних признаков интоксикации у животных не отмечалось. Все животные опытных групп были активными. Реакция на внешние раздражители была сохранена. В течение 28 дней эксперимента определяли прирост массы подопытных животных, изучали гематологические и биохимические показатели. Данные по привесам ягнят после однократного введения препарата иверсан в терапевтической и повышенной дозах отражены в таблице 8.

Таблица 8 - Динамика привесов ягнят после введения препарата иверсан в терапевтической и повышенной дозах ($P > 0,05$)

№ группы	Масса (кг) после введения через (суток)			Среднесуточный привес за 28 дней, г
	0	14	28	
1	26,6±1,4	28,4±2,9	34,2±4,4	273,7±103,7
2	26,8±0,9	28,5±1,5	35,3±2,9	327,8±86,6
3 (контрольная)	26,9±2,14	30,2±2,95	35,8±2,03	316,7±61,08

Анализируя данные, представленные в таблице 8, видно, что среднесуточный привес животных подопытных групп, которым вводили иверсан в терапевтической и 3-кратной терапевтической дозах, не имел достоверных отличий от интенсивности роста животных контрольной группы. Все ягнята опытных групп, получавшие лекарственный препарат иверсан, и ягнята контрольной группы, не получавшие препарат иверсан, постепенно увеличивали массу. Установлено, что препарат иверсан не оказывает отрицательного влияния на привесы ягнят.

Влияние орального введения препарата иверсан на показатели состояния периферической крови оценивали по морфологическому составу клеток крови и уровню гемоглобина. Результаты исследований представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Гематологические показатели овец при оральном введении препарата иверсан в терапевтической и в три раза увеличенной дозе, двукратно с интервалом 14 суток ($P > 0,05$)

Показатели	Ед. Изм.	День эксперимента								
		За 24 часа до эксперимента			Через 14 суток			Через 28 суток		
		1 опыт.	2 опыт.		1 опыт.	2 опыт.	контр.	1 опыт.	2 опыт.	контр.
Лейкоциты	$\times 10^9$ /л	8,4± 1,3	10,1± 2,04	9,5± 1,3	8,5± 1,4	8,6± 0,9	10,3± 3,1	8±1,1	9,8± 0,2	8,4± 2,2
Лимфоциты	$\times 10^9$ /л	4,1± 1,5	6,4± 2,2	4,5± 1,8	6,0± 1,1	5,7± 0,6	6,0± 2,7	5,3± 1,3	6,5± 0,4	5,5± 1,2
Эритроциты	$\times 10^{11}$ /л	9,7± 1,0	10,1± 0,6	10,4± 0,9	9,4± 1,3	10,7± 0,9	10,1± 1,4	11,5± 1,4	10,6± 0,4	10,2± 0,9
Гемоглобин	г/л	110,9 ±6,2	90,8± 21,3	95,3± 16,4	102,1 ±4,9	101,7 ±22,2	94,2± 10,4	101,7 ±5,1	92,4± 9,8	95,2± 9,8
Гематокрит	%	36,4± 1,8	34± 4,4	35,6± 2,31	38,9± 3,9	35,8± 3,8	34,6± 3,5	35,9± 27	36,1± 3,2	37,6± 3,5
Тромбоциты	$\times 10^9$ /л	348,5 ±53,2	377,4 ±68,6	384,9 ±76,6	322,4 ±43,4	343,7 ±23,6	371,5± 48,3	314,1 ±28,8	317± 16,1	315± 83,4

В результате исследований было установлено, что морфологические показатели периферической крови (количество эритроцитов, лейкоцитов,

тромбоцитов, лимфоцитов, показатели гематокрита, уровень гемоглобина) достоверно не отличались от показателей животных контрольных групп, соответствовали физиологической норме, патологических сдвигов этих показателей не наблюдалось.

У животных также проведен анализ биохимических показателей крови. Результаты исследований представлены в таблице 10.

Таблица 10 - Биохимические показатели сыворотки крови овец при введении иверсана в терапевтической и в три раза увеличенной дозе, двукратно с интервалом 14 суток ($P>0,05$)

Показатели	Ед. изм.	День эксперимента								
		За 24 часа до эксперимента			Через 14 дней			Через 28 суток		
		1 опытная	2 опытная	конт роль	1 опытная	2 опытная	конт роль	1 опытная	2 опытная	конт роль
АЛТ	ед/л	30,9± 1,7	29,7± 1,6	31,3± 2,0	30,1± 1,6	38,3± 1,5	30,6± 2,7	29,2± 2,3	28,3± 2,01	31,3± 2,7
АСТ	ед/л	74,8± 7,4	76,5± 5,7	74,8± 5,8	83,3± 5,4	83,7± 5,7	75± 5,4	63,7± 5,8	67± 5,7	73,7± 4,8
Щелочная фосфатаза	ед/л	70,9± 8,7	69,8± 5,1	65,2± 7,4	79,1± 9,6	72,9± 5,7	76,5± 4,6	68,5± 6,8	70,3± 7,7	70,6± 7,4
Мочевина	ммоль/л	4,9± 0,5	5,2± 0,5	4,8± 0,4	5,1± 0,5	5,3± 0,5	5,2± 0,3	5,7± 0,5	5,9± 0,4	6,3± 0,5
Креатинин	ммоль/л	95,7± 6,8	91,4± 9,9	91,5± 8,4	86,6± 8,7	89,4± 8,9	97,6± 5,6	90,5± 10,8	92,4± 7,7	90,8± 10,6
Глюкоза	ммоль/л	3,5± 0,4	3,3± 0,5	3,1± 0,5	3,0± 0,5	3,1± 0,4	3,9± 0,4	3,0± 0,5	2,9± 0,4	3,0± 0,5
Белок общий	г/л	64,9± 6,3	68,8± 4,5	65,9± 8,8	61,2± 7,3	61,3± 4,6	63,1± 5,4	62,7± 7,9	62,6± 6,5	66,4± 8,9
Альбумин	г/л	28,7± 2,9	28,6± 2,6	30,1± 2,6	31,1± 2,9	29,8± 1,4	31,2± 3,3	29,5± 2,4	29,6± 2,6	28,7± 2,8
Глобулин	г/л	35,8± 5,3	40,3± 4,3	34,7± 8,4	39± 6,5	37,7± 4,9	40,0± 7,0	35,8± 7,91	36,9± 6,7	37,8± 11,2

В результате эксперимента также не выявлено достоверных изменений биохимических показателей крови у животных опытных и контрольной групп.

Активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, уровни мочевины, креатинина, глюкозы, содержание общего белка, альбумина и глобулина, находились в пределах физиологической нормы для данного вида и возраста животных. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии печени и почек у опытных животных.

Таким образом, можно констатировать, что побочное действие и осложнения у ягнят после применения лекарственного препарата иверсан в терапевтической и 3-кратной терапевтической дозах отсутствуют. Результаты исследований показали, что при оральном введении молодняку мелкого рогатого скота иверсана, на протяжении всего опыта внешних признаков интоксикации у животных не отмечалось. Реакция на внешние раздражители у них была сохранена. Интенсивность роста животных, которым выпаивали исследуемый препарат в терапевтической и 3-кратной терапевтической дозах не имела достоверных отличий от контрольных животных и соответствовала породным критериям. При анализе морфологического состава периферической крови опытных и контрольной групп установлено его соответствие физиологической норме. Патологических сдвигов показателей не наблюдалось. Изменений биохимических показателей сыворотки крови у овец опытной и контрольной группы в ходе эксперимента не выявлено. Все биохимические показатели соответствовали физиологическим критериям. Эти данные свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени у опытных животных.

3.1.2 Фармакокинетика и сроки выведения ивермектина из молока коз, органов и тканей овец после применения иверсана

Результаты исследования калибровочных растворов ивермектина по сыворотке крови отражены в таблице 11 и на рисунках 11 и 12. Анализ биосубстратов от животных был разделен во времени. Проводили анализ каждой временной точки начиная с «нулевой». Между каждой временной точкой

проводился анализ мобильной фазы.

Таблица 11 - Данные калибровки ивермектина в растворах стандартного образца и в сыворотке крови

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank»-образец со стандартом	
200	0,973491	0,869814	89,35
100	0,486125	0,418165	86,02
50	0,240177	0,221851	92,37
10	0,049035	0,041278	84,18
	\bar{S}		87,9800
	CV, %		4,120711
	ДИ, ±		3,552828

Средняя степень извлечения аналита из сыворотки крови составила в этом опыте 87,98%.

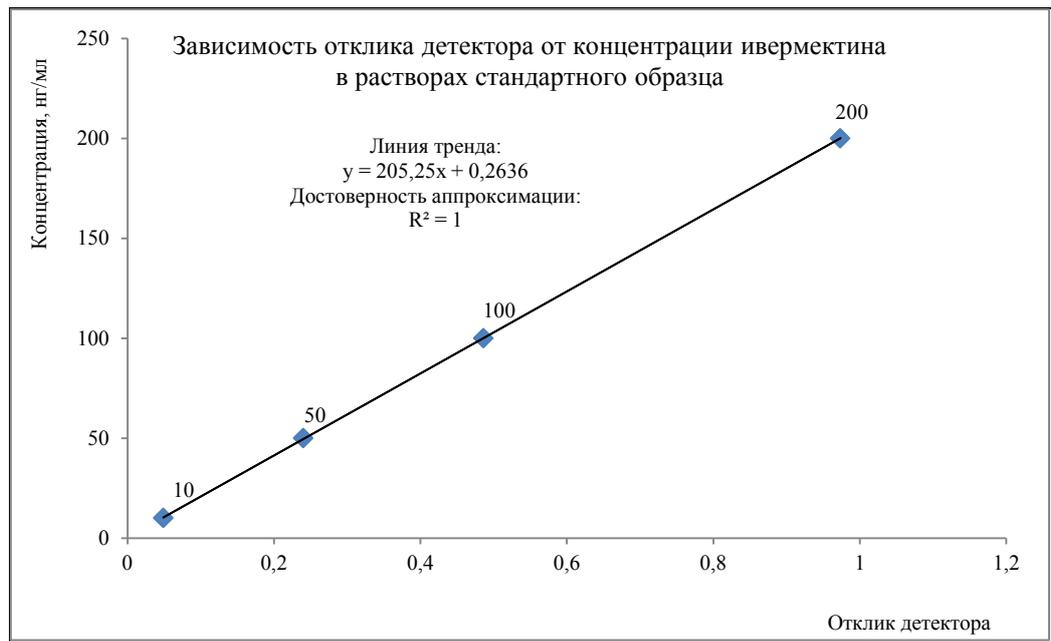


Рисунок 11 - Калибровка ивермектина в растворах стандартного образца
 Тип функции - линейная: $y=205,25x+0,2636$ ($R^2=1$).



Рисунок 12 - Калибровка ивермектина в сыворотке крови.

Тип функции – линейная: $y=230,22x+0,7264$ ($R^2=0,9993$).

Полученные результаты анализа калибровочных растворов ивермектина в растворах стандартного образца и в молоке приведены в таблице 12, результаты анализа калибровочного раствора в молоке отражены на рисунке 13.

Таблица 12 - Данные калибровки ивермектина в растворах стандартного образца и молоке

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank»-образец со стандартом	
200	0,973491	0,809263	83,13
100	0,486125	0,41447	85,26
50	0,240177	0,19572	81,49
10	0,049035	0,039537	80,63
	\bar{S}		82,6275
	CV, %		2,467099
	ДИ, ±		1,997696

Средняя степень извлечения аналита в этом опыте составила 82,63%.

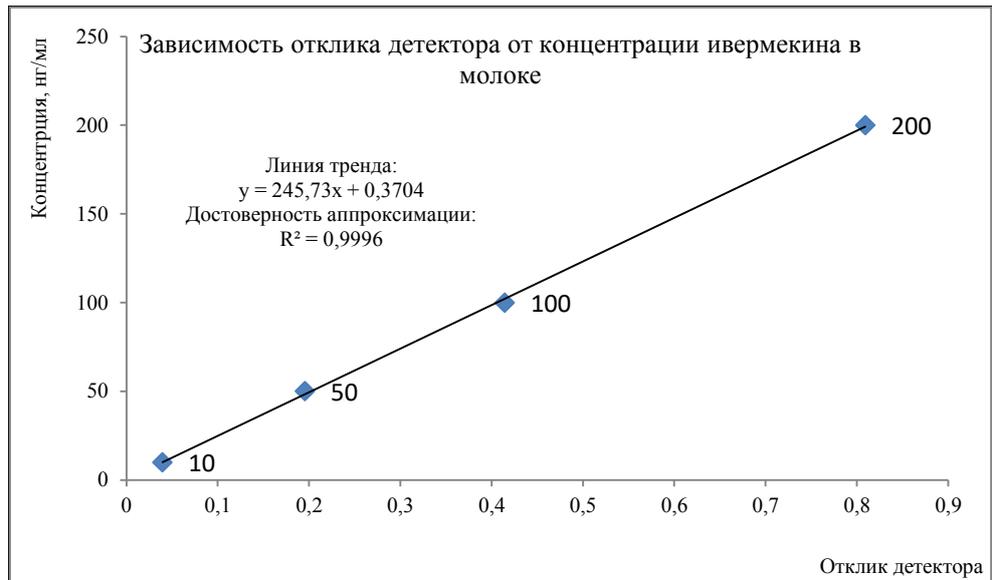


Рисунок 13 - Результат калибровки ивермекина в молоке
 Тип функции – линейная: $y=245,73x+0,3704$ ($R^2=0,9996$).

Результаты анализа калибровочных растворов ивермекина по образцам органов и тканей представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Данные калибровки ивермекина в растворах стандартного образца и экстрактах из органов и тканей

Концентрация, нг/г	Отклик детектора		Степень извлечения, %
	стандарт	«blank»-образец со стандартом	
Печень			
200	0,973491	0,966774	99,31
100	0,486125	0,458319	94,28
50	0,240177	0,224710	93,56
10	0,049035	0,042043	85,74
	\bar{S}		93,223
	$CV, \%$		6,01
	$ДИ, \pm$		5,493662
Почки			
200	0,973491	0,938348	96,39
100	0,486125	0,465367	95,73
50	0,240177	0,217744	90,66
10	0,049035	0,043783	89,29
	\bar{S}		93,018
	$CV, \%$		3,84
	$ДИ, \pm$		3,496191
Мышцы			
200	0,973491	0,954703	98,07

Продолжение таблицы 13

100	0,486125	0,491764	101,16
50	0,240177	0,231843	96,53
10	0,049035	0,045166	92,11
\bar{S}			96,968
CV, %			3,89
ДИ, ±			3,691957
Легкие			
200	0,973491	0,952269	97,82
100	0,486125	0,482479	99,25
50	0,240177	0,228552	95,16
10	0,049035	0,045333	92,45
\bar{S}			96,170
CV, %			3,12
ДИ, ±			2,943613
Сердце			
200	0,973491	0,913719	93,86
100	0,486125	0,481458	99,04
50	0,240177	0,232323	96,73
10	0,049035	0,045647	93,09
\bar{S}			95,680
CV, %			2,86
ДИ, ±			2,678574
Селезенка			
200	0,973491	0,975827	100,24
100	0,486125	0,484667	99,70
50	0,240177	0,231891	96,55
10	0,049035	0,045431	92,65
\bar{S}			97,285
CV, %			3,59
ДИ, ±			3,422355
Сальниковый жир			
200	0,973491	0,909727	93,45
100	0,486125	0,467215	96,11
50	0,240177	0,214718	89,40
10	0,049035	0,041778	85,20
\bar{S}			91,040
CV, %			5,24
ДИ, ±			4,676209

В результате было установлено, что лучше всего ивермектин экстрагируется из селезёнки, средняя степень извлечения составила 97,3%, из мышц извлекалось 97% действующего вещества, из легких – 96,17%, из сердца 95,8%, из печени – 93,22%, из почек – 93,02%. Хуже всего ивермектин извлекался из сальникового жира – 91%, что связано с высокой липофильностью ивермектина.

Результаты анализа калибровочных растворов ивермектина по образцам органов и тканей представлены на рисунках 14–20.

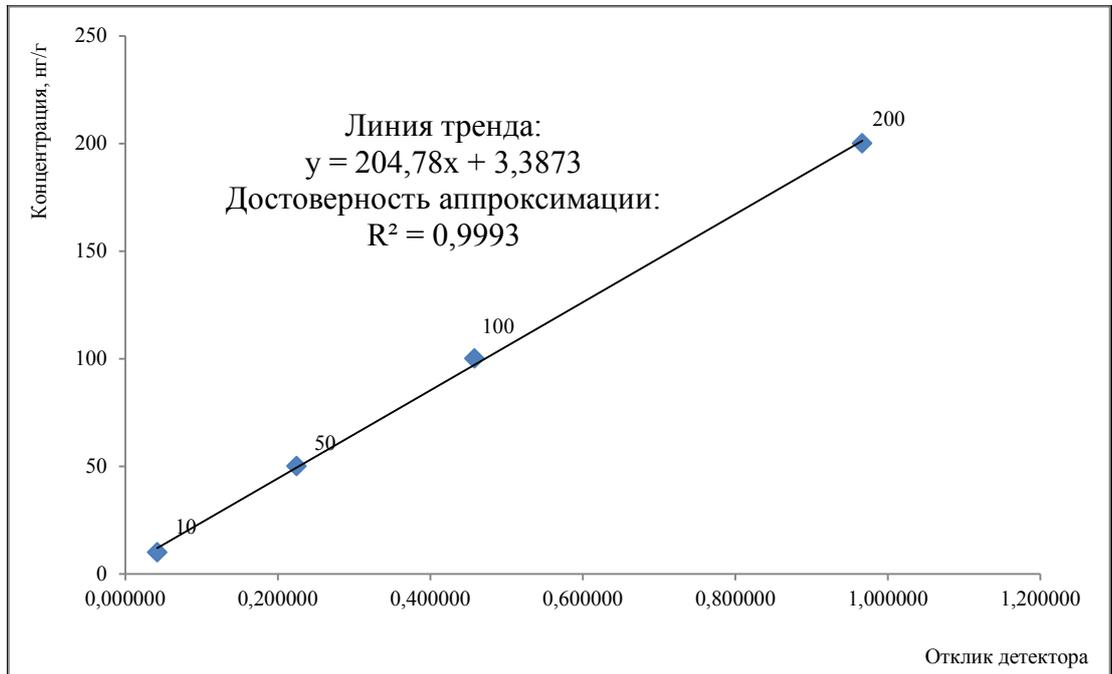


Рисунок 14 - Калибровка ивермектина в печени
 Тип функции – линейная: $y=204,78x+3,3873$ ($R^2=0,9993$).

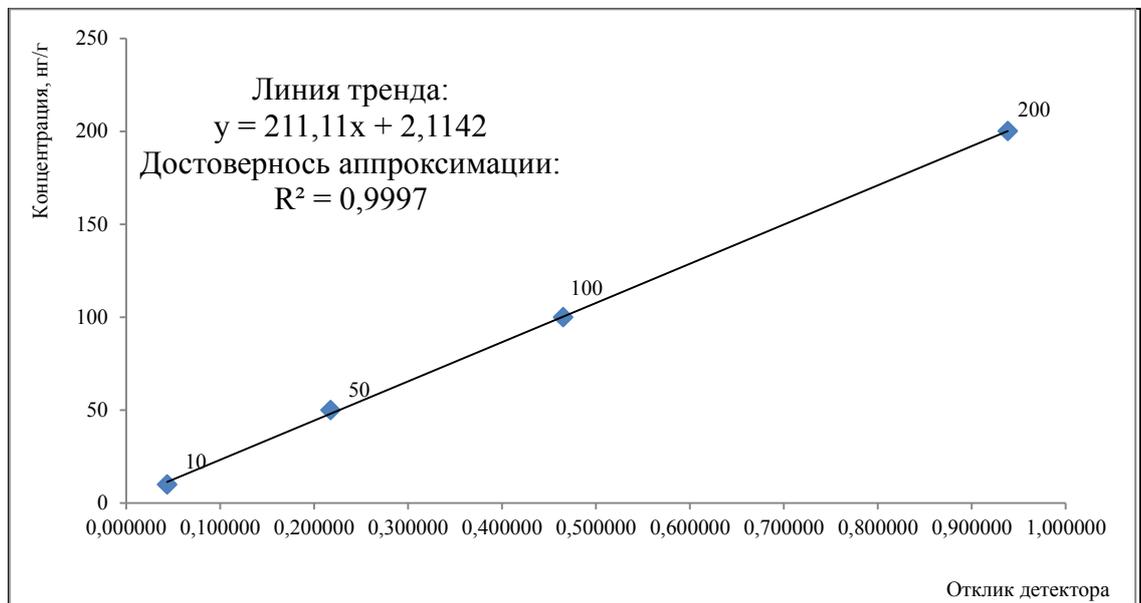


Рисунок 15 - Калибровка ивермектина в почках
 Тип функции – линейная: $y=211,11x+2,1142$ ($R^2=0,9997$).

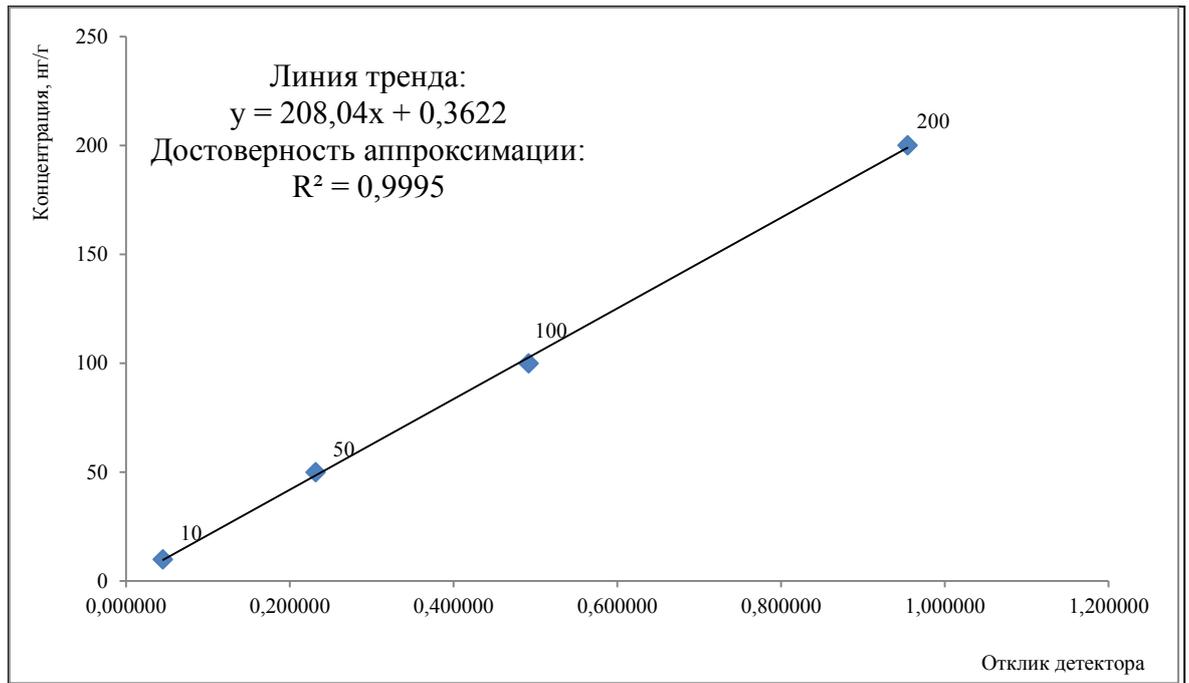


Рисунок 16 - Калибровка ивермектина в мышцах
 Тип функции – линейная: $y=208,04x+0,3622$ ($R^2=0,9995$).

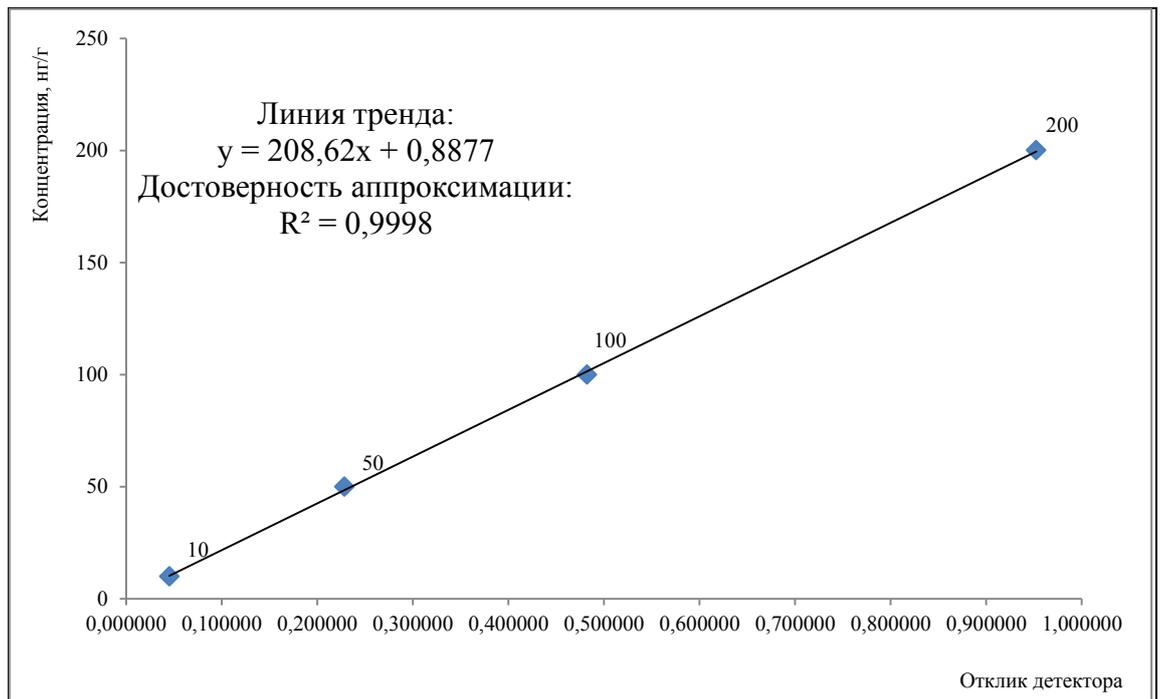


Рисунок 17 - Калибровка ивермектина в легких
 Тип функции – линейная: $y=208,62x+0,8877$ ($R^2=0,9998$).

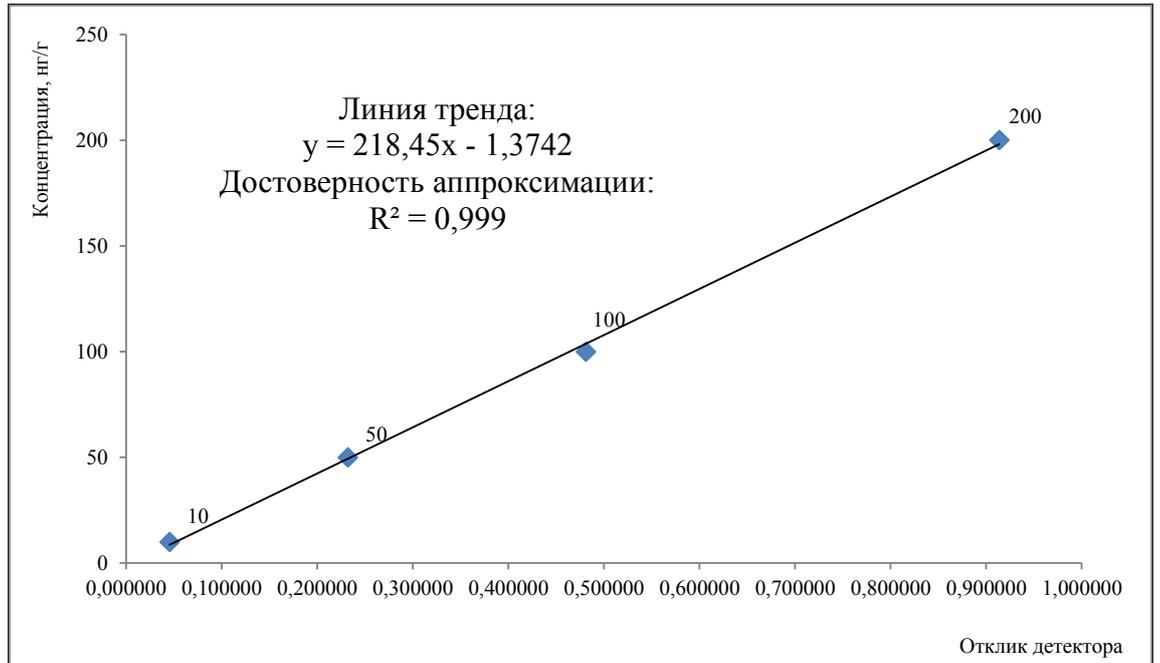


Рисунок 18 - Калибровка ивермектина в сердце
 Тип функции – линейная: $y=218,45x-1,3742$ ($R^2=0,9990$).

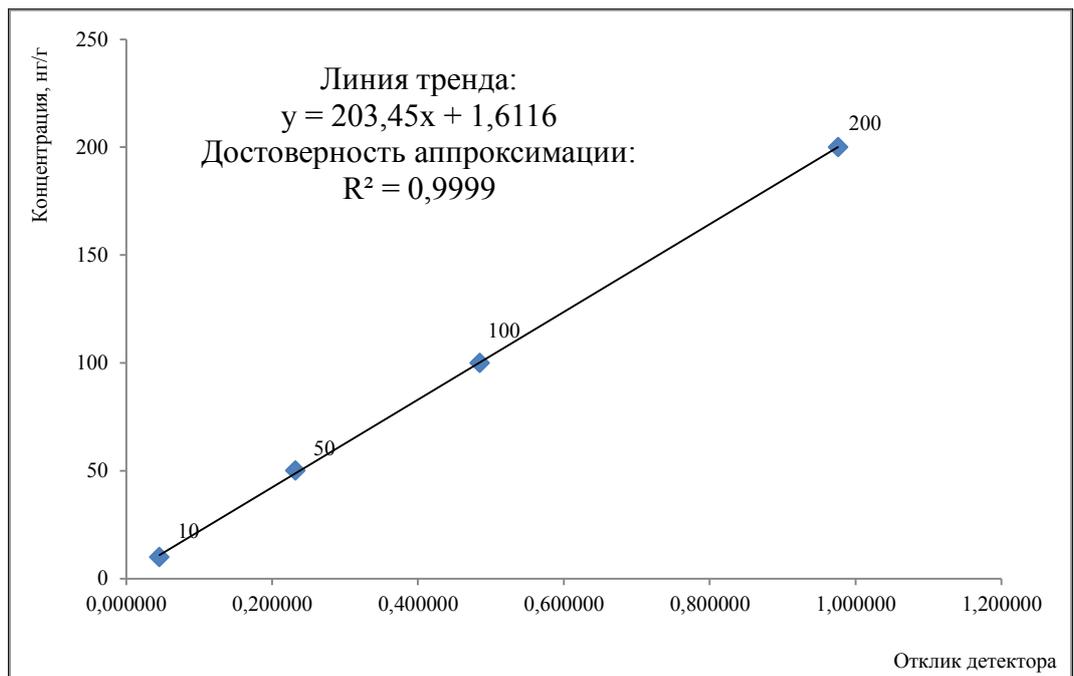


Рисунок 19 - Калибровка ивермектина в селезенке
 Тип функции – линейная: $y=203,45x+1,6116$ ($R^2=0,9999$).

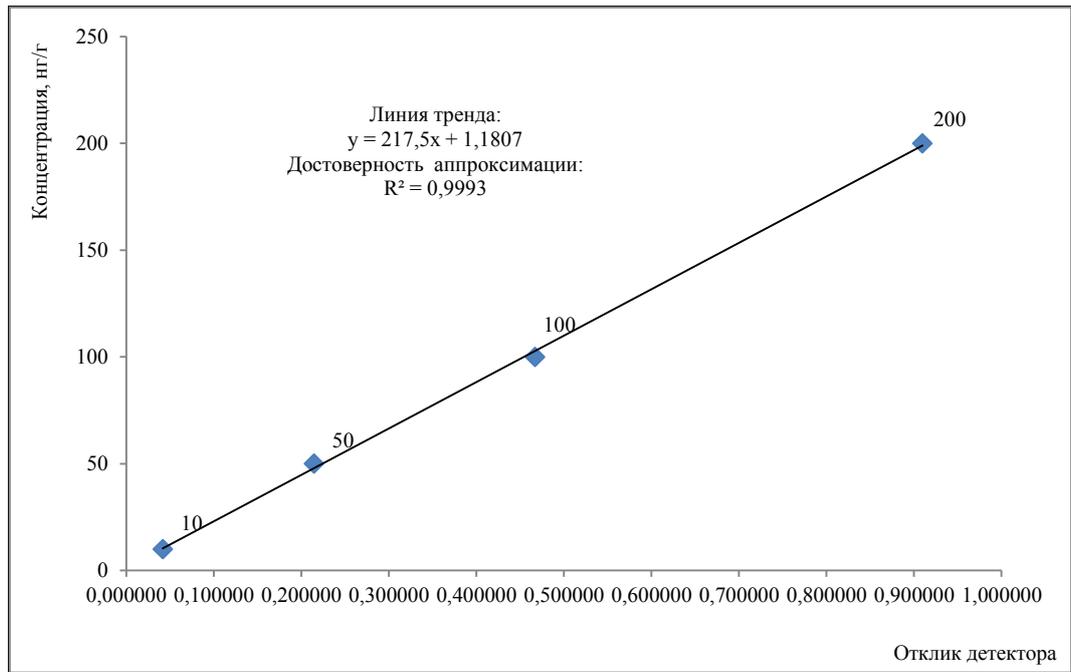


Рисунок 20 - Калибровка ивермектина в сальниковом жире
 Тип функции – линейная: $y=217,5x+1,1807$ ($R^2=0,9993$).

На основании отклонения калибровочных графиков биосубстратов установлены пределы обнаружения (LoD) и пределы количественного определения (LoQ) ивермектина в биосубстратах. Определение (LoD) и (LoQ) осуществлялось в соответствии с описанной методикой Stats Tutorial (2015), Alankar Shivastava (2011) [392; 396] по формулам:

$$LoD = 3 * SD_b * k^{-1}$$

$$LoQ = 10 * SD_b * k^{-1},$$

где SD_b – стандартное отклонение свободного коэффициента b ; k – коэффициент корреляции (угловой коэффициент).

Метод определения ивермектина в сыворотке крови животных является линейным (линейность характеризуется уравнениями и степенью аппроксимации R^2) в диапазонах 10-200 нг/мл (нг/г) для ивермектина. Полученные значения LoQ и LoD ивермектина в биосубстратах приведены в таблице 14.

Таблица 14 - Пределы количественного определения (LoQ) и пределы обнаружения LoD в образцах сыворотки крови, молока, печени, почек, мышц, легких, сердца, селезенки и сальникового жира

Биосубстрат	Ивермектин	
	LoD (нг/мл, нг/г)	LoQ (нг/мл, нг/г)
Сыворотка	2,7	8,8
Молоко	2,5	8,3
Печень	2,8	9,3
Почки	2,8	9,3
Мышцы	2,9	9,7
Легкие	2,9	9,6
Сердце	2,9	9,6
Селезенка	2,9	9,7
Сальниковый жир	2,8	9,1

LOQ – предел количественного определения метода (нг/мл)

LOD – предел детектирования (нг/мл)

Метрологическая характеристика используемого метода определения ивермектина в сыворотке крови, молоке, органах и тканях представлена в таблице 15.

Таблица 15 - Метрологические параметры метода определения ивермектина

Биосубстрат	Предел обнаружения LoD (нг/мл, нг/г)	Предел количественного определения LoQ (нг/мл, нг/г)	Уравнение зависимости отклика от концентрации	Диапазон линейности (нг/мл, нг/г)
Сыворотка	2,7	8,8	$y=230,22x+0,7264$ ($R^2=0,9993$)	10-200
Молоко	2,5	8,3	$y=245,73x+0,3704$ ($R^2=0,9996$)	10-200
Печень	2,8	9,3	$y=204,78x+3,3873$ ($R^2=0,9993$)	10-200
Почки	2,8	9,3	$y=211,11x+2,1142$ ($R^2=0,9997$)	10-200
Мышцы	2,9	9,7	$y=208,04x+0,3622$ ($R^2=0,9995$)	10-200
Легкие	2,9	9,6	$y=208,62x+0,8877$ ($R^2=0,9998$)	10-200
Сердце	2,9	9,6	$y=218,45x-1,3742$ ($R^2=0,9990$)	10-200
Селезенка	2,9	9,7	$y=203,45x+1,6116$ ($R^2=0,9999$)	10-200
Сальниковый жир	2,8	9,1	$y=217,5x+1,1807$ ($R^2=0,9993$)	10-200

Метрологическую аттестацию метода проводили в соответствии с методиками, изложенными в литературных источниках Hartmann C., et al. (1998); Stats Tutorial (2015); Alankar Shrivastava, et al. (2011) [321; 392; 396]; Для экспериментов использовали экстракты биосубстратов (калибровочных образцов) с концентрациями ивермектина 10, 50, 100, 200 нг/мл (нг/г).

Индивидуальные значения концентраций ивермектина в сыворотке крови животных, получавших иверсан в терапевтической дозе, приведены в таблице 16.

Таблица 16 - Концентрация ивермектина в сыворотке крови овец после применения иверсана, нг/мл

Время отбора проб	№ животного						S, нг/мл	STD, ±
	1	2	3	4	5	6		
До введ. (контроль)		-	-	-	-	-	-	-
2 ч	<LoQ*	10	11	<LoQ	12	<LoQ	11,00**	1.00**
4 ч	10	14	18	11	17	10	13.33	3.559
6 ч	13	16	19	12	20	14	15.67	3.226
12 ч	14	19	21	15	22	18	18.17	3.189
24 ч	17	23	25	19	27	19	21.67	3.933
2 сут	12	18	20	14	16	11	15.17	3.488
4 сут	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
7 сут	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
10 сут	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
15 сут	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-

*<LoQ – концентрация ниже предела количественного определения

** – статистические данные по 3 значениям

S – среднее значение концентрации

STD – стандартное отклонение среднего значения ряда данных

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ивермектин всасывается в желудочно-кишечном тракте овец, при этом нарастание концентрации идет сравнительно медленно, через 2 ч после введения ивермектин был выявлен в сыворотке крови 3 овец из 6 (10–12 нг/мл), далее концентрация нарастала и достигала максимальных значений (17–27 нг/мл) через 24 ч после

введения. Отмечена длительная циркуляция ивермектина в крови: вещество выявляли и через 2 сут. после введения. Учитывая очень выраженные липофильные свойства ивермектина, можно предположить его активное проникновение из крови в ткани. Всасывание ивермектина после орального введения способствует его эффективности в отношении не только паразитов желудочно-кишечного тракта, но также паразитов, находящихся во внутренней среде, и эктопаразитов, питающихся кровью. Через 4, 7, 10 и 15 суток концентрация ивермектина в сыворотке крови овец была ниже предела количественного определения метода.

Индивидуальные значения концентраций ивермектина в молоке коз, получавших иверсан в терапевтической дозе, приведены в таблице 17.

Таблица 17 - Концентрация ивермектина в молоке коз после применения препарата иверсан, нг/мл

Время отбора проб	№ животного						S, нг/мл	STD, ±
	1	2	3	4	5	6		
До введения	<LoD*	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
12 ч	<LoD	13	20	16	12	10	14.20***	3.899***
24 ч	10	15	19	18	13	11	14.33	3.670
2 сут.	13	14	20	16	13	12	14.67	2.944
4 сут.	12	13	17	15	10	11	13.00	2.608
7 сут.	12	11	15	12	<LoD	10	12.00***	1.871
10 сут.	11	<LoD	12	10	<LoD	<LoD	11.00****	1.000****

*<LoD – концентрация ниже предела обнаружения;

** – статистические данные по 4 значениям;

*** – статистические данные по 5 значениям;

**** – статистические данные по 3 значениям.

S – среднее значение концентрации

STD – стандартное отклонение среднего значения ряда данных

Результаты анализа показали, что остаточные количества ивермектина в молоке достигают максимальных концентраций (14,33-14,67 нг/мл) через 1-2 суток после окончания применения иверсана. В последний срок мониторинга регистрировали следовые количества ивермектина на уровне 11 нг/мл.

Продолжение таблицы 18

Почки	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сальниковый жир	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела обнаружения; ** – статистические данные по 4 значениям

Установлено, что через 14 суток после окончания применения препарата остаточные количества ивермектина обнаруживали у четырех животных из шести только в печени (23–74 нг/г), почках (13–37 нг/г) и сальниковом жире (52–90 нг/г). Через 28 суток ни в одном образце отобранных органов и тканей остаточные количества ивермектина в определяемых концентрациях не обнаружены (концентрация ниже LoD).

Необходимо отметить, что в соответствии с действующими международными Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), [102] и гигиеническим нормативам содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень) [77] существуют утвержденные максимально допустимые уровни (МДУ) остаточных количеств ивермектина в продукции животноводства: для печени мелкого рогатого скота – не более 0,015 мг/кг (15 нг/г), для жировой ткани – не более 0,02 мг/кг (20 нг/г), для иных тканей и молока МДУ не установлены.

Таким образом, основываясь на полученных результатах, можно сделать заключение, что убой мелкого рогатого скота на мясо целесообразно проводить не ранее чем через 28 суток после применения препарата.

3.1.3 Эффективность препарата иверсан при нематодозах и арахноэнтомозах овец

Эксперимент по эффективности иверсана при нематодозах и арахноэнтомозах проведен в Курской области. При клиническом осмотре общее состояние овец во время проведения эксперимента было удовлетворительное, упитанность средняя. У молодняка наблюдался кашель, усиливающийся при прогоне, слизистые выделения из носовых отверстий, у некоторых – умеренная

диарея. В день начала эксперимента при осмотре овец обеих групп, у всех обнаружили в руне кровососок *Melophagus ovinus* (ЭИ – 100%, ИИ – 1,9 на 10 см²) и власоедов *Bovicola ovis* (ЭИ – 100%, средняя ИИ – 2,3 на 10 см²). Во время осмотра у овец индивидуально взяли пробы фекалий для исследования на гельминтозы. При лабораторном исследовании проб фекалий у овец опытной группы обнаружены яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта (экстенсинвазированность – 100%), в 13 пробах личинки диктиокаулюсов (ЭИ – 68,4%), в 4 – яйца трихоцефалюсов (ЭИ – 21,1%), в 3 – яйца дикроцелиумов (ЭИ – 15,6%). Все овцы контрольной группы были инвазированы стронгилятами желудочно-кишечного тракта, яйца диктикаул обнаружены у 11 овец (ЭИ 57,9%), трихоцефалами было заражено 5 овец (26,3%), дикроцелиями – 6 овец (31,6%). В день первой обработки рано утром овцы опытной группы охотно съели всю кормолекарственную смесь в течение 20 минут. Побочных явлений, осложнений, нежелательных реакций у овец опытной группы после применения иверсана не выявлено. Овцам контрольной группы задали зерно в том же количестве без добавления иверсана. При осмотре животных опытной группы через семь дней установлено, что общее состояние овец соответствовало норме. У овец контрольной группы по-прежнему наблюдали кашель, истечения из носовых отверстий, вялость, диарею. Через две недели овец опытной группы повторно обработали иверсаном вышеописанным групповым методом. Овцы контрольной группы препарат не получали. При следующем клиническом осмотре – тридцатый день эксперимента при осмотре животных опытной группы установлено, что общее состояние овец хорошее. Животные были осмотрены на наличие возбудителей мелофагоза и бовиколеза, также у них были отобраны пробы фекалий. У обследованных животных власоедов обнаружено не было, экстенсэффективность (ЭЭ) при бовиколезе составила 100%. На трех овцах обнаружили по 1 кровососке, на одной – 2, при этом куколок на руне также не было. Обнаружение единичных кровососок на 4 овцах опытной группы считаем следствием контакта с зараженными овцами контрольной группы, находящимися в этой же отаре. Поэтому ЭЭ по мелофагозу считаем также 100%. Пробы фекалий

от овец опытной группы не содержали яиц и личинок нематод, что свидетельствует о высокой экстенс- и интенсэфективности препарата при нематодозах. У овец контрольной группы наблюдались клинические признаки диктиокаулеза – кашель, одышка, исхудание, вялость, истечения из носа, при аускультации – влажные хрипы. У 6 животных контрольной группы наблюдали признаки стронгилятозов желудочно-кишечного тракта – неоформленность фекалий, исхудание, вялость. При внешнем осмотре на всех овцах контрольной группы обнаружили кровососок (ЭИ–100%, ИИ–2,1 на 10 см²) и власоедов (ЭИ–100%, ИИ–2,5 на 10 см²). При исследовании отобранных проб фекалий у овец контрольной группы установлен рост инвазированности. В 19 пробах обнаружены яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта (ЭИ–100%), в 12 – личинки диктиокаулюсов (ЭИ – 63,2%), в 6 – яйца трихоцефалюсов (ЭИ – 31,6%), в 6 – яйца дикроцелиумов (ЭИ – 31,6%). В результате проведенных исследований установлена 100%-ная эффективность иверсана при нематодозах желудочно-кишечного тракта овец, мелофагозе и бовиколезе.

Схожие данные получены летом 2017 года в Рязанской области. Перед началом эксперимента проведено обследование животных опытных и контрольной групп и установлена высокая степень зараженности. При копроовоскопическом исследовании проб фекалий были обнаружены яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта и стронгилоидесов. При исследовании проб шерсти куколки кровососок *Melophagus ovinus* были выявлены у 35 овец из 38. Результаты исследований ярок опытных и контрольной групп на гельминтозы и мелофагоз до применения иверсана представлены в таблице 19.

Таблица 19 - Результаты исследований ярок опытных и контрольной групп на гельминтозы и мелофагоз до применения иверсана

Количество пораженных животных по результатам обследования	Результаты лабораторных исследований	
	Вид обнаруженных паразитов	Экстенсивность инвазии, %
23	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	
		60,5
10	<i>Strongyloides papillosus</i> + <i>Стронгилята</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	
	10	26,3

Продолжение таблицы 19

5	<i>Nematodirus spp.</i> + <i>Strongyloides papillosus</i> + <i>Strongylata spp</i> <i>Melophagus ovinus</i>	
		13,15
35	<i>Melophagus ovinus</i> + <i>Strongylata spp</i> + <i>Strongyloides papillosus</i> + <i>Nematodirus spp.</i>	
		92,1

Как показывают данные, приведённые в таблице, в большинстве случаев у животных наблюдалась микстинвазия. После постановки диагноза, животных опытных групп обработали иверсаном. Побочных явлений после применения препарата не отмечали. В первой и во второй группах была получена высокая эффективность препарата, результаты этого опыта отражены в таблице 20.

Таблица 20 - Результаты лабораторных исследований ярок опытных и контрольной групп после применения иверсана

№ животных опытных и контрольной групп	Инвазированы гельминтами и кровососками	Экстенсэффективность, %
Группа №1 (опытная)		
1-15	0	100%
Группа №2 (опытная)		
16-30	0	100%
Группа №3 (контрольная)		
31	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	0
32	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	
33	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	
34	<i>Стронгиляты жкт</i>	
35	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	
36	<i>Strongylata spp</i>	
37	<i>Strongylata spp</i>	
38	<i>Strongylata spp</i> + <i>Melophagus ovinus</i>	

В исследованных пробах фекалий и шерсти от 30 овец опытных групп при копрооволарвоскопическом и энтомологическом исследованиях яйца кишечных

гельминтов не обнаружены, куколки мух кровососок *Melophagus ovinus* отсутствовали. У ярок контрольной группы на протяжении опыта отмечены симптомы желудочно-кишечного заболевания, выпадение шерсти, алопеции, распространенный или очаговый дерматит, в фекалиях яйца и личинки стронгилят желудочно-кишечного тракта, стронгилоидесов, в шерсти имаго и куколки кровососок *Melophagus ovinus*. В результате проведенных исследований установлено, что иверсан обладает выраженным нематодоцидным действием, эффективен против имагинальных форм стронгилят желудочно-кишечного тракта и стронгилоидов овец, а также против половозрелых кровососок *Melophagus ovinus*.

Исследования, проведенные в Калининградской области, подтвердили высокую эффективность препарата при нематодозах и арахноэнтомозах овец. Отобранные до начала эксперимента пробы фекалий исследовали и установили 80% пораженность овец гельминтами (ЭИ – 80%). До опыта экстенсинвазированность овец составила: нематодирусами – 49,5%, другими стронгилятами пищеварительного тракта – 62,8%, трихоцефалами – 8,6%, диктиокаулами – 16,9%. Овец опытной группы обработали иверсаном однократно. Через 20 суток после обработок животных иверсаном провели повторное исследование. Препарат показал 100%-ную эффективность при диктиокаулезе, стронгилятозах пищеварительного тракта, нематодирозе. При трихостронгилезе эффективность препарата составила 98,4%. Тем не менее после дачи препарата экстенсинвазированность овец трихоцефалами составила 1,2%. Иверсан показал одинаково высокую эффективность при назначении его животным в рекомендуемой дозе 0,1 мл на 20 кг массы индивидуально с водой и групповым способом в смеси с кормом. Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменялась. В этом же эксперименте при исследовании поголовья были отобраны 26 овец с различной степенью поражения псороптозом. У животных имелись очаги поражения по бокам туловища, в области спины и крестца, расчесы, зуд. В местах поражения на коже отмечали узелки, папулы, корочки и в соскобах кожи обнаруживали клещей

Psoroptes ovis в разных фазах развития. Животных опытной группы (16 овец) дважды с интервалом в 14 суток обработали иверсаном групповым методом. Получена 100%-ная эффективность иверсана, все 16 леченых овец полностью освободились от клещей *Psoroptes ovis*. У пролеченных животных на пораженных участках кожи начал расти волосяной покров, исчезли признаки воспаления. При дальнейшем исследовании соскобов кожи овец из опытной группы через 45 суток клещей обнаружено не было. Количество клещей *Psoroptes ovis* у овец контрольной группы оставалось прежним. Результаты этого опыта отражены в таблице 21.

Таблица 21 - Эффективность лекарственного препарата иверсан при псороптозе овец после двукратной обработки в дозе 0, 1 мл на 20 кг массы животного

Группа животных	Число животных		Число клещей в соскобе кожи, экз.		Эффективность, %
	в группе	освободилось после лечения	до опыта	после лечения	
Подопытная	16	16	7,7±0,6	0	100
Контрольная	10	0	7,4±0,6	7,8±0,7	-

В результате проведенного эксперимента установлена 100%-ная эффективность иверсана при псороптозе овец при двукратном применении с интервалом 14 суток в дозе 0,1 мл на 20 кг массы тела.

При эстрозе овец эффективность иверсана составила 100% против личинок 1- и 2-й стадий *Oestrus ovis*, против личинок 3-й стадии *Oestrus ovis* – 95%. У овец контрольной группы было обнаружено в среднем по 15,0 ±0,21 личинок *Oestrus ovis*, в том числе 9,1±0,8 экз. 1 стадии, 1,9±0,2 – 2-й стадии и 5,6±0,5 – 3-й стадии. После применения иверсана у овец опытной группы клинические признаки болезни отсутствовали. Данные, полученные в ходе этого опыта, приведены в таблице 22.

Таблица 22 - Эффективность препарата иверсан при однократном применении в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного против личинок *Oestrus ovis*

Группа овец	Убито овец	Обнаружено личинок, экз.					ИЭ, %, против личинок			
		у числа овец	всего	в том числе			всех стадий	в том числе		
				1-й стадии	2-й стадии	3-й стадии		1-й стадии	2-й стадии	3-й стадии
Опытная	3	1	3	0	0	3	98	100	100	95
Контрольная	3	3	15,0± 0,21	9,1± 0,8	1,9 ±0,2	5,6± 0,5	-	-	-	2,0

В результате изучения эффективности иверсана в Калининградской области при однократном применении в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного установлена эффективность против диктиокаул и стронгилят пищеварительного тракта – 100%, трихоцефал – 98,7%. При эстрозе овец установлена 100% эффективность против личинок *Oestrus ovis* 1- и 2-й стадии. Эффективность против личинок *Oestrus ovis* 3-й стадии составила 95%. Побочные явления, нежелательные реакции и осложнения после применения иверсана не отмечали.

Во всех экспериментах, где применялась групповая обработка животных, оба способа обработки (выпаивание овцам лечебного раствора иверсана и дача его в виде кормолекарственной смеси с зерном) проявили высокую противопаразитарную эффективность.

3.2 Разработка препаратов пролонгированного действия и результаты изучения их фармако - токсикологических и противопаразитарных свойств

3.2.1 Рецептуры препарата иверлонг 1 и исследование их фармакокинетических параметров

Отталкиваясь от имеющихся в литературе данных и результатов предварительных экспериментов, для проведения более детальных испытаний предложено две рецептуры препарата с разным содержанием ивермектина и вспомогательных компонентов. Состав опытных образцов препарата иверлонг 1 отражен в таблице 23.

Таблица 23 - Состав опытных образцов, в %

Компонент	21	22
Ивермектин	10	5
PLGA	19,33	4,7
N-метилпирролидон	70,67	28,7
Триацетин	-	61,6

Как видно из таблицы, образец 21 иверлонга 1 содержит в два раза больше ивермектина, чем образец 22. Отличием рецептур было отсутствие триацетина в образце 21.

С целью определения более перспективного для дальнейшего применения варианта рецептуры провели в лабораторных условиях исследования по определению кинетики высвобождения ивермектина из образцов препарата. Результаты, полученные в ходе исследования, отражены в таблицах 24 и 25 и изображены на рисунках 21 и 22.

Таблица 24 - Количество ивермектина, перешедшего в среду растворения из образца 21

Время, час	Количество ивермектина, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ивермектина в среде высвобождения, %
0,25 (15 мин)	0,26	0,29
0,75 (45 мин)	2,12	2,35
2	4,64	5,14
6	7,96	8,82
24	11,24	12,45
96 (4 сут)	18,25	20,21
144 (6 сут)	26,57	29,42
192 (8 сут)	29,75	32,95
360 (15 сут)	36,53	40,45
456 (19 сут)	39,80	44,07

Таблица 25 - Количество ивермектина, перешедшего в среду растворения из образца № 22

Время, час	Количество ивермектина, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ивермектина в среде высвобождения, %
0,25 (15 мин)	0,40	0,86
0,75 (45 мин)	1,05	2,24
2	1,87	3,98
6	3,45	7,34
24	5,92	12,59
72 (3 сут)	8,54	18,16
144 (6 сут)	12,00	25,54
216 (9 сут)	14,35	30,54
408 (17 сут)	18,01	38,32
552 (23 сут)	19,83	42,19

При сравнении данных, отраженных в таблицах, видно, что из образца 22-й серии ивермектин начинал высвобождаться в два раза быстрее. Через 15 минут эксперимента в среду растворения перешло 0,86% действующего вещества, в то время как из образца 21 в среду поступило только 0,29% ивермектина. Но уже на 45-й минуте скорость высвобождения ивермектина из лекарственной формы в обоих образцах почти сравнялась (2,24% – образец 22 и 2,35% – образец 21). Далее – со вторых по шестые сутки опыта высвобождение ивермектина в среду растворения более активно шло из образца 21. Соответственно в среду растворения поступало большее количество действующего вещества, учитывая, что в этом образце содержание действующего вещества было в 1,9 раза больше, можно сделать вывод, что и в опыте на животных в этот период времени в организм попадет повышенное количество ивермектина. На восьмые – девятые сутки эксперимента скорость высвобождения в обоих образцах почти сравнялась и составила 32,95% (образец 21) и 30,54% (образец 22). В конце периода наблюдения процент высвободившегося из лекарственной формы действующего вещества был примерно одинаков (44,07% – образец 21 через 19 суток и 42,19% –

образец 22 через 23 суток). Результаты, полученные в ходе исследования, изображены на рисунках 21 и 22.

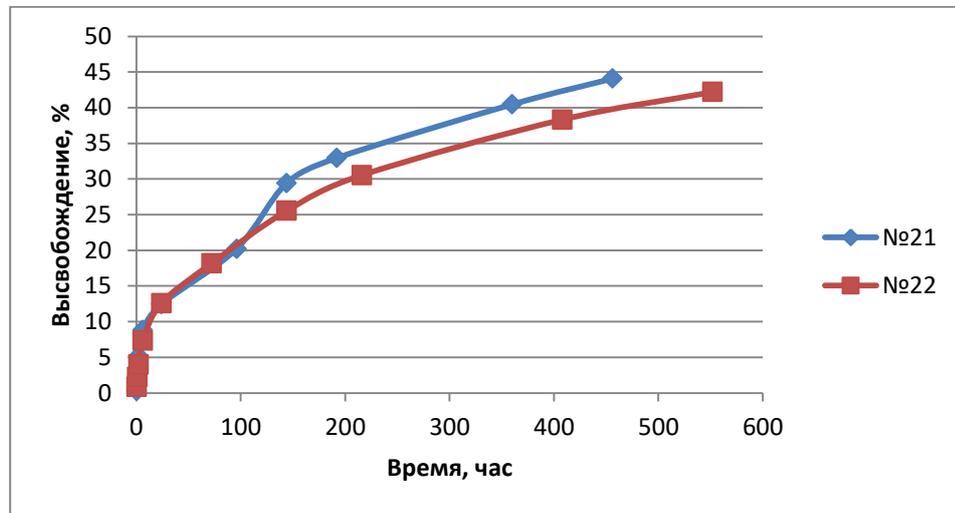


Рисунок 21 - Количество ивермектина (в % от общего содержания в образце), перешедшего в среду высвобождения из образцов

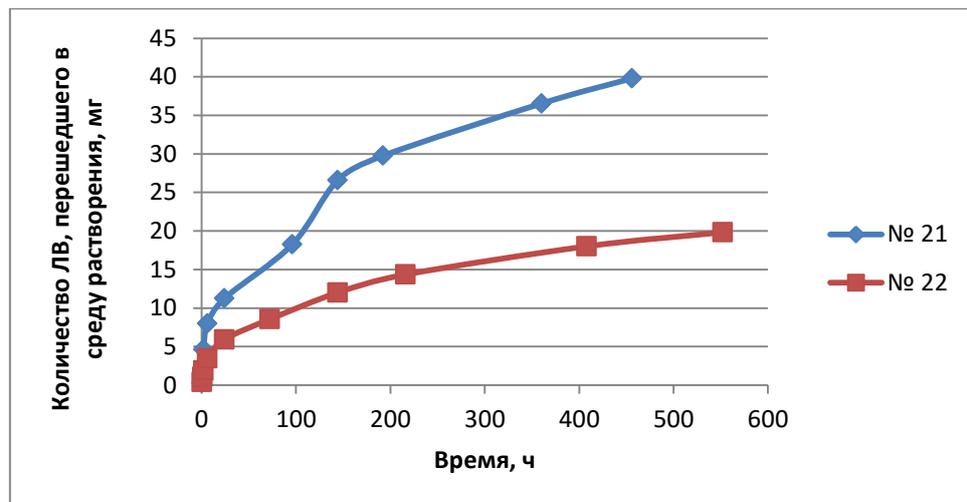


Рисунок 22 - Количество ивермектина (мг), перешедшего в среду высвобождения из образцов

На этих графиках наглядно видно, что из образца 22 высвобождение шло более плавно и медленнее. Можно предположить, что эта рецептура препарата не будет перегружать организм животного резким выбросом повышенного количества действующего вещества в кровь, будет более экономична. Для проведения дальнейших экспериментов была выбрана рецептура 22, которую назвали иверлонг 1.

Для проведения клинических испытаний были наработаны образцы препарата серии 31 с содержанием в качестве действующего вещества в 1 мл ивермектина 50 мг, и вспомогательные вещества PLGA, n-метилпирролидон, триацетин

3.2.2 Эффективность разных доз иверлонга 1 при желудочно-кишечных стронгилятозах

Первый опыт был заложен в Самарской области в ООО «Агроресурс» в 2016 году с мая по сентябрь на спонтанно инвазированных 81 овце массой тела 15–30 кг. В этом эксперименте провели испытание иверлонг 1 серии 31, в 1 мл которого содержалось 50 мг ивермектина. В первом опыте исследовали разные дозы иверлонга 1 для определения наиболее эффективной и экономически целесообразной дозы. В качестве препарата сравнения был использован хорошо изученный препарат ивермек согласно утвержденной инструкции по применению. Иверлонг 1 (серии 31) в испытанных дозах не оказал видимого побочного воздействия на организм овец. После введения иверлонга 1 не отмечали болезненности, припухлости на месте инъекции или какой-либо другой патологической реакции. Результаты исследований по титрации терапевтической дозы иверлонга 1 представлены в таблице 26.

Таблица 26 - Результат титрации дозы иверлонга 1 при стронгилятозах пищеварительного тракта

Препарат	Группы	Кол-во овец в группе	Доза, мл/50 кг	Сроки исследований					
				До обработки	30.05.16г.	02.07.16г.	03.08.16г.	27.08.16г.	20.09.16 г.
					Через 15 дней*	Через 48 дней*	Через 80 дней*	Через 104 дня*	Через 128* дней
Количество зараженных овец									
Иверлонг	1	13	1	13	0	0	0	4	8
Иверлонг	2	15	0,5	15	0	0	0	8	10
Иверлонг	3	13	0,75	13	0	0	0	9	10
Иверлонг	4	12	0,25	12	0	1	2	10	12
Ивермек	5	14	1	14	0	2	5	9	11
Контроль	6	14	-	14	0	5	12	13	13
Среднее количество яиц стронгилят ЖКТ в 1 г фекалий									
Иверлонг	1	13	1	12,1±1,3	0	0	0	35,08±4,7	90,62±11,3
Иверлонг	2	15	0,5	15,3±3,4	0	0	0	53,2±9,2	91,2±12,1
Иверлонг	3	13	0,75	16,9±4,6	0	0	0	38±5,2	90,82±11,5
Иверлонг	4	12	0,25	11,3±2,1	0	3,17±0,8	15,83±3,4	85,5±8,7	136,17±10,8
Ивермек	5	14	1	10,8±1,4	0	5,43±1,2	29,86±4,5	108,58±10,2	157,43±11,6
Контроль	6	14	-	9,1±1,2	9,5±1,2	57±5,3	219,86±7,2	244,29±12,3	214,43±12,0

* После обработки и выгона на пастбище 15.05.2016

В результате проведенных исследований установлено, что препарат иверлонг 1 (серия 31) в дозах 1 мл/50 кг (1 мг /кг по ивермектину), 0,5 мл/50 кг (0,5 мг/кг по ивермектину), 0,75 мл/кг (0,75 мг/кг по ивермектину) полностью обеспечивает защиту от заражения стронгилятами овец до 80 дней. На 104-й день экстенсивность препарата в первой группе равнялась 69,2%, во второй – 46,7%, в третьей – 30,8%, то есть действие препарата почти прекратилось, хотя он продолжал снижать интенсивность инвазии.

3.2.2.1 Производственное испытание иверлонга 1 при смешанной инвазии овец

Производственные испытания препарата провели в Ставропольском крае в 2016 г. с июля по сентябрь. Результаты производственного испытания иверлонга 1 при смешанной инвазии овец представлены в таблице 27.

Таблица 27 - Результаты производственного испытания иверлонга 1 (доза 1 мг/кг) при смешанной инвазии овец

Название болезни	ЭИ, %			ЭЭ,%
	до лечения	на 75-е сутки опыта		
		контроль	опыт	
Нематодироз	53,8	53,6	2	98
Другие стронгилятозы ЖКТ	68	64,3	0	100
Диктиокаулез	16,7	17,9	0	100
Трихоцефалез	6,4	10,7	4	96

В результате исследований установлено, что до введения препарата экстенсивность заражения овец составила 16,7% при диктиокаулезе, 6,4% при трихоцефалезе, 53,8% при нематодирозе, 68% при других стронгилятах пищеварительного тракта. Через 75 дней после применения препарата в опытной группе зараженность овец значительно снизилась и оказалось равной: трихоцефалами 4%, нематодирозами 2%. В фекалиях овец других видов желудочно-кишечных стронгилят и личинок диктиокаула обнаружено не было. Зараженность овец контрольной группы почти не изменилась и составила:

нематодирусами 53,6%, другими стронгилятами пищеварительного тракта 64,3%, диктиокаулами 17,9%, трихоцефалами 10,7%.

Эффективность иверлонга 1 в дозе 1 мг/кг в этом эксперименте составила: при трихоцефалезе 96%, при нематодирозе 98%, при других стронгилятозах пищеварительного тракта и диктиокаулезе – 100%. В результате проведенных исследований установлена высокая эффективность иверлонга 1 в дозе 0,1 мг/кг при микстинвазии овец и срок защиты их от повторного заражения не менее 75 суток.

3.2.2.2 Определение длительности профилактического эффекта против желудочно-кишечных стронгилят после однократного введения иверлонга 1

Для изучения длительности защитного действия препарата был проведен третий эксперимент в Ставропольском крае в 2018 году с июня по сентябрь. Результаты этого эксперимента отражены в таблице 28.

Таблица 28 - Сроки начала выделения яиц желудочно-кишечных стронгилят с фекалиями ягнят после введения иверлонга 1 в дозе 1 мг/кг

Препарат	Количество животных	Сутки после дегельминтизации						
		до опыта	Количество яиц стронгилят в г фекалий					
			30	40	50	60	75	90
иверлонг 1	12	124,5±8,2	0	0	0	0	1,1±0,2	10,4±0,7
Контр. группа	12	138,8±7,9	142,4±5,7	157,7±9,8	180,4±9,2	105,8±10,5	137,8±10,8	145,6±11,2

По представленным данным видно, зараженность овец опытной и контрольной группы до опыта отличалась незначительно, количество яиц стронгилят в 1 г фекалий составило в контрольной группе в среднем 138,8±7,9 экз., а в опытной группе 124,5±8,2 экз. Яйца стронгилят пищеварительного тракта в фекалиях обработанных иверлонгом 1 животных были обнаружены только через 75 суток. Через 15 дней (90-е сутки опыта) отмечено незначительное повышение количества яиц стронгилят в фекалиях животных опытной группы. У овец

опытной группы количество яиц в 1 г фекалий через 90 дней наблюдения было в 14 раз меньше, чем у овец контрольной группы. Инвазированность овец контрольной группы на протяжении всего эксперимента держалась примерно на одном уровне ($138,8 \pm 7,9$ в первые сутки опыта и $145,6 \pm 11,2$ экз. в 1 г фекалий на 90-е сутки). Интенсэфективность иверлонга 1 на 75-е сутки составила 99,12%, на 90-е сутки равнялась 91,7%. Это позволяет утверждать, что иверлонг 1 при введении овцам в дозе 0,1 мг/кг высокоэффективен при стронгилятозах пищеварительного тракта овец в течение 90 суток после однократного введения. Опираясь на полученные в ходе этих экспериментов данные, можно рекомендовать применять иверлонг 1 в пастбищный период с интервалом в два с половиной-три месяца для профилактики стронгилятозов и предотвращения контаминации пастбищ яйцами гельминтов.

Четвертый опыт провели также в Ставропольском крае в 2018 году с сентября по декабрь на спонтанно инвазированных овцах романовской породы. Эффективность иверлонга 1 в дозе 1 мл/50 кг проверили, увеличив срок наблюдения за животными до 108 дней. Полученные данные приведены в таблице 29.

Таблица 29 - Эффективность действия иверлонга на протяжении 108 дней наблюдения

Группа животных	Количество животных	ИИ, экз.						ИЭ, %				
		до лечения	через 15 дн.	30 дн.	45 дн.	60 дн.	108 дн.	через 15 дн.	30 дн.	45 дн.	60 дн.	108 дн.
Опытная группа	6	$13 \pm 1,2$	$2 \pm 0,1$	1	0	0	0	84,6	$92,3$	100	100	100
Контрольная группа	6	$15,1 \pm 1,6$	$17,8 \pm 2,1$	$30,5 \pm 3,0$	$34,3 \pm 3,5$	$48 \pm 3,9$	$25,0 \pm 2,8$	-	-	-	-	-

В этом эксперименте яйца стронгилят обнаруживали у одного животного опытной группы из шести, препарат через 15 дней проявил интенсэфективность 84,6%, через 30 дней – 92,3%, а через 45 дней и далее (до 108 дня) – 100%. Этот результат исследований можно объяснить погрешностью при введении препарата.

По данным проведенных исследований, установлено, что иверлонг 1 при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта обеспечивал защиту от заражения животных до 108 дней.

3.2.2.3 Оценка различных схем применения препарата иверлонг 1 при желудочно-кишечных стронгилятозах овец

С целью разработать рекомендации по профилактике желудочно-кишечных нематодозов овец в летне-пастбищный период с помощью препарата иверлонг 1 провели очередной эксперимент в Ставропольском крае с мая по октябрь 2019 года. Препарат применили двукратно с большим периодом наблюдения. Результаты эксперимента по исследованию длительности защитного действия иверлонга 1 в дозе 1 мг/кг отражены в таблице 30.

Таблица 30 Результаты испытаний дегельминтизации ягнят иверлонгом 1 разными дозами при стронгилятозах пищеварительного тракта

Группа	Кол-во голов	Среднее количество яиц стронгилят в 1 г фекалий (экз.)					
		29.05	30.06	29.07	30.08	30.09	20.10.
1-я (1 мг/кг)	22	0	0	0	0	0	0,8±0,2
Контроль	12	0	19,2±2,7	51,2±9,2	68,0±7,4	92,8±9,9	105,6±11,2

Как следует из таблицы, инвазированность ягнят контрольной группы варьировалась в течение лета, среднее количество яиц стронгилят в 1 г фекалий фиксировали: в конце июня – 19,2±2,7, июля – 51,2±9,2, августа – 68,0±7,4, сентября 92,8±9,9 и октября (конец опыта) 105,6±11,2 экземпляров. Двукратная дегельминтизация ягнят первой опытной группы, получавшей иверлонг 1 в дозе 1 мг/кг, через 5 недель после начала выпаса и через 12 недель после первой инъекции препарата предотвращала заражение овец стронгилятами пищеварительного тракта в течение всего пастбищного периода.

Таким образом, для успешной профилактики желудочно-кишечных стронгилятозов овец необходимо применять иверлонг 1 в дозе 1 мг/кг (по ивермектину) на 5-й неделе выпаса и на 12-й неделе после первой обработки препаратом. Это обеспечит полное освобождение животных от гельминтов и

защитит их от повторного заражения в течение пяти месяцев. Данная схема дегельминтизации овец будет способствовать значительному снижению обсемененности пастбищ яйцами и личинками стронгилят.

3.3 Создание комбинированной парентеральной пролонгированной формы препарата иверлонг 2, содержащей ивермектин и празиквантел

3.3.1 Нарботка опытных образцов препарата на основе сополимеров молочной и гликолевой кислот и N-метилпирролидона для изучения *in vitro*

Для проведения отбора состава образцов для предварительных биологических исследований было приготовлено 9 образцов, представляющих собой растворы на основе N-метилпирролидона, содержащие: активные вещества – ивермектин и празиквантел; биоразлагаемые полимеры – Purasorb PDLG 5004A (PLGA 50/50) и Purasorb PDL 05 (PLA 100/0) или сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA 75/25). Соотношения активных и вспомогательных веществ обеспечивают содержание ивермектина 20–30 мг и празиквантела 240–500 мг в 4 мл. Составы опытных образцов представлены в таблицах 31 и 32.

Таблица 31 - Состав опытных образцов, %

Компонент, %	Образец (серия)								
	№1 (05_1)	№2 (05_2)	№3 (05_3)	№4 (05_4)	№5 (05_5)	№6 (05_6)	№7 (05_7)	№8 (05_8)	№9 (05_9)
Празиквантел	6,0	8,8	12,5	6,1	8,8	12,5	6,0	8,8	12,5
Ивермектин	0,5	0,6	0,8	0,5	0,6	0,8	0,5	0,6	0,8
PLGA 50/50	12,4	9,9	6,8	-	-	-	-	-	-
PLGA 75/25	-	-	-	12,7	10,2	6,6	-	-	-
PLA 100/0	-	-	-	-	-	-	13,2	10,0	6,5
N-метилпирролидон	81,1	80,6	80,0	80,7	80,4	80,2	80,3	80,6	80,3

Таблица 32 - Состав опытных образцов, мг/г

Компонент	Образец (серия)								
	№1 (05_1)	№2 (05_2)	№3 (05_3)	№4 (05_4)	№5 (05_5)	№6 (05_6)	№7 (05_7)	№8 (05_8)	№9 (05_9)
Празиквантел, мг	60,0	88,4	125,0	61,0	87,6	125,3	60,1	88,0	125,1
Ивермектин, мг	5,0	6,4	7,5	5,0	6,3	7,6	5,0	6,3	7,5
PLGA 50:50	124,2	98,9	67,5	-	-	-	-	-	-
PLGA 75:25	-	-	-	126,9	102,1	65,5	-	-	-
PLA 100/0	-	-	-	-	-	-	132,2	99,9	64,8
N-метилпирролидон	810,8	806,3	800,0	807,1	804,1	801,6	802,7	805,8	802,6

3.3.2 Результаты изучения кинетики высвобождения празиквантела из образцов препарата *in vitro*

Анализ полученных профилей высвобождения (рисунки 23–24) празиквантела (в % от общего количества и мг) из исследуемых образцов (таблицы 37–39) иллюстрирует, что с увеличением содержания полимера в системе растет его влияние на кинетику высвобождения, при этом сохраняется тенденция уменьшения скорости высвобождения при переходе от PLGA 50/50 к полимолочной кислоте (PLA 100). Для образца с максимальным содержанием празиквантела (соотношение празиквантел/полимер = 2/1) на основе PLGA 50/50 (образец №3) наблюдалась в 2,5 раза большая скорость высвобождения празиквантела, тогда как для составов на основе PLGA 75/25 и полимолочной кислоты такого эффекта не наблюдалось. Такое явление, возможно, связано с большим сродством празиквантела к полимерам с высоким содержанием полимолочной кислоты. Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №1, представлено в таблице 33.

Таблица 33 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №1

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	8,19	13,65
3	10,54	17,6
24	18	30,01
48 (2 сут)	20,92	34,86
72 (3 сут)	21,42	35,69
168 (7 сут)	32,81	53,01
216 (9 сут)	32,94	54,90
264 (11 сут)	34,01	56,68
336 (14 сут)	35,01	58,34

Образец № 1 содержал 6% празиквантела, 0,5% ивермектина и 12,4% PLGA в соотношении 50/50, N-метилпирролидона – 81,1%. В последующих рецептурах содержание N- метилпирролидона колебалось незначительно от 80 до 80,7%.

Наблюдалось довольно быстрое высвобождение празиквантела в среду. Уже через 24 часа в раствор вышло 30,01% препарата, затем со второго дня процесс пошел более медленно – за двое суток высвободилось из полимерной матрицы дополнительно 5,68%. В последующие четверо суток произошел скачок в высвобождении празиквантела – в среду вышло еще 17,32% препарата, затем процесс существенно замедлился и за последующие 7 дней выделилось всего 5,33% препарата. Всего на 14-е сутки эксперимента в раствор перешло 58,34% празиквантела. Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №4, представлено в таблице 34.

Таблица 34 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №4

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	7,18	11,77
3	9,12	14,95
24	11,84	19,41
48 (2 сут)	13,13	21,52
72 (3 сут)	17,07	27,99
168 (7 сут)	23,26	38,13
216 (9 сут)	25,42	41,67
264 (11 сут)	26,8	43,94
336 (14 сут)	30,01	49,20

Образец №4 отличается от образца №1 незначительно большим содержанием празиквантела (на 0,1%), но главное – другим соотношением сополимеров полимолочной и гликолевой кислот (PLGA 75/25%). Это значительно сказалось на профиле высвобождения празиквантела. Высвобождение шло медленнее, без резких колебаний. Через сутки выделилось 19,41% препарата, затем за двое суток его высвободилось почти вдвое меньшее количество – 8,58%. В последующие четверо суток – в среду вышло ещё 10,14% препарата, затем процесс стабилизировался и за последующие 7 суток выделилось еще 11,07% препарата.

Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №7, представлено в таблице 35.

Таблица 35 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №7

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	5,64	9,39
3	7,64	12,71
24	11,84	19,7
48 (2 сут)	15,36	25,56
72 (3 сут)	15,61	25,97
168 (7 сут)	20,59	34,26
216 (9 сут)	21,15	35,19
264 (11 суток)	21,71	36,12
336 (14 суток)	24,98	41,56

Образец №7 содержал то же самое количество празиквантела и ивермектина, что и образец №1, но в отличие от него содержал полимолочную кислоту (PLA) 13,2% и не содержал сополимеров молочной и гликолевой кислот. Это соответственно сказалось на профиле высвобождения. Через сутки выделилось 19,7% препарата, что по скорости равно образцу под номером 4. Затем на третьи сутки скорость высвобождения снизилась – выделилось 5,86%. На седьмые сутки эксперимента в среду вышло еще 8,7% препарата, и на 14-й день выделилось ещё 7,3% препарата, итого в среду за 14-е сутки перешло 41,56% празиквантела. Эта рецептура проявила самую медленную из трех скорость высвобождения. Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из образцов, представлено на рисунке 23.

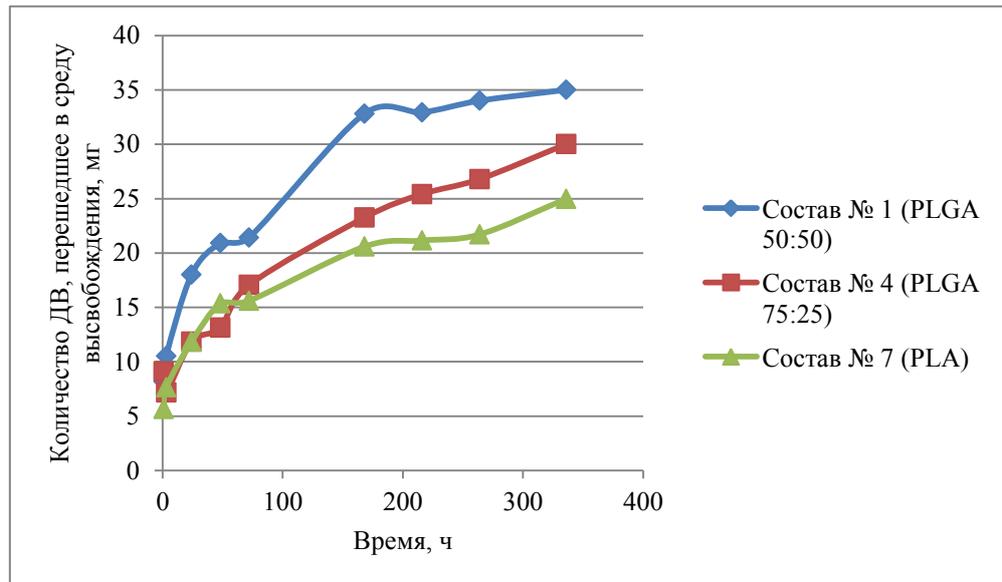


Рисунок 23 - Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из образцов с соотношением празиквантел/полимер = 1/2

Графики на рисунке 23 наглядно демонстрируют, что образец №1 имел большую скорость высвобождения празиквантела, и на 14-е сутки опыта его выделилось максимальное (из трех) количество – 35,01 мг. Самую медленную скорость высвобождения проявил состав 7, в последние сутки эксперимента в среду перешло всего 24,98 мг празиквантела. Празиквантел из состава №4 выделялся равномернее, чем из двух других образцов, и на 14-е сутки опыта 30,01 мг препарата перешло в среду высвобождения.

Образцы №2, 5 и 8 имели соотношение празиквантел/полимер = 1/1. Образец № 2 содержал 8,8% празиквантела, 0,6% ивермектина и 9,9% PLGA в соотношении 50/50, N-метилпирролидона – 80,6%. Наблюдали скорость высвобождения празиквантела в среду, большую, чем у составов №7 (19,7%) и №4 (19,41%). Через 24 часа в раствор вышло 24,23% препарата. Со второго дня процесс пошел более медленно – за двое суток высвободилось ещё 5,91%. В последующие четверо суток высвобождение празиквантела шло примерно с той же скоростью, в среду вышло еще 4,99% препарата. Затем процесс немного замедлился и за последующие 7 суток выделилось еще 3,7% препарата.

Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №2, представлено в таблице 36.

Таблица 36 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №2

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	11,42	12,92
3	11,59	13,11
24	21,42	24,23
48 (2 суток)	21,66	24,51
72 (3 суток)	26,64	30,14
168 (7 суток)	31,05	35,13
216 (9 суток)	32,24	36,47
264 (11 суток)	33,20	37,56
336(14 суток)	34,33	38,83

Состав под номером 5 содержал 8,8% празиквантела, 0,6% ивермектина и 10,2% PLGA в соотношении 75/25. Через 24 часа в раствор вышло 19,99% препарата, затем со второго дня процесс пошел более плавно – за два дня высвободилось из полимерной матрицы всего 5,81%. В последующие четверо суток произошел скачок в высвобождении празиквантела – в среду вышло еще 8,76% препарата, затем процесс замедлился и за последующие 7 суток выделилось всего 3,47% препарата. Всего на 14-е сутки опыта в среду высвободилось 38,03% празиквантела. Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №5, представлено в таблице 37.

Таблица 37 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №5

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	8,5	9,70
3	9,10	10,39
24	17,51	19,99
48 (2 суток)	20,49	23,39
72 (3 суток)	22,60	25,80
168 (7 суток)	30,27	34,56
216 (9 суток)	30,94	35,32
264 (11 суток)	32,36	36,94
336 (14 суток)	33,31	38,03

Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №2, представлено в таблице 38.

Таблица 38 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №8

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	9,81	11,15
3	9,83	11,17
24	18,26	20,75
48 (2 суток)	23,65	26,87
72 (3 суток)	25,84	29,36
168 (7 суток)	27,15	30,85
216 (9 суток)	27,22	30,93
264 (11 суток)	28,46	32,34
336 (14 суток)	30,17	34,28

Образец № 8 содержал то же количество празиквантела и ивермектина, что и образец № 5, но в отличие от него содержал и полимолочную кислоту (PLA) (10%) и не содержал PLGA. Через 24 часа в раствор вышло 20,75% препарата, со второго дня процесс пошел медленнее – за последующие двое суток высвободилось из матрицы еще 8,61%. В последующие четверо суток высвобождение препарата почти остановилось, выделилось всего 1,57%, далее процесс пошел медленно и за последующие 7 суток выделилось еще 3,35 % препарата.

Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из изучаемых образцов, представлено на рисунке 24.

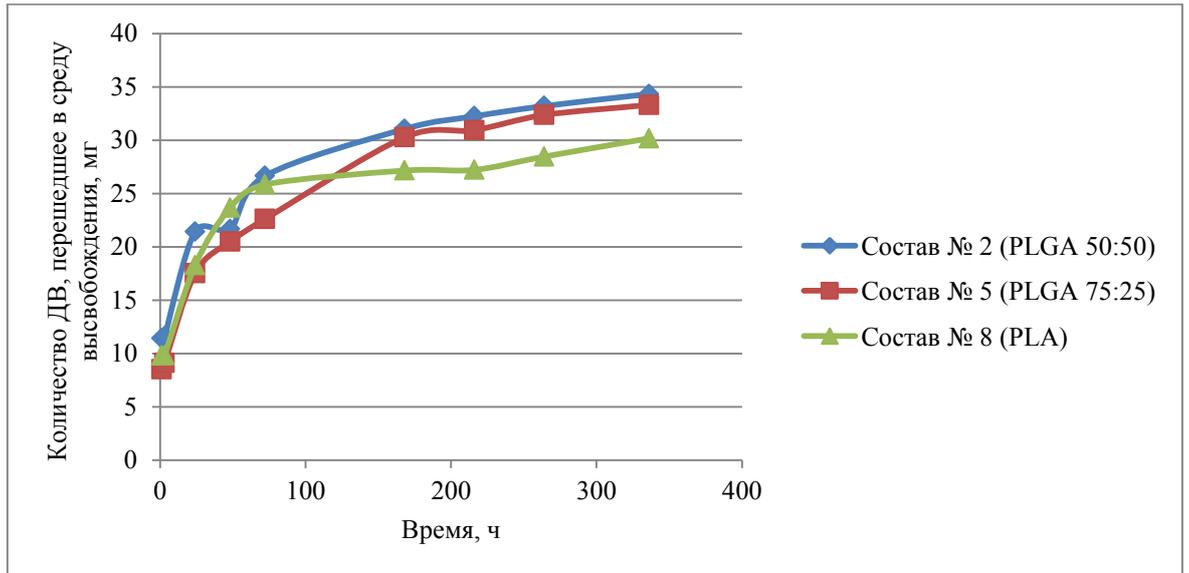


Рисунок 24 - Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из образцов с соотношением празиквантел/полимер = 1/1

Графики на рисунке 24 наглядно демонстрируют скорость высвобождения празиквантела из образцов. Состав номер 2 высвободил максимальное количество препарата (34,33 мг), но высвобождение было не равномерным. Лучший результат показал образец номер 5. Празиквантела в среду выделилось 33,31 мг, процесс шел плавно и характеризовался замедлением и стабилизацией после выхода в среду 25,8% действующего вещества. Образец под номером 3 содержал повышенное количество празиквантела (12,5 %) и ивермектина (0,8 %), а также сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA 50/50) – 6,8%. Динамика высвобождения празиквантела из этого образца отражена в таблице 39.

Таблица 39 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №3

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	32,84	26,27
3	35,59	28,48
24	37,93	30,35
48 (2 суток)	41,39	33,11
72 (3 суток)	45,76	36,61
168 (7 суток)	49,05	39,24
216 (9 суток)	50,78	40,63
264 (11 суток)	52,6	42,08
336 (14 суток)	54,13	43,31

Через 24 часа в раствор вышло уже 30,35% препарата, со второго дня процесс стабилизировался – за последующие двое суток из матрицы высвободилось еще 6,26%. В последующие четыре дня высвобождение препарата замедлилось – выделилось всего 2,63%, далее процесс пошел примерно с той же скоростью, и за последующие 7 суток выделилось еще 4,07 % препарата.

Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №6, представлено в таблице 40.

Таблица 40 - Количество празиквантела, перешедшего в среду высвобождения из образца №6

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	14,14	11,29
3	16,19	12,92
24	26,4	21,07
48 (2 суток)	34,62	27,63
72 (3 суток)	36,92	29,46
168 (7 суток)	38,94	31,08
216 (9 суток)	41,31	32,97
264 (11 суток)	47,57	37,97
336 (14 суток)	50,34	40,18

Образец № 6 содержал то же количество празиквантела и ивермектина, что и образец 3, но в отличие от него содержал PLGA в соотношении 75/25 – 6,6%. Через 24 часа в раствор вышло меньшее количество препарата – 21,07%. Затем со второго дня процесс пошел медленнее – за двое суток высвободилось из полимерной матрицы еще 8,39%. В последующие четверо суток высвобождение празиквантела в среду резко замедлилось – вышло всего 1,62%. Затем процесс пошел более плавно и за последующие 7 суток выделилось еще 9,1% препарата.

Образец №9 содержал то же количество празиквантела и ивермектина, что и образцы №3 и 6, но в отличие от них содержал полимолочную кислоту (6,5%). Скорость высвобождения празиквантела из этого образца отражена в таблице 41.

Таблица 41 - Количество празиквантела перешедшего в среду
высвобождения из образца №9

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
1	11,69	9,35
3	13,37	10,69
24	23,18	18,53
48 (2 суток)	34,18	27,32
72 (3 суток)	35,62	28,47
168 (7 суток)	41,95	33,53
216 (9 суток)	43,39	34,68
264 (11 суток)	45,31	36,22
336 (14 суток)	48,88	39,08

В этом исследовании наблюдается меньшая скорость высвобождения празиквантела в среду, чем у составов №3 и 6. Через 24 часа в раствор вышло 18,53% препарата, на третьи сутки наблюдали скачок повышения концентрации препарата в растворе – 28,47% (+ 9,94%). На седьмой день опыта, в среду вышло 33,53% (+5,06%) препарата, затем процесс замедлился и за последующие 7 суток выделилось еще 5,55% препарата. Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из исследуемых образцов, представлено на рисунке 25.

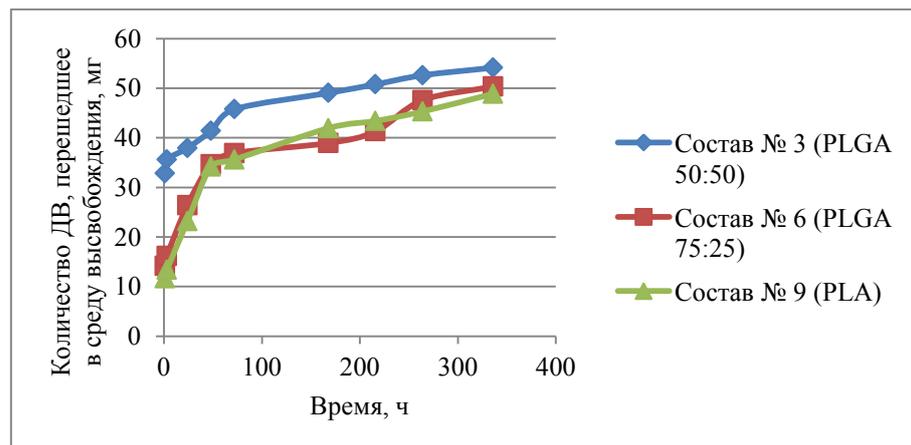


Рисунок 25 - Общее количество празиквантела (мг), перешедшего в среду высвобождения из образцов с соотношением празиквантел/полимер = 2/1

Кривые, представленные на рисунке 25, иллюстрируют скорость высвобождения празиквантела. Наблюдается, что состав №3 имел максимальную

скорость высвобождения и из него вышло максимальное количество препарата (54,14 мг). На 14-е сутки составы 6 и 9 выделили в среду примерно одинаковое количество празиквантела (50,34 и 48,88 мг), но при этом выделение в среду из состава № 9 шло более плавно.

Все испытанные образцы были условно поделены на 3 группы, исходя из соотношения празиквантел/полимер: 1/2; 1/1; 2/1. В первой группе (1/2) образец под номером 4 показал наиболее плавную кинетику высвобождения, и на последний день опыта он высвободил 49,20% празиквантела. Из образцов второй группы (1/1) состав №5 имел более плавную кривую высвобождения и из него на 14-е сутки опыта в среду вышло 38,03%. В третьей группе (2/1) максимальную скорость высвобождения имел образец №3, но более плавный процесс высвобождения показал образец 9. На 14-е сутки эксперимента он выделил в среду 39,08% празиквантела. Таким образом, из девяти исследованных составов, лучшие результаты показали № 4, 5 и 9. В конце опыта эти образцы высвободили соответственно 49,2; 38,03 и 39,08% празиквантела. Из этих трех образцов для фармако-токсикологических исследований мы выбрали состав №9, как содержащий максимальное количество действующих веществ. Для изучения кинетики ивермектина *in vitro* отобрали образцы №4 и 5, как наиболее перспективные для исследований на целевых видах животных.

3.3.3 Результаты изучения кинетики высвобождения ивермектина из образцов препарата *in vitro*

Выбранные для дальнейших исследований образцы имели примерно одинаковое содержание ивермектина. Образец №4 содержал 5 мг/г, а образец №5 – 6,3 мг/г ивермектина. В то же время они отличались по содержанию празиквантела (№4 содержал 61 мг/г, а №5 – 87,6 мг/г), а также содержанием полимера (№4 имел в составе 126,9 мг/г PLGA, а №5 – 102,1). Исследуя образец № 4, наблюдали следующее. Через 24 часа в раствор вышло 25,68% препарата, на третий день наблюдали замедление выделения препарата в раствор – 33,01% (+ 7,33%). Еще через 3 дня скорость выделения препарата в среду возросла + 10,05%,

затем процесс стабилизировался на достаточно высоком уровне и за последующие 8 дней выделилось еще 10,04% препарата. Всего за 17 дней наблюдения в раствор перешло 60,05% ивермектина, содержащегося в образце. Эти данные приведены в таблице 42.

Таблица 42 - Количество ивермектина, перешедшего в среду высвобождения из образца №4

Время, часов	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
0,25 (15 мин)	0,04	1,54
0,75 (45 мин)	0,12	4,63
2	0,25	9,46
6	0,38	14,67
24	0,67	25,68
72 (3 суток)	0,86	33,01
144 (6 суток)	1,12	43,06
216 (9 суток)	1,29	50,01
408 (17 суток)	1,56	60,05

Образец №5, несмотря на примерно одинаковое с образцом №4 содержание ивермектина, имел иной профиль высвобождения. Разница в значениях наблюдалась на 45-й минуте эксперимента, в это время выделилось 7,16% ивермектина в отличие от образца №4 (4,63%). Через сутки фиксировали в среде высвобождения 22% (образец №4 – 25,68%), на третьи сутки – 31,2% (+9,2%), ещё через 3 дня процесс замедлился +5,1%. На 9-е сутки опыта в среду вышло дополнительно 10,9% и на 17-е сутки еще 7,94%. Всего за семнадцать дней наблюдения в среду вышло 55,14% ивермектина, что на 4,91% меньше, чем из образца №4. Количество ивермектина, перешедшего в среду высвобождения из образца №5, представлено в таблице 43.

Таблица 43 - Количество ивермектина, перешедшего в среду высвобождения из образца №5

Время, час	Количество ДВ, перешедшего в среду высвобождения, мг	Количество ДВ в среде высвобождения, %
0,25 (15 мин)	0,05	1,55

Продолжение таблицы 43

0,75 (45 мин)	0,23	7,16
2	0,44	13,57
6	0,58	17,9
24	0,72	22
72 (3 суток)	1,25	31,2
144 (6 суток)	1,45	36,3
216 (9 суток)	1,89	47,2
408 (17 суток)	2,2	55,14

Динамика выделения ивермектина в среду высвобождения из образцов №4 и 5 представлена на рисунке 26.

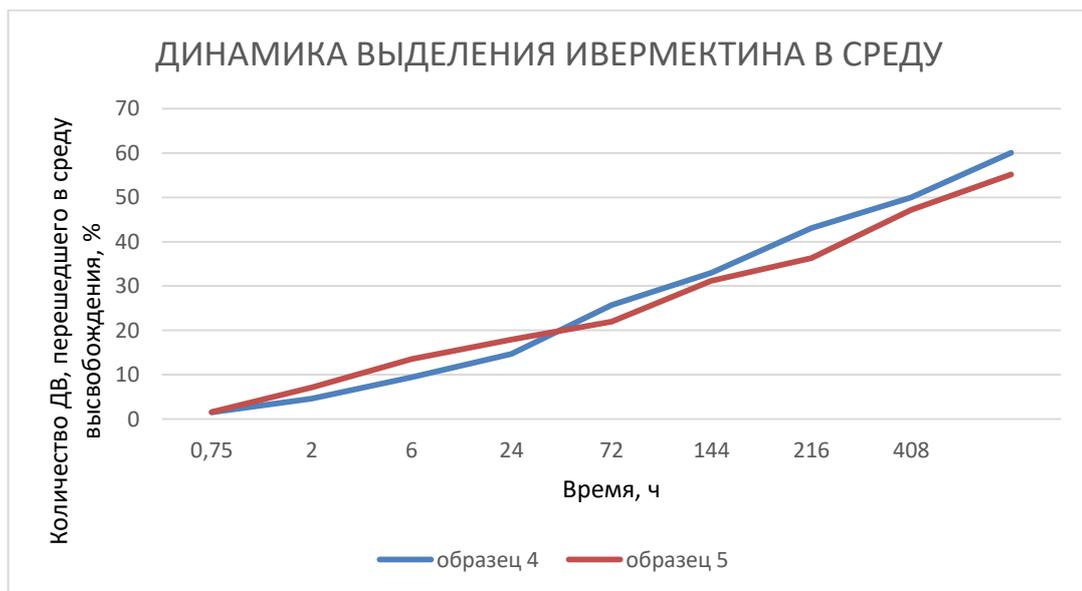


Рисунок 26 - Динамика выделения ивермектина в среду высвобождения из образцов №4 и 5

Кривые на графике демонстрируют достаточно плавное высвобождение действующего вещества из обоих образцов, но из образца №4 быстрее выделяется в среду ивермектин, и в итоге его выделяется в среду больше, чем из образца №5.

Образец №4, обладающий оптимальной скоростью высвобождения активных веществ, в условиях эксперимента в лаборатории, был использован для дальнейших исследований и изучения фармакокинетики празиквантела и ивермектина в организме животных. Его состав еще раз приводим в таблице 44.

Таблица 44 - Состав жидкой полимерной системы в %

Компонент	Состав № 4
Празиквантел	6,1
Ивермектин	0,5
PLGA 75:25	12,7
N-метилпирролидон	80,7

3.3.4 Разработка лабораторной технологии получения стерильного препарата иверлонг 2

На основе методики приготовления экспериментальных образцов была разработана лабораторная технология получения стерильного препарата иверлонг 2 (рисунок 27).

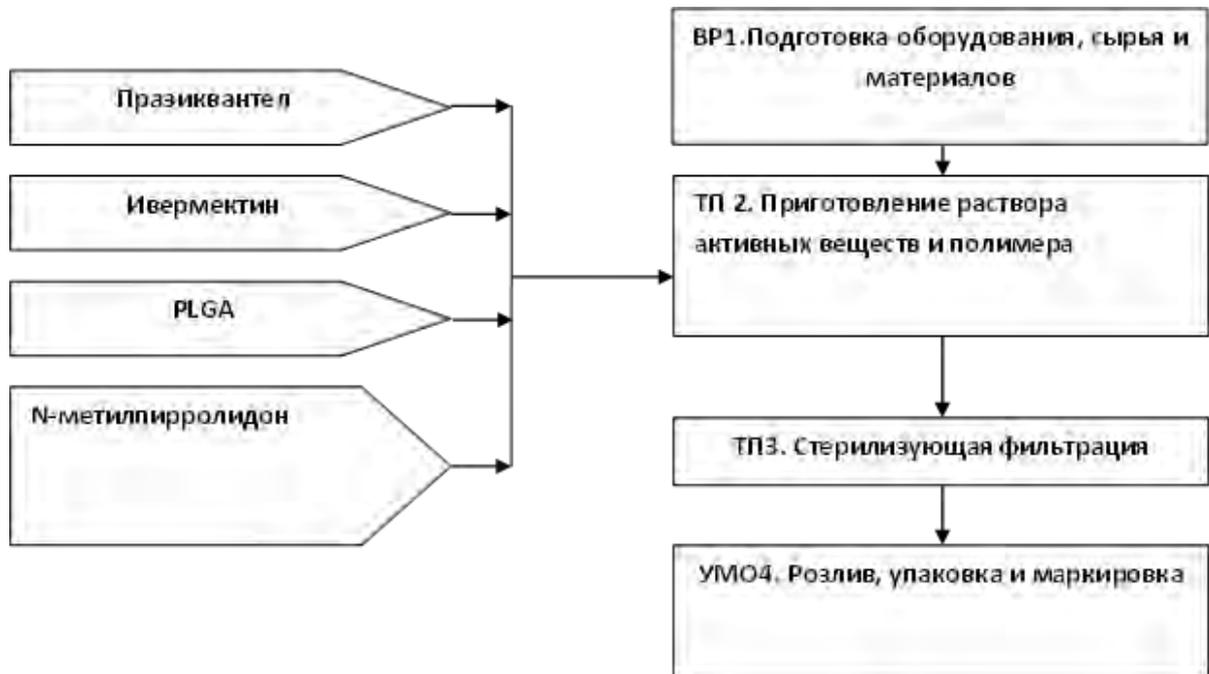


Рисунок 27 - Технологическая схема получения стерильного препарата иверлонг 2

Для приготовления раствора активных веществ и полимера в коническую колбу помещают празиквантел, ивермектин и N-метилпирролидон. Колбу закрывают, помещают в ультразвуковую ванну и выдерживают до полного растворения компонентов (50–60 минут). К полученному раствору добавляют сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA) и выдерживают до полного растворения (4,5–5 часов), периодически встряхивая с использованием

лабораторного встряхивателя типа Vortex. Затем раствор стерилизуют посредством стерилизующей фильтрации.

Полученный раствор профильтровывают через фильтры на основе регенерированной целлюлозы с отсекающей способностью 0,45 мкм и 0,22 мкм (пр-во «Владипор», типа МФЦС-1), закрепленные в ячейках Stainless Steel Pressure Filter Holder, Millipor (47, 100 мл), при избыточном давлении 3 бар. Профильтрованный раствор собирают в промежуточные стеклянные емкости. Раствор, полученный после фильтрования, разливают в предварительно простерилизованные стеклянные флаконы объемом 50 мл, укупоривают их резиновыми пробками, надевают алюминиевые колпачки и обжимают. Укупоренные флаконы маркируют этикетками. Процесс стерилизующей фильтрации и розлива проводят в ламинарном шкафу.

3.3.5 Изучение фармако-токсикологических свойств препарата иверлонг 2

3.3.5.1 Изучение параметров острой токсичности иверлонга 2

В опыте были испытаны дозы – 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 и 6,0 г/кг. Данные смертельного эффекта использовались для определения смертельных параметров – ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄, величин отношения смертельных доз (ЛД₈₄/ЛД₁₆) и функции угла наклона, а также среднего времени гибели – ET₅₀. Клиническая картина интоксикации у животных, получавших смертельные дозы, характеризовалась нарушением координации движения, вялостью и малоподвижностью. У животных появлялась шатающаяся походка и вскоре они впадали в кому. На 4–6-е сутки часть из них погибала. Результаты определения параметров токсичности представлены в таблице 45.

Таблица 45 - Результаты острой токсичности препарата иверлонг-2 при введении в желудок белых крыс

Доза в г/кг	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
Выжило	6	5	4	2	0
Погибло	0	1	2	4	6

На основании данных, приведенных в таблице 45, было рассчитано значение среднесмертельной дозы LD_{50} препарата по методу Кербера и ее ошибка по формуле Гаддама [154]. Таким образом, LD_{50} данного средства при введении в желудок составляет $4,3 \pm 0,31$ г/кг массы тела. Полученный результат свидетельствует о том, что иверлонг 2 по величине среднесмертельной дозы относится к умеренно токсичными препаратами (3 класс опасности, ГОСТ 12.1.007-76) [83].

Графический анализ зависимости «доза–эффект» позволяет определить смертельные дозы – LD_{16} и LD_{84} , которые составили – 3,5 г/кг и 5,5 г/кг соответственно.

Показателями опасности острого смертельного отравления является коэффициент опасности [127]: – $\frac{1}{LD_{50} \cdot S}$,

где S – является функцией угла наклона прямой смертельных доз к оси абсцисс и рассчитывается по формуле $\frac{LD_{84} / LD_{50} + LD_{50} / LD_{16}}{2}$

В результате S равен 1,25, а показатель опасности составил 0,19. Согласно классификации [192], препарат относится ко 2-му классу опасности (умеренно опасным соединениям). Для определения скорости развития интоксикации определяли время гибели 50% животных (ET_{50}). Для определения ET_{50} также использовали результаты острого опыта. Эта величина характеризует индивидуальную чувствительность животных к действию исследуемого препарата в дозах ниже и выше смертельной и является простым и объективным методом оценки способности препарата кумулировать в организме животного. Результаты определения среднего времени гибели крыс в остром опыте представлены в таблице 46.

Таблица 46 - Результаты определения среднего времени гибели крыс в остром опыте

Дозы (г/кг/)	Время гибели в сутках							Среднее время гибели от каждой из введенных доз
	1	2	3	4	5	6	7	
2,0	-	-	-	-	-	-	-	=0,0
3,0	-	-	-	1	-	-	-	4 : 1=4,0
4,0	-	-	-	-	1	1	-	(5+6):2=5,5
5,0	-	-	-	2	2	-	-	(8+10):4=4,5
6,0	-	-	-	3	3	-	-	(12+15) : 6 =4,5

Проведя соответствующие расчеты, установили, что ET_{50} для иверлонга 2 равна 4,9 суток (118 часов), что свидетельствует о том, что препарат способен кумулировать в организме животных.

3.3.5.2 Определение местно-раздражающего, аллергизирующего действия иверлонга 2

В двух экспериментах исследовали местно-раздражающее, аллергизирующее действие иверлонг 2 на кроликах методом накожной аппликации в течение 20 суток при экспозиции 4 часа и однократной конъюнктивальной сенсibilизации кроликов. Проведенные исследования позволяют заключить, что препарат иверлонг 2 при накожных аппликациях не вызывает каких-либо изменений кожного покрова, что свидетельствует об отсутствии у препарата раздражающего действия на кожу. Однократная инстилляционная препарата в конъюнктивальный мешок также не вызывает ответной реакции, что указывает на отсутствие раздражающего действия препарата на слизистые оболочки и отсутствие аллергизирующего действия.

3.3.5.3 Оценка иммунотоксических свойств препарата иверлонг 2

Результаты оценки клеточного иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) после введения препарата иверлонг 2 в дозе $1/10 LD_{50}$ или 430 мг/кг при введении в качестве антигенов эритроцитов барана представлены в таблице 47.

Таблица 47 - Оценка иммуотоксичности препарата иверлонг 2 при внутрибрюшинном введении мышам

Контроль		Опыт	
№ животного	Индекс реакции	№ животного	Индекс реакции
1	5,6	11	4,8
2	6,3	12	5,7
3	5,2	13	4,9
4	5,7	14	6,4
5	6,2	15	5,2
6	4,8	16	4,4
7	5,1	17	5,8
8	4,3	18	6,2
9	6,1	19	6,8
10	5,6	20	6,4
Среднее	5,49±0,64	Среднее	5,56±0,70

В этом эксперименте установлено, что иверлонг 2 не оказывает как стимулирующего, так и ингибирующего действия на клеточный иммунитет животного. Индекс реакции в контрольной и опытной группах не имел достоверных различий.

Влияние иверлонга 2 на гуморальный иммунный ответ, полученное методом определения числа антителообразующих клеток (АОК) после иммунизации эритроцитами барана мышей, представлено в таблице 48.

Таблица 48 - Результаты исследования влияния иверлонг 2 на гуморальный иммунитет мышей методом локального гемолиза ($p>0,05$)

Контроль		Опыт		Индекс стимуляции
№ животного	Количество АОК на 5×10^5 спленоцитов	№ животного	Количество АОК на 5×10^5 спленоцитов	
1	76	11	74	0,9
2	68	12	56	0,8
3	75	13	51	0,68
4	64	14	63	0,9
5	59	15	68	1,15
6	67	16	74	1,10
7	78	17	52	0,6
8	59	18	56	0,9
9	61	19	59	0,9
10	63	20	51	0,8
Среднее	67±7,12	Среднее	60,4±8,96	0,9±0,16

Исследования влияния иверлонга 2 на гуморальный иммунитет в реакции локального гемолиза показали, что его введение не оказывает действия на иммунную систему. Что позволяет заключить, что препарат иверлонг 2 не оказывает как стимулирующего, так и ингибирующего действия на клеточный иммунитет животного. Индекс стимуляции в контрольной и опытной группах не имел достоверных различий. Таким образом, иверлонг 2 при внутрибрюшинном введении в течение 10 дней в дозе $1/10 LD_{50}$ или 430 мг/кг не обладает иммунотоксическим действием.

3.3.5.4 Результаты исследования высвобождения ивермектина и празиквантела из имплантируемой системы *in vivo*

Для дальнейших исследований и изучения фармакокинетики празиквантела и ивермектина в организме животных использовали вариант 4. Для определения содержания ивермектина и празиквантела в биологических объектах, включая сыворотку крови, молоко, органы и ткани, была выполнена разработка соответствующих аналитических методик, порядок выполнения которых изложен в разделе 2 «Материалы и методы исследований». Для подтверждения достоверности получаемых результатов была предварительно выполнена валидация методик.

Вначале были оценены степень извлечения и линейность методики, для чего провели измерение калибровочных растворов в подвижной фазе и экстрактах всех матриц. Результаты измерений степени извлечения ивермектина представлены в таблицах 49–52. Примеры калибровочных кривых ивермектина представлены на рис. 28–37.

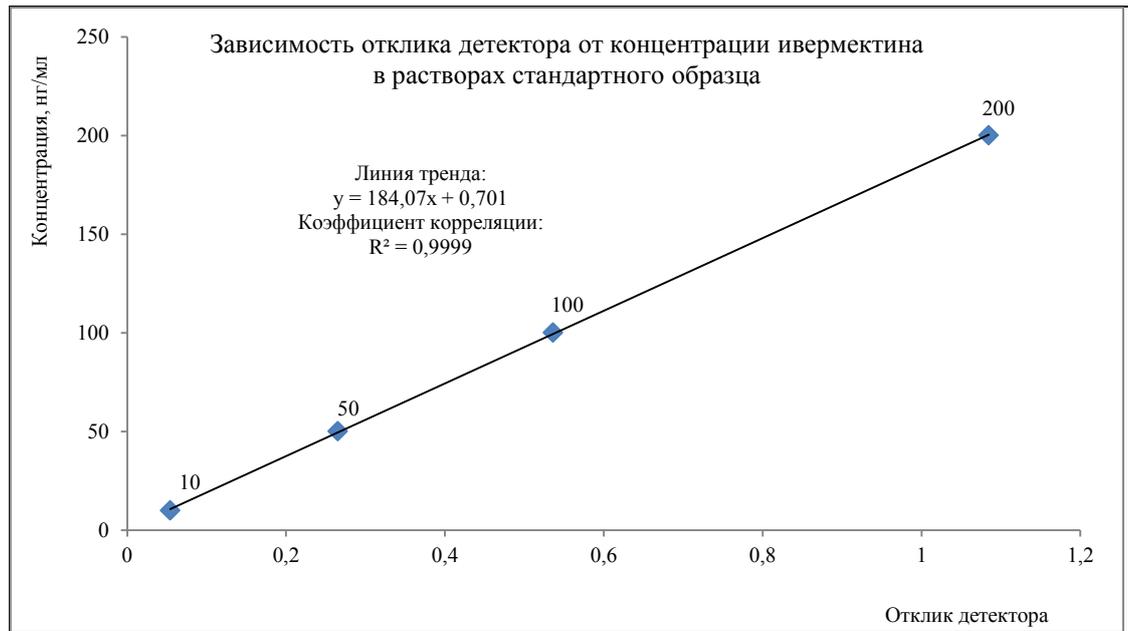


Рисунок 28 - Калибровочная кривая ивермектина в растворах стандартного образца в подвижной фазе. Тип функции–линейная: $y=184,07x+0,701$ ($R^2=0,9999$)

В дальнейшем провели исследования по определению степени извлечения ивермектина. В таблице 49 приведены данные анализа калибровочных растворов ивермектина в экстрактах сыворотки крови.

Таблица 49 - Результаты анализа калибровочных растворов ивермектина в экстрактах сыворотки крови

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank-образец» со стандартом	
200	1,084725	1,020943	94,12
100	0,536253	0,483057	90,08
50	0,265324	0,252695	95,24
10	0,054208	0,045182	83,35
\bar{S}			90,70
$CV, \%$			5,93
$ДИ, \pm$			5,27

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации (%);

$ДИ$ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы);

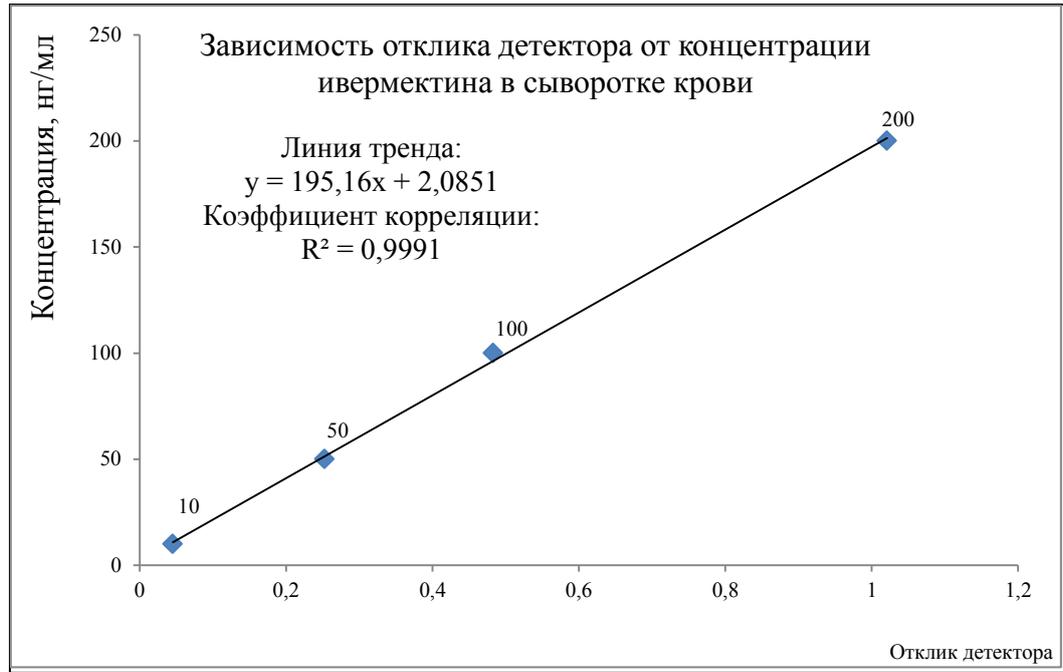


Рисунок 29 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах сыворотки крови. Тип функции – линейная: $y = 184,07x + 0,701$ ($R^2 = 0,9999$)

В таблице 50 приведены данные анализа калибровочных растворов ивермектина в экстрактах молока.

Таблица 50 - Результаты анализа калибровочных растворов ивермектина в экстрактах молока

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank-образец» со стандартом	
200	1,084725	1,001744	92,35
100	0,536253	0,4408	82,2
50	0,265324	0,23123	87,15
10	0,054208	0,043632	80,49
	\bar{S}		85,55
	CV, %		6,25
	ДИ, ±		5,24

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации;

ДИ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы).

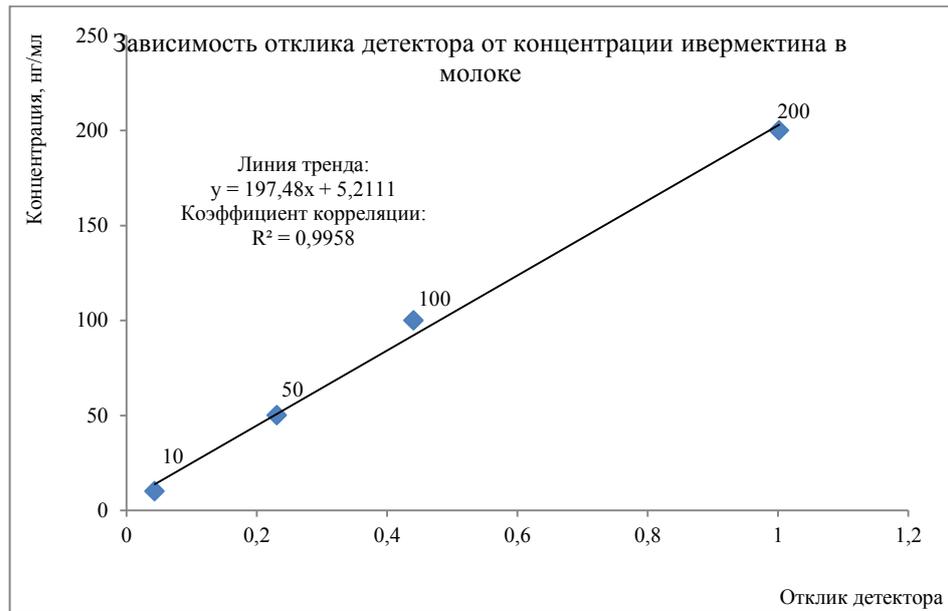


Рисунок 30 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах молока.

Тип функции – линейная: $y=197,48x+5,2111$ ($R^2=0,9958$)

Степень извлечения ивермектина из органов и тканей животного отражена в таблице 51.

Таблица 51 - Результаты анализа калибровочных растворов ивермектина в экстрактах органов и тканей

Концентрация, нг/г	Отклик детектора		Степень извлечения, %
	стандарт	«blank-образец» со стандартом	
Печень			
200	1,084725	1,066719	98,34
100	0,536253	0,512014	95,48
50	0,265324	0,246804	93,02
10	0,054208	0,047844	88,26
	\bar{S}		93,78
	$CV, \%$		4,55
	$ДИ, \pm$		4,19
Мышцы			
200	1,084725	1,020943	94,12
100	0,536253	0,513784	95,81
50	0,265324	0,227383	85,7
10	0,054208	0,049898	92,05
	\bar{S}		91,92
	$CV, \%$		4,81
	$ДИ, \pm$		4,33
Легкие			
200	1,084725	1,054461	97,21
100	0,536253	0,506223	94,4
50	0,265324	0,241657	91,08
10	0,054208	0,047231	87,13

Продложение таблицы 51

\bar{S}			92,46
CV, %			4,70
ДИ, ±			4,26
Сердце			
200	1,084725	0,990896	91,35
100	0,536253	0,520380	97,04
50	0,265324	0,244602	92,19
10	0,054208	0,050928	93,95
\bar{S}			93,63
CV, %			2,69
ДИ, ±			2,47

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации;

ДИ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы).

Таблица 52 - Результаты анализа калибровочных растворов ивермектина
в экстрактах органов и тканей

Концентрация, нг/г	Отклик детектора		Степень извлечения, %
	стандарт	«blank-образец» со стандартом	
Селезенка			
200	1,084725	0,970612	89,48
100	0,536253	0,451900	84,27
50	0,265324	0,242055	91,23
10	0,054208	0,046082	85,01
\bar{S}			87,50
CV, %			3,87
ДИ, ±			3,32
Почки			
200	1,084725	0,965321	88,99
100	0,536253	0,489520	91,29
50	0,265324	0,220265	83,02
10	0,054208	0,045628	84,17
\bar{S}			86,87
CV, %			3,92
ДИ, ±			3,84
Жир			
200	1,084725	0,924837	85,26
100	0,536253	0,477480	89,04
50	0,265324	0,214302	80,77
10	0,054208	0,045058	83,12
\bar{S}			84,55
CV, %			4,15
ДИ, ±			3,44

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации;

ДИ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы).

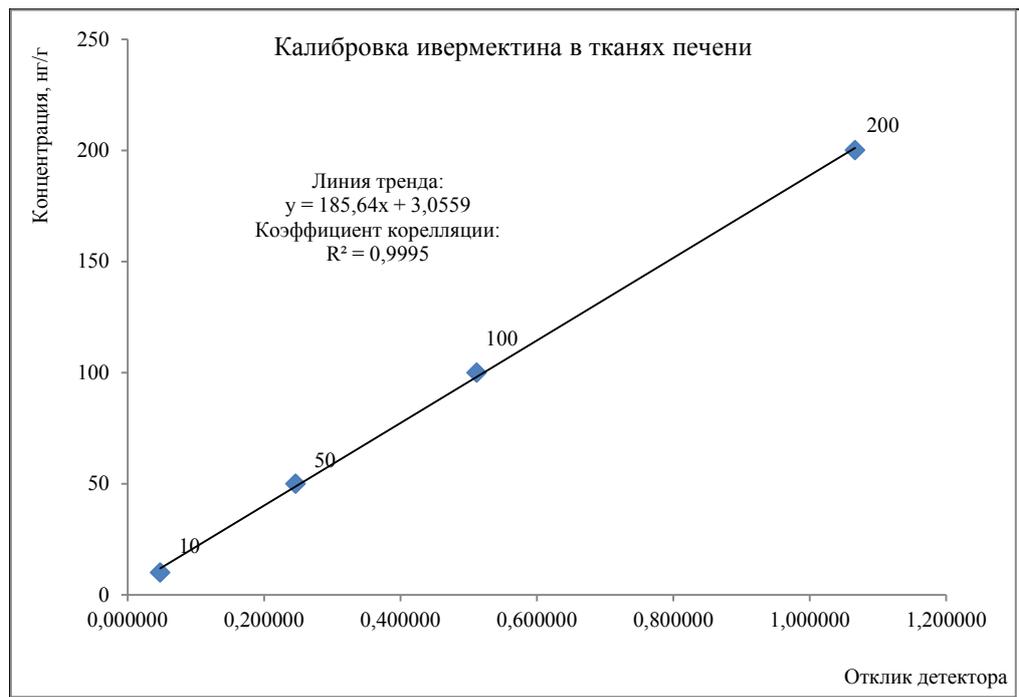


Рисунок 31- Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах печени.
 Тип функции - линейная: $y=185,64x+3,0559$ ($R^2=0,9995$)

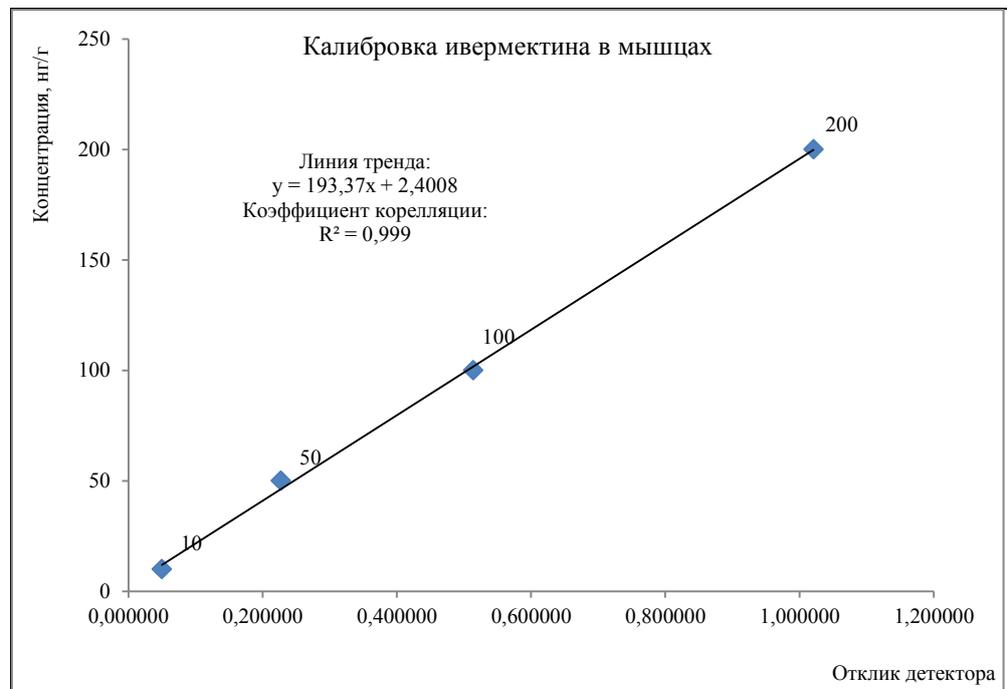


Рисунок 32 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах мышечной ткани. Тип функции–линейная: $y=193,37x+2,4008$ ($R^2=0,9990$)

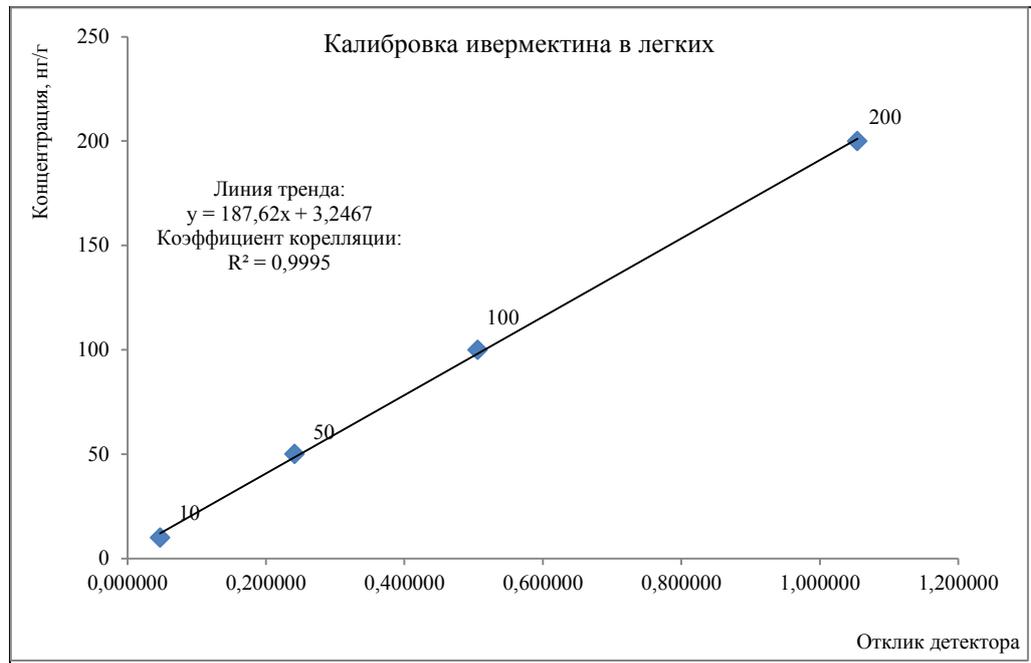


Рисунок 33 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах легких.
 Тип функции—линейная: $y=187,62x+3,2467$ ($R^2=0,9995$)

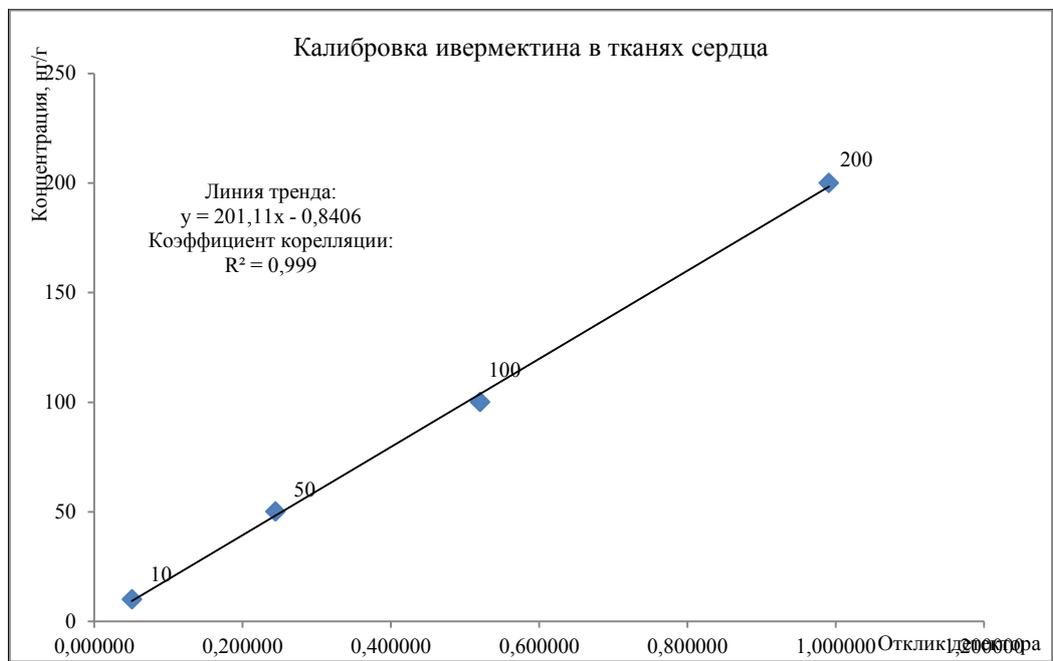


Рисунок 34 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах сердца.
 Тип функции—линейная: $y=201,11x-0,8406$ ($R^2=0,9990$)

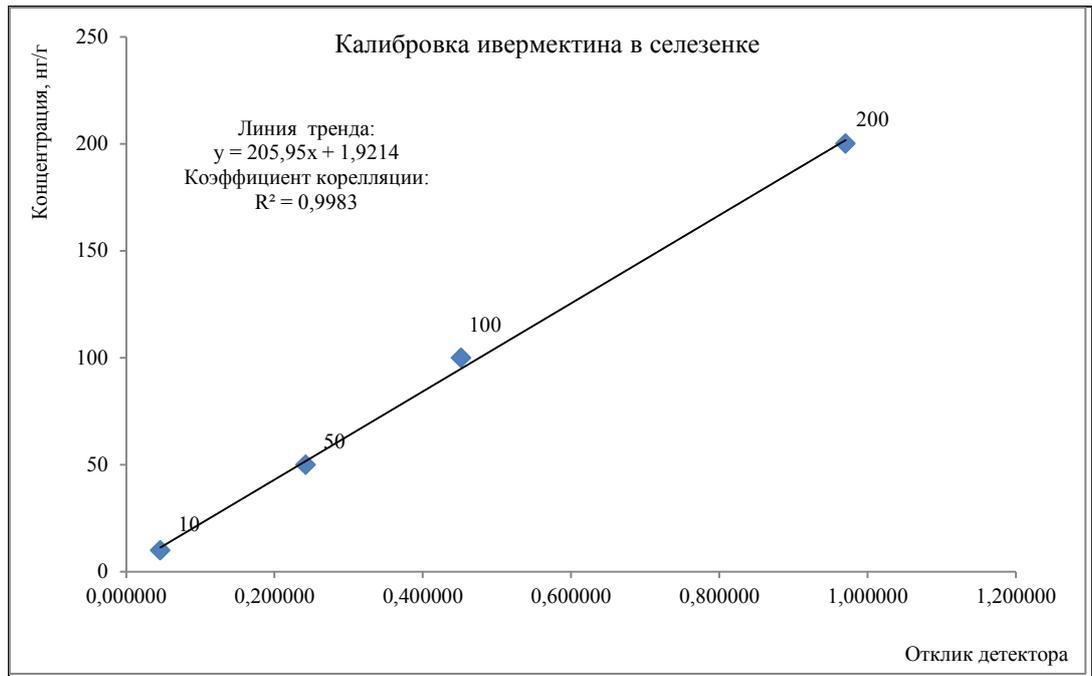


Рисунок 35 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах селезёнки.
 Тип функции – линейная: $y = 205,95x + 1,9214$ ($R^2 = 0,9983$)

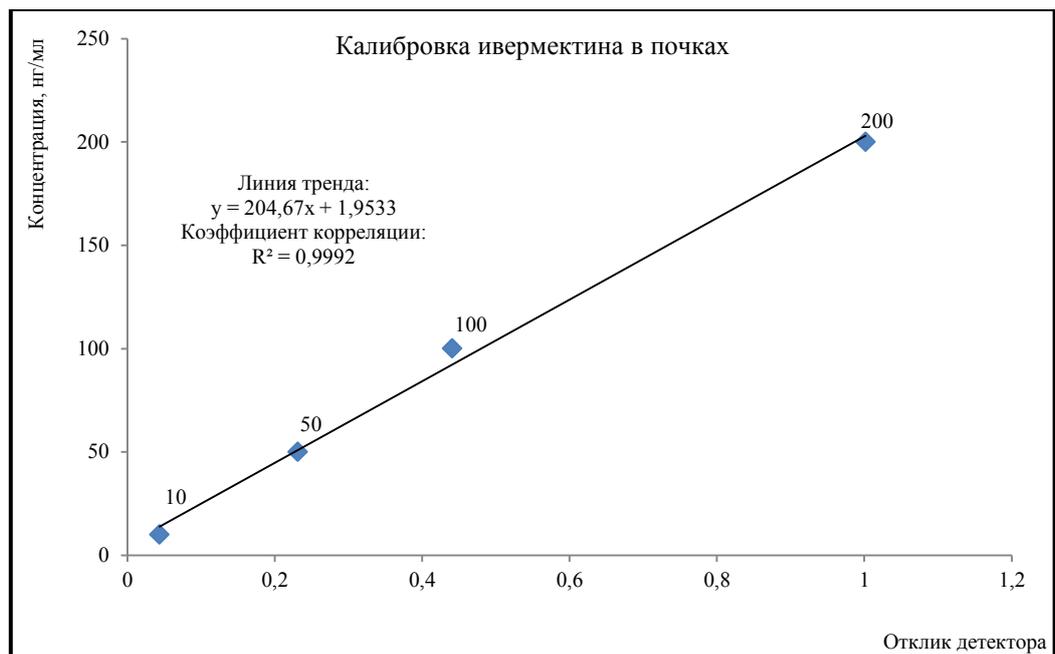


Рисунок 36 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах почек.
 Тип функции - линейная: $y = 204,67x + 1,9533$ ($R^2 = 0,9992$)

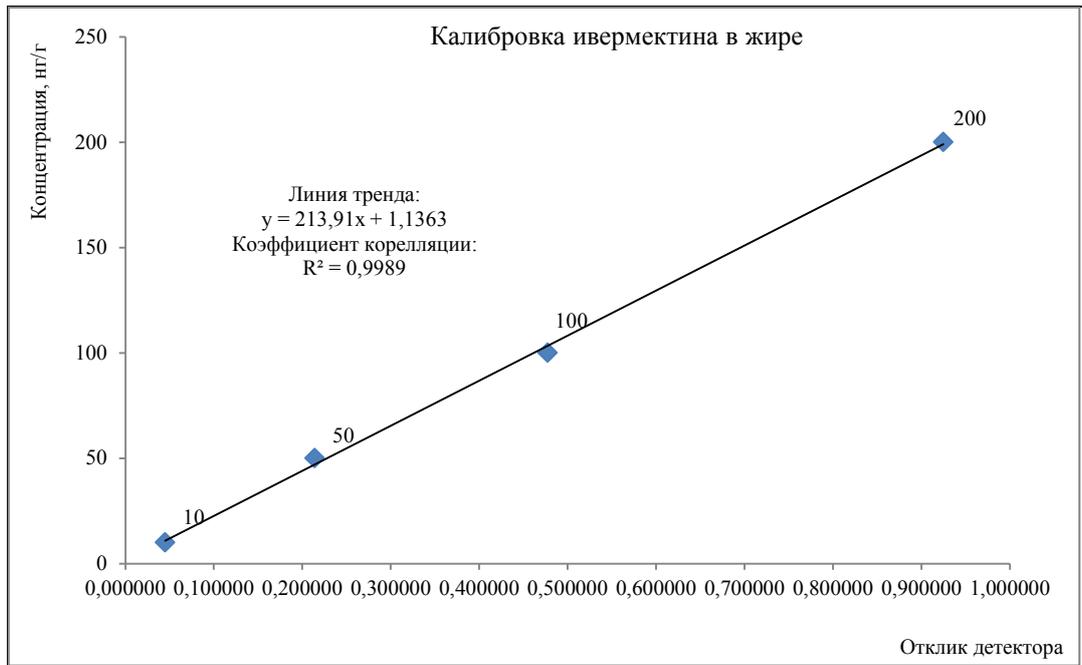


Рисунок 37 - Калибровочная кривая ивермектина в экстрактах жира.
 Тип функции–линейная: $y=213,91x+1,1363$ ($R^2=0,9989$)

Как видно из приведенных выше данных, в зависимости от концентрации ивермектина степень его извлечения из органов и тканей животного достаточно сильно варьировала. Лучше всего ивермектин (в исследуемой комбинации) определялся в печени (степень извлечения 93,78%), хуже всего в жире (степень извлечения 84,55%).

Результаты измерений степени извлечения празиквантела представлены в таблицах 53–56. Примеры калибровочных кривых празиквантела представлены на рисунках 38–47.

Таблица 53 - Результаты анализа калибровочных растворов празиквантела в экстрактах сыворотки крови

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank-образец» со стандартом	
200	4,852934	4,501968	92.77
100	2,496823	2,296001	91.96
50	1,295864	1,136952	87.74
10	265754	248632	93.56
	\bar{S}		91,51
	$CV, \%$		2,84
	$ДИ, \pm$		2,54

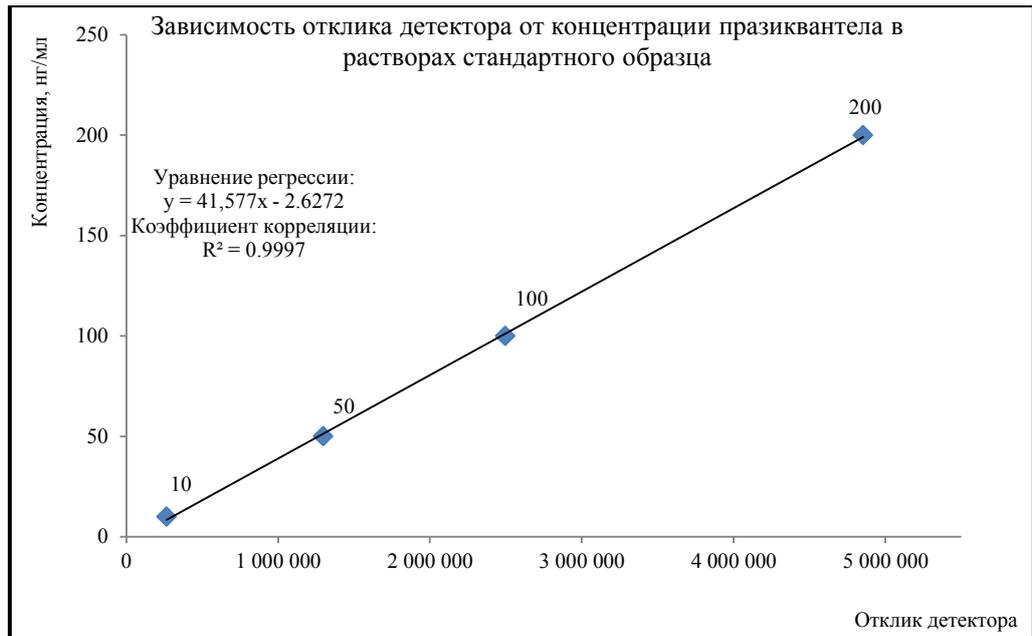


Рисунок 38 - Калибровочная кривая празиквантела в растворах стандартного образца в подвижной фазе в диапазоне 50–100 нг/мл. Тип функции–линейная:
 $y=41,238x+2,1022$ ($R^2=0,9999$)

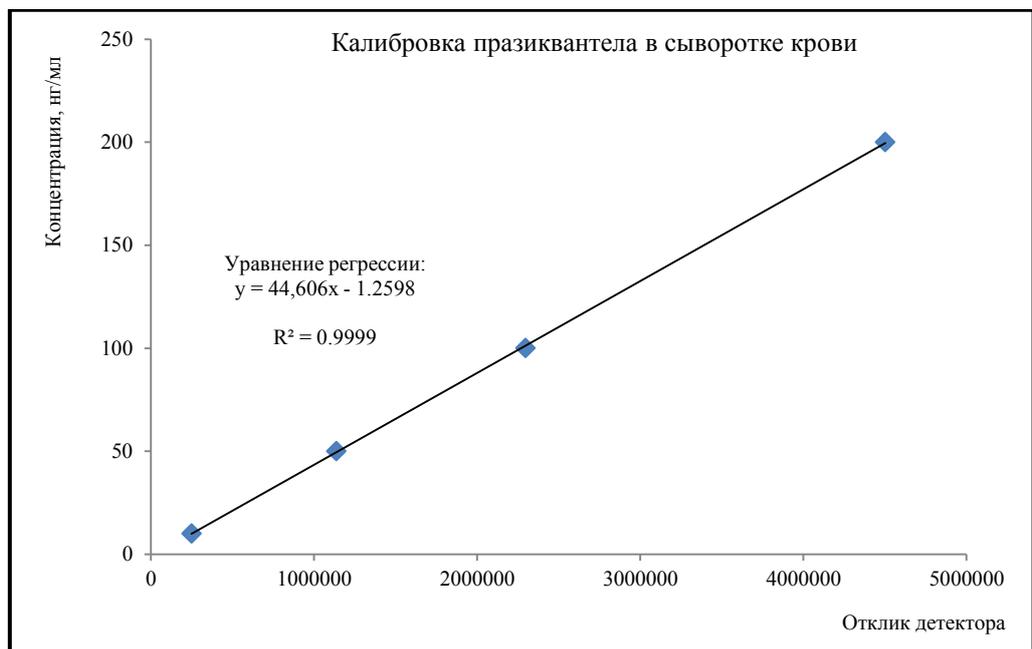


Рисунок 39 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах сыворотки крови. Тип функции–линейная: $y=44,606x-1,2598$ ($R^2=0,9999$)

Таблица 54 - Результаты анализа калибровочных растворов празиквантела в экстрактах молока

Концентрация, нг/мл	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	раствор стандартного образца	«blank-образец» со стандартом	
1000	24,270116	19,92819	82,11
500	11,921609	10,60308	88,94
100	2,348915	1,894400	80,65
50	1,267038	1,032636	81,50
\bar{S}			83,30
$CV, \%$			4,57
$ДИ, \pm$			3,73

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации;

$ДИ$ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы).

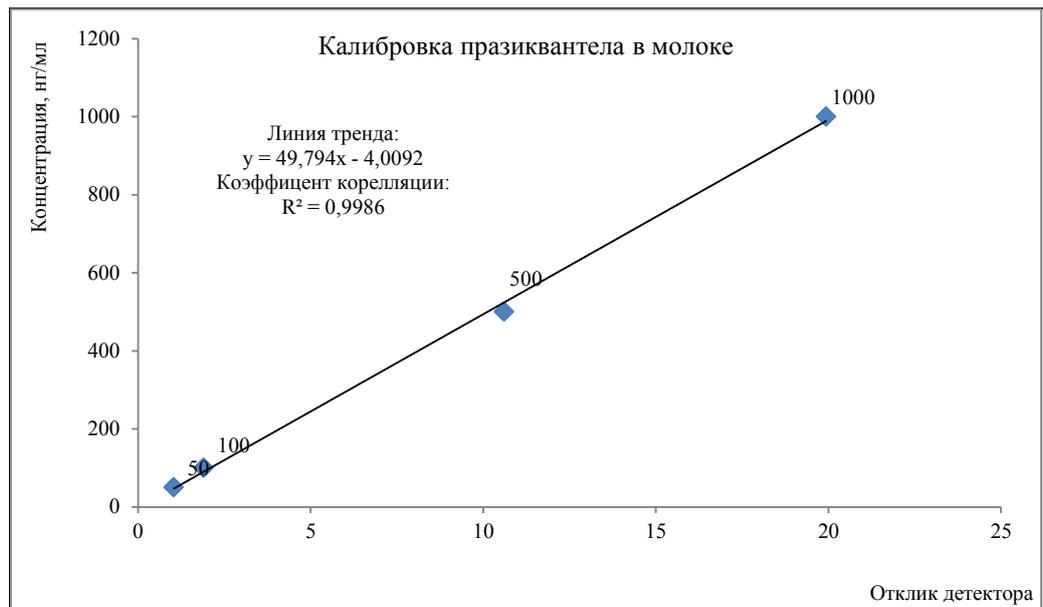


Рисунок 40 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах молока.
 Тип функции–линейная: $y=49,794x+4,0092$ ($R^2=0,9986$)

Таблица 55 - Результаты анализа калибровочных растворов празиквантела в экстрактах органов и тканей

Концентрация, нг/г	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	стандарт	«blank-образец» со стандартом	
Печень			
1000	24,270116	23,117285	95,25

Продолжение таблицы 55

500	11,921609	12,090896	101,42
100	2,348915	2,054596	87,47
50	1,267038	1,142235	90,15
\bar{S}			93,57
CV, %			6,57
ДИ, ±			6,02
Мышцы			
1000	24,270116	22,122211	91,15
500	11,921609	11,451898	96,06
100	2,348915	2,169693	92,37
50	1,267038	1,209768	95,48
\bar{S}			93,77
CV, %			2,54
ДИ, ±			2,33
Легкие			
1000	24,270116	23,838108	98,22
500	11,921609	11,248038	94,35
100	2,348915	2,116607	90,11
50	1,267038	1,204573	95,07
\bar{S}			94,44
CV, %			3,54
ДИ, ±			3,27
Сердце			
1000	24,270116	24,279824	100,04
500	11,921609	11,530580	96,72
100	2,348915	2,169458	92,36
50	1,267038	1,177965	92,97
\bar{S}			95,52
CV, %			3,74
ДИ, ±			3,50
Селезенка			
1000	24,270116	21,364983	88,03
500	11,921609	10,842703	90,95
100	2,348915	2,027583	86,32
50	1,267038	1,064312	84,00
\bar{S}			87,33
CV, %			3,35
ДИ, ±			2,87

Таблица 56 - Результаты анализа калибровочных растворов празиквантела
в экстрактах органов и тканей

Концентрация, нг/г	Отклик детектора		Степень извлечения аналита, %
	стандарт	«blank-образец» со стандартом	
Почки			
1000	24,270,116	22,104,869	91,08

Продолжение таблицы 56

500	11,921,609	11,448,031	96,03
100	2,348,915	2,158,963	91,91
50	1,267,038	1,198,314	94,58
\bar{S}			93,40
$CV, \%$			2,30
$ДИ, \pm$			2,26
Жир			
1000	24,270116	20,265547	83,5
500	11,921609	10,685338	89,63
100	2,348915	2,114258	90,01
50	1,267038	1,087499	85,83
\bar{S}			87,24
$CV, \%$			3,59
$ДИ, \pm$			3,07

\bar{S} - среднее значение ряда данных;

CV – коэффициент вариации (%);

$ДИ$ – доверительные интервалы (нижний и верхний пределы).

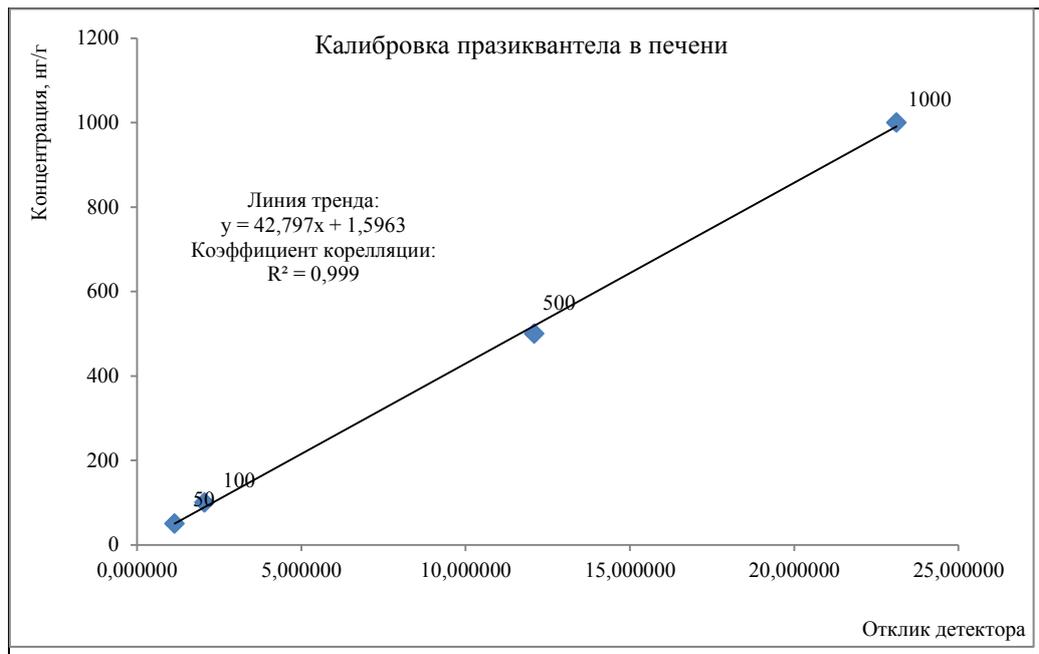


Рисунок 41- Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах печени.

Тип функции - линейная: $y=42,797x+1,5963$ ($R^2=0,9990$)

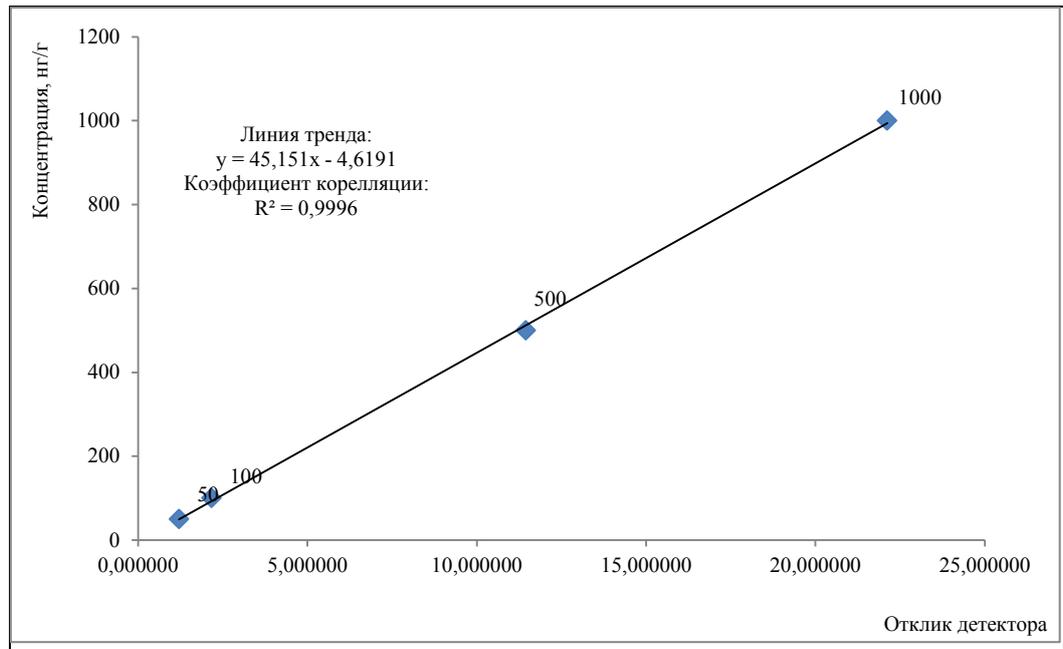


Рисунок 42 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах мышечной ткани. Тип функции – линейная: $y = 45,151x - 4,6191$ ($R^2 = 0,9996$)

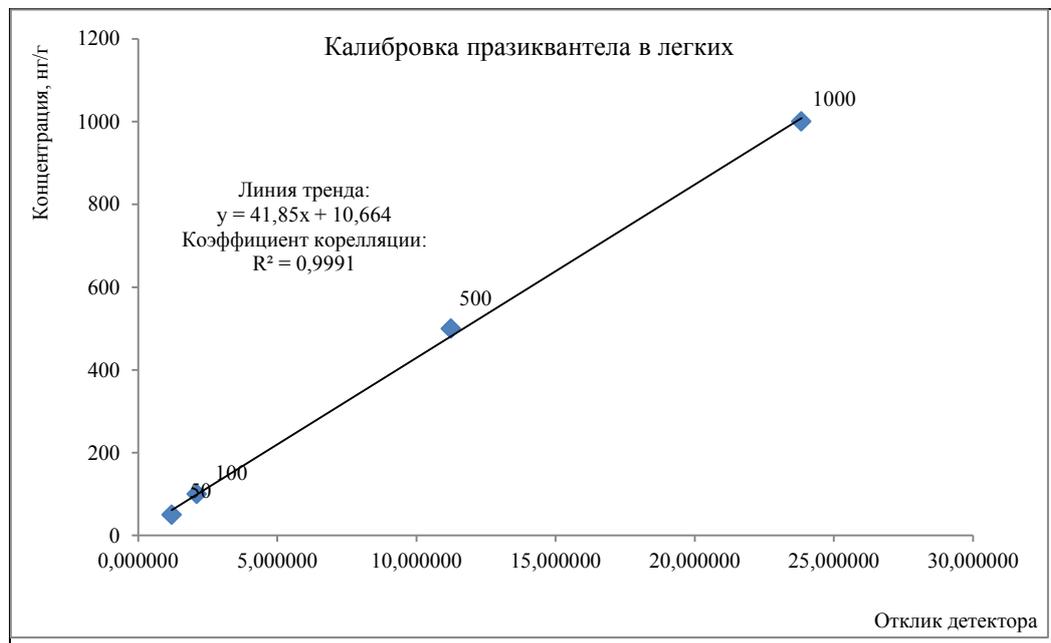


Рисунок 43 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах легких. Тип функции - линейная: $y = 41,85x + 10,664$ ($R^2 = 0,9991$).

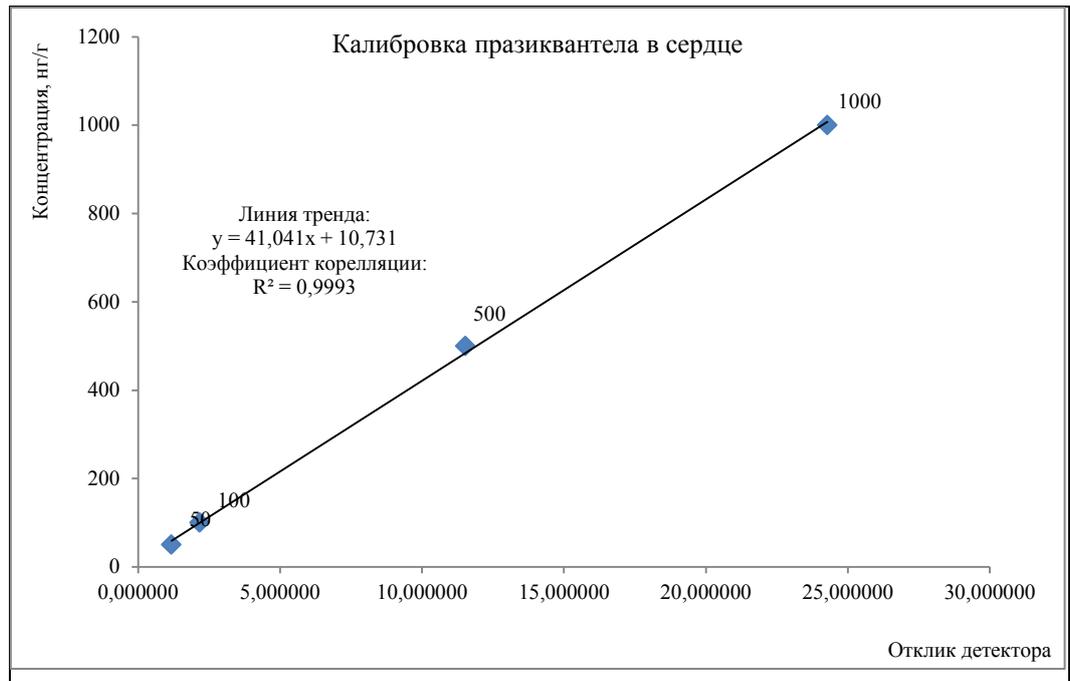


Рисунок 44 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах сердца.

Тип функции–линейная: $y=41,041x+10,731$ ($R^2=0,9993$)

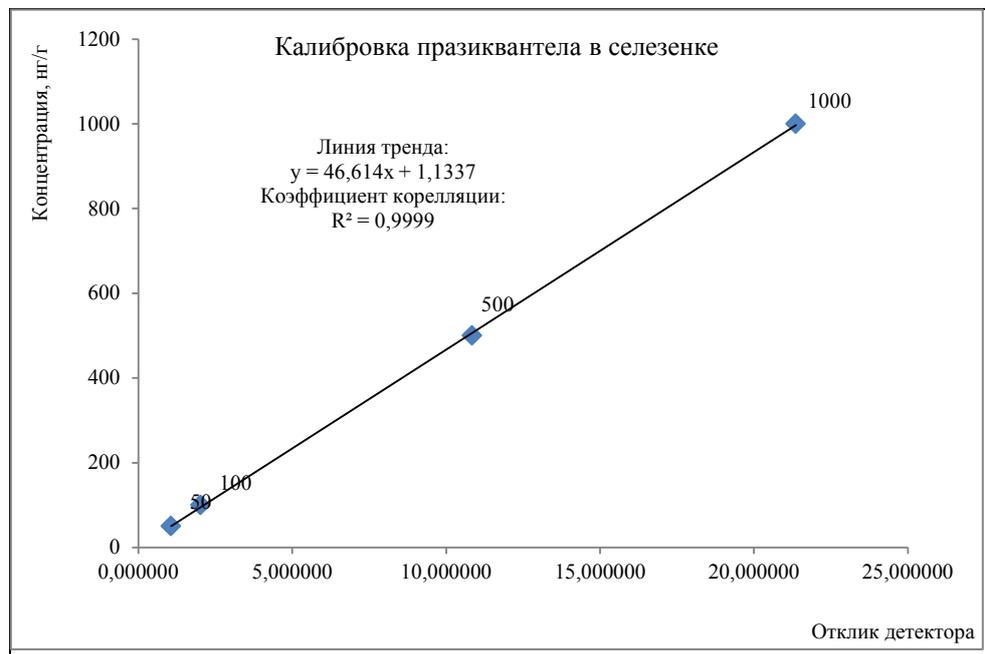


Рисунок 45 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах селезёнки.

Тип функции–линейная: $y=46,614x+1,1337$ ($R^2=0,9999$)

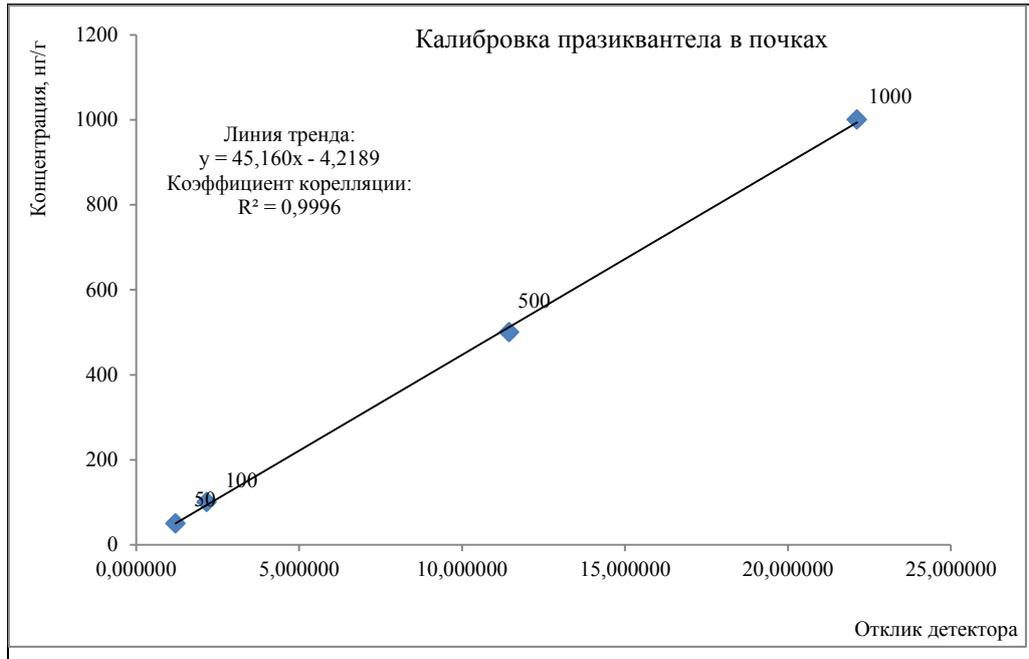


Рисунок 46 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах почек.
 Тип функции–линейная: $y=45,160x-4,2189$ ($R^2=0,9996$)

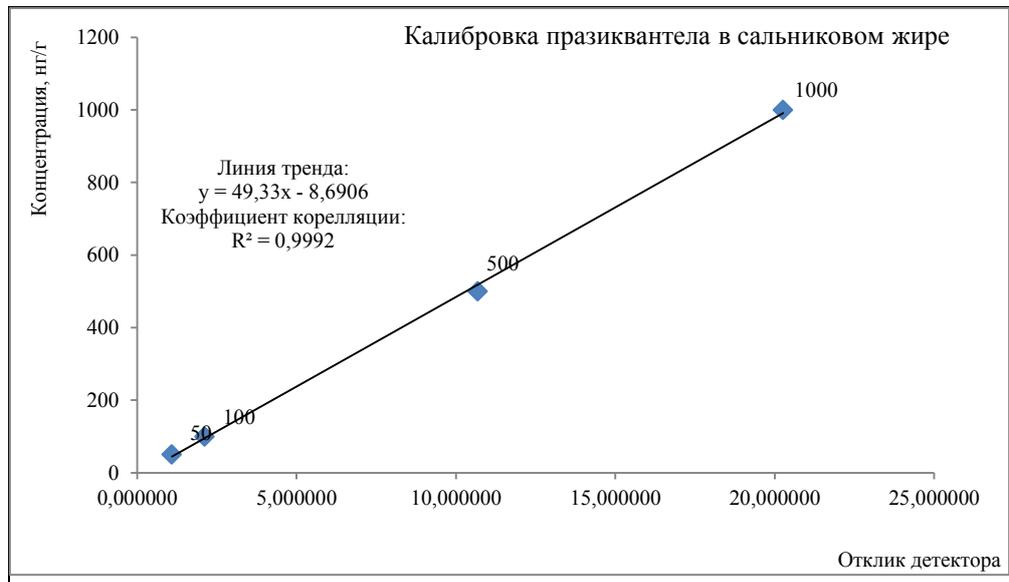


Рисунок 47 - Калибровочная кривая празиквантела в экстрактах жира.
 Тип функции–линейная: $y=49,33x-8,6906$ ($R^2=0,9992$)

Из представленных данных видно, что средняя степень извлечения ивермектина и празиквантела из разных матриц составляла от 83,3 % до 95,5 %. Несмотря на то, что получены высокие значения степеней извлечения, было

решено для всех серий измерений экспериментальных образцов применять матричную калибровку, чтоб компенсировать неполное извлечение и эффекты матрицы.

Была получена приемлемая линейность для обеих методик измерений, коэффициент корреляции для всех матриц составлял не менее 0,99, а обратно рассчитанные концентрации матричных калибровочных растворов отклонялись от теоретических значений не более чем на 15 %, что находится в соответствии с требованиями руководящих документов по валидации биоаналитических методик.

Пределы количественного определения (LoQ) и пределы обнаружения (LoD) в образцах сыворотки крови, молока, органов и тканей представлены в таблице 57.

Таблица 57 - Пределы количественного определения (LoQ) и пределы обнаружения (LoD) в образцах сыворотки крови, молока, органов и тканей

Матрица	Ивермектин		Празиквантел	
	LoD (нг/мл, нг/г)	LoQ (нг/мл, нг/г)	LoD (нг/мл, нг/г)	LoQ (нг/мл, нг/г)
Сыворотка крови	2,8	9,3	3,0	9,9
Молоко	3,0	9,9	15,2	50,0
Печень	2,7	9,0	13,5	44,5
Мышцы	2,8	9,2	13,5	44,4
Легкие	2,8	9,1	13,4	44,1
Сердце	2,7	9,0	13,2	43,6
Селезенка	2,9	9,7	14,5	47,7
Почки	3,0	9,9	14,9	49,7
Жир	3,0	10,0	14,5	47,7

LOQ – предел количественного определения метода (нг/мл, нг/г);

LOD – предел детектирования (нг/мл, нг/г).

Значения относительных среднеквадратичных отклонений (СКО) внутрисерийной и межсерийной прецизионности приведены в таблице 58.

Таблица 58 - Относительное СКО внутрисерийной и межсерийной прецизионности при анализе образцов сыворотки крови, молока, органов и тканей

Ивермектин		Празиквантел	
Отн. СКО внутрисерийной прецизионности, %	Отн. СКО межсерийной прецизионности, %	Отн. СКО внутрисерийной прецизионности, %	Отн. СКО межсерийной прецизионности, %
От 3,3 до 9,9	От 4,9 до 12,5	От 3,0 до 10,2	От 4,2 до 13,3

Значения СКО внутрисерийной и межсерийной прецизионности по обоим анализируемым веществам не превышали 15 %, что находится в соответствии с требованиями руководящих документов по валидации биоаналитических методик.

Проверка стабильности определяемых веществ в биологических объектах показала, что хранение образцов при минус 20°C обеспечивает стабильность ивермектина в течение не менее 6 месяцев, празиквантела – не менее 3 мес. Сроки хранения всех экспериментальных образцов до анализа не превышали вышеприведенных значений.

Результаты анализа содержания ивермектина в сыворотке крови овец после введения образца №4 представлены в таблице 59. Графические изображения динамики изменения концентрации ивермектина и празиквантела в сыворотке крови овец представлены на рисунке 48.

Таблица 59 - Концентрация ивермектина в сыворотке овец после применения препарата иверлонг 2 (образец № 4), нг/мл

Время отбора проб	№ животного					Среднее значение концентрации и, нг/мл	Стандартное отклонение среднего значения ряда данных (\pm);
	1	2	3	4	5		
1 ч	<LoQ*	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
1.5 ч	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
2 ч	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
4 ч	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
12 ч	14.2	<LoQ	<LoQ	10.1	12.2	12.2	2.1
24 ч	23.9	14.2	17.2	22.2	24.7	20.4	4.5
36 ч	46.2	30.9	30	48.5	46.2	40.4	9.1
2 сут.	69	41.3	52.9	78.9	72.5	62.9	15.4
4 сут.	47.3	34.2	36.2	49.2	51	43.6	7.8
7 сут.	30.8	24.9	24.2	39.2	36.5	31.1	6.7
10 сут.	22.3	20.8	20.3	25.1	32	24.1	4.8
15 сут.	17.4	14,1	14.2	18.5	14.5	15.7	2.1
20 сут.	16.1	9.1	10.1	14.2	11.7	12.5	2.9
30 сут.	10.5	<LoQ	<LoQ	12.7	10.7	11.3	1.2

* <LoQ – концентрация ниже предела количественного определения

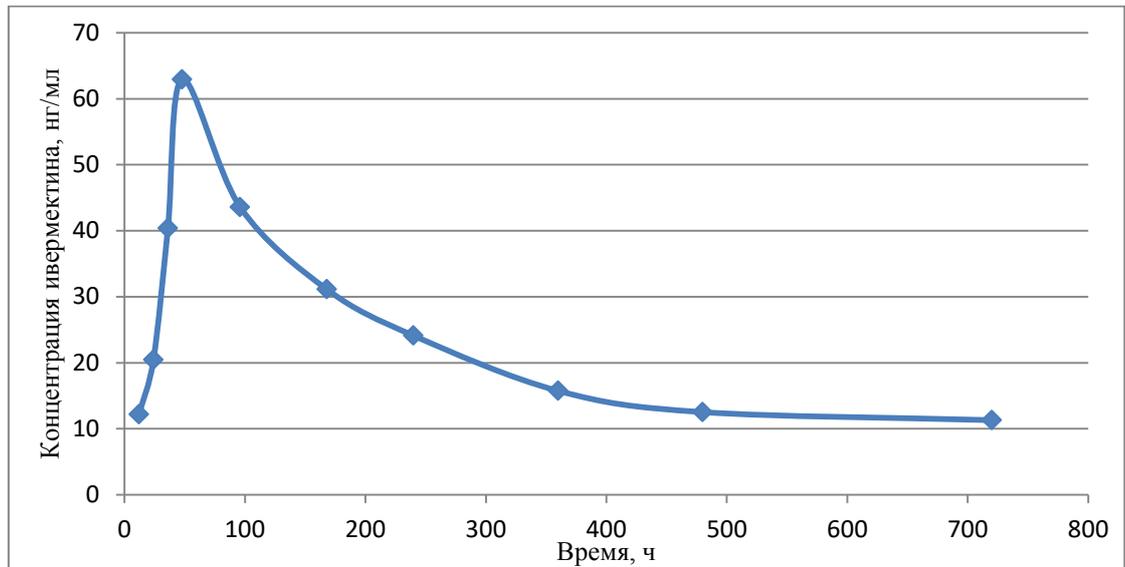


Рисунок 48 - Динамика изменения концентрации ивермектина в сыворотке крови овец после применения препарата иверлонг 2 (по средним значениям)

Фармакокинетические параметры ивермектина представлены в таблице 60.

Таблица 60 - Фармакокинетические параметры ивермектина у 5 овец после применения препарата иверлонг 2

Показатель	Ед. изм.	№1	№2	№3	№4	№5	Ср. зн.	СКО	ОСКО. %
t1/2	ч	457.7	232.9	237.9	312.7	233.5	295.0	97.1	33
Tmax	ч	48	48	48	48	48	48	0	0
Cmax	нг/мл	69	41.3	52.9	78.9	72.5	62.92	15.4	25
AUC 0-t	нг/мл*ч	16524	11612	12199	17821	17062	15043	2909	19
AUC 0-∞	нг/мл*ч	23458	13292	13915	23550	20667	18976	5045	27
MRT 0-∞	ч	592.9	350.4	345.4	480.3	386.0	431.0	105.5	24

Из полученных данных видно, что высвобождение действующих веществ в кровотоки происходит с задержкой, и, что более важно, высвобождение носит медленный и постепенный характер, особенно выражено это для ивермектина. Концентрация ивермектина достигла максимума через 48 часов и составила $62,9 \pm 15,4$ нг/мл. Постепенно концентрация препарата падала и на 30-е сутки составила $11,3 \pm 1,2$ нг/мл.

При анализе фармакокинетических параметров было установлено, что среднее значение периода полувыведения ивермектина из сыворотки крови составило 295 ч. Таким образом, установлена долгая циркуляция ивермектина в организме овец. Анализируя полученные средние концентрации ивермектина в сыворотке крови овец, можно отметить, что наличие полимера в препарате способствует длительному поддержанию концентрации ивермектина на уровне, превышающем минимальную эффективную концентрацию 1 нг/мл Lifschitz A. (2007) [347]. Также, длительной циркуляции способствуют выраженные липофильные свойства ивермектина, ввиду чего он может на длительное время депонироваться в жировой ткани животных. Имеются сведения об устойчивости макроциклических лактонов к печеночной биотрансформации и об их малоинтенсивном выведении с мочой [344].

Результаты анализа содержания празиквантела в сыворотке крови овец после введения образца №4 представлены в таблице 61. Графические изображения динамики изменения концентрации празиквантела в сыворотке крови овец представлены на рисунке 49.

Таблица 61 - Концентрации празиквантела в сыворотке крови овец после применения препарата иверлонг 2 (образец №4), нг/мл

Время отбора проб	№ животного					Среднее значение концентрации, нг/мл	Стандартное отклонение среднего значения ряда данных (\pm);
	1	2	3	4	5		
1 ч	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
1.5 ч	16.5	29.5	17.3	29.5	<LoQ	23.2	7.3
2 ч	138.0	149.9	100.1	153.9	90.2	126.4	29.3
4 ч	152.8	120.1	130.0	171.5	108,0	136.5	25.6
12 ч	68,0	78,5	76,5	48.9	28,0	60.0	21.4
24 ч	47.2	66	62.5	39.5	17.8	46.6	19.4
36 ч	29.9	47.5	48	35.5	11.5	34.5	15.0
2 сут.	17.8	27.3	42.2	26.8	<LoQ	28.5	10.1
4 сут.	14.0	16.5	11.0	23.2	<LoQ	16.2	5.2
7 сут.	12.0	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	12.0	-
10 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-

* <LoQ – концентрация ниже предела количественного определения

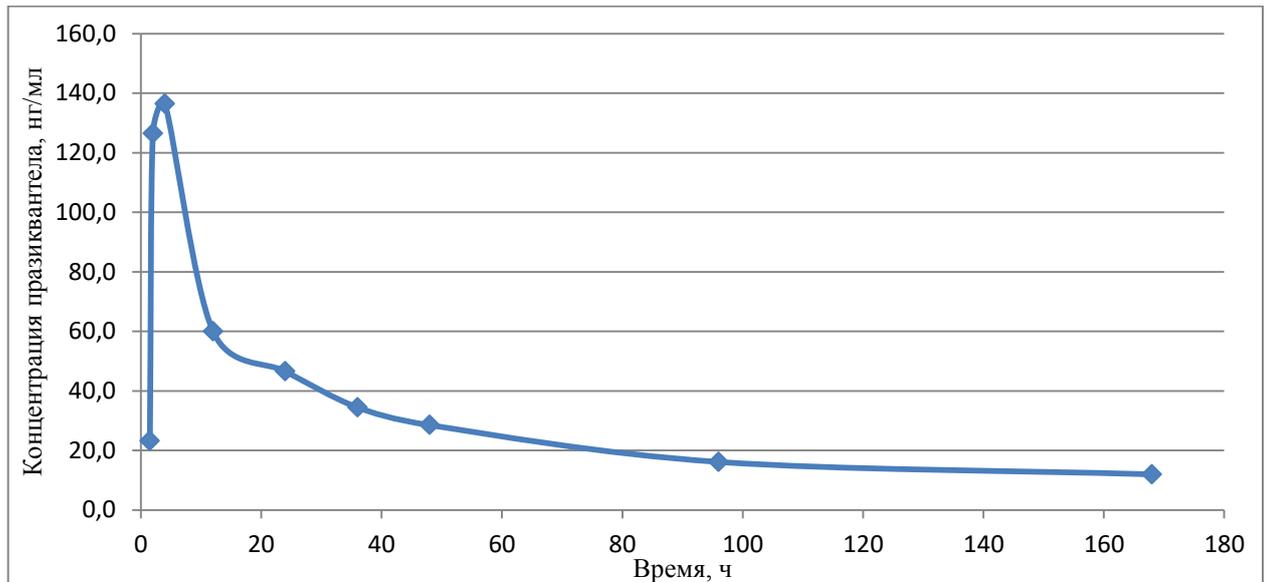


Рисунок 49 - Динамика изменения концентрации празиквантела в сыворотке крови овец после применения препарата иверлонг 2 (по средним значениям)

Фармакокинетические параметры празиквантела приведены в таблице 62.

Таблица 62 - Фармакокинетические параметры празиквантела у 4* овец после применения препарата иверлонг 2

Пок-ль	Ед. изм.	№1	№2	№3	№4	Ср. зн.	СКО	ОСКО. %
t1/2	ч	37.9	32.9	28.4	81.3	45.1	24.4	54
Tmax	ч	4	2	4	4	3.5	1.0	29
Cmax	нг/мл	152.8	149.9	130	171.5	151.05	17.0	11
AUC 0-t	нг/мл*ч	3428	4174	4418	3829	3963	431	11
AUC 0-∞	нг/мл*ч	4193	4957	4868	6550	5142	999	19
MRT 0-∞	ч	50.4	48.7	40.8	108.2	62.0	31.1	50

*Параметры животного №5 не рассчитывали из-за низких значений в начальных и конечных точках отбора проб.

В результате исследований установлено, что высвобождение празиквантела шло гораздо быстрее, по сравнению с ивермектином, концентрация достигла максимального уровня уже через 4 часа ($136,5 \pm 25,6$ нг/мл), затем концентрация стала снижаться. Через сутки концентрация составила уже $46,6 \pm 19,4$ нг/мл, через 4 суток $16,2 \pm 5,2$ нг/мл, а на 7–10-е сутки концентрация снизилась ниже предела количественного определения методики измерений. Среднее значение периода полувыведения празиквантела из сыворотки крови составило 45 ч. Интенсивное

выведение празиквантела, по сравнению с ивермектином, может быть объяснено его гораздо меньшей устойчивостью к биотрансформации.

Этот опыт продемонстрировал, что выбор в качестве полимерного носителя для жидкой имплантируемой системы сополимера молочной и гликолевой кислот обеспечивает плавное и длительное высвобождение действующих веществ в организме овец, в особенности ивермектина, значимые концентрации которого выявляли в крови до 30 суток после введения препарата.

3.3.5.5 Результаты клинических испытаний иверлонга 2 при смешанных гельминтозах овец

Эффективность однократного введения иверлонг 2 (образец №4) против гельминтозов ягнят представлена в таблице 63.

Таблица 63 - Результаты копрологических исследований ягнят до и через 1–2 месяца после введения иверлонга 2

Группа, доза мл/10кг	ИИ ЭИ	Стронгиляты			Нематодирусы			Трихоцефалы			Мониезии		
		до дачи	через 1 мес	через 2 мес	до дачи	через 1 мес	через 2 мес	до дачи	через 1 мес	через 2 мес	до дачи	через 1 мес	через 2 мес
Гр. 1, 1 мл	ИИ, экз.	154±8,5	0,6±0,01	0	16,6±1,4	0	0	74,0±5,4	0	1,2±0,3	7,2±2,1	0,6±0,01	14,4±2,3
	ЭИ, %	100	20	0	60	0	0	60	0	20	40	20	100
Гр. 2, 1,5мл	ИИ, экз.	170±9,2	0	0	14,2±0,6	0	0	3,4±0,7	0	0	27,6±3,5	0	9,6±1,2
	ЭИ, %	100	0	0	80	0	0	20	0	0	100	0	40
Контроль													
Мони зен, 1мл на 10 кг	ИИ, экз.	150±8,3	0	162±9,8	11,4±2,1	0	13±3,5	8,8±2,4	0	11,4±2,2	19,8±3,1	0	4,2±1,6
	ЭИ, %	100	0	100	60	0	80	40	0	60	80	0	60

ИИ–интенсинвазированность – количество яиц гельминтов в 1 г фекалий; ЭИ–экстенсинвазированность – количество зараженных животных, в %.

Анализ полученных результатов копрологических исследований показывает, что в первой группе уже через 1 месяц после обработки иверлонгом 2

в дозе 1 мл на 10 кг обнаружили яйца мониезий в фекалиях ягнят. Через 60 суток ягнята опытной группы были заражены мониезиями (ЭИ = 20%). В то же время препарат в этой дозе оказался высокоэффективен против нематодозов желудочно-кишечного тракта. Против стронгилят – на 30-е сутки экстенсинвазированность снизилась со 100% до 20%, а количество яиц нематод в г фекалий – со 154 экз. до 0,6 экз. На 60-е сутки эксперимента не обнаружили яиц стронгилят в фекалиях ягнят. Яиц нематодирусов не обнаруживали ни на 30-е, ни на 60-е сутки эксперимента, в то время как яйца трихоцефал обнаружили при повторном исследовании. При этом заразилось только одно животное из группы и число яиц в фекалиях было на очень низком уровне 1,2 экз. против 74 до применения препарата. Во второй группе получили лучшую эффективность препарата против нематод. В течение всего периода наблюдения нематодами не заразилось ни одно животное. Мониезиями в этой же группе через 30 суток не заразилось ни одно животное, на 60-е сутки опыта заразилось два животных из группы, количество яиц в г фекалий в этой группе было зафиксировано на уровне 9,6 яиц. В контрольной группе, обработанной препаратом монизен, через 30 суток после обработки не обнаружили в фекалиях ягнят яиц гельминтов. На 60-е сутки эксперимента ягнята с разной интенсивностью, но заразились стронгилятами, нематодирусами, трихоцефалами и мониезиями. При этом интенсинвазированность стронгилятами была даже выше, чем до обработки. Нематодирусами заразились четыре ягнёнка из пяти. Трихоцефалами заразились три ягнёнка, причем количество яиц в 1 г фекалий возросло с 8,8 до 11,4 экз., Зараженность ягнят мониезиями при повторном заражении была ниже (ЭИ – 60% при наличии 4,2 экз яиц в 1 г фекалий), чем на начало эксперимента.

Результаты, полученные в ходе этого эксперимента, позволяют сделать вывод, что более эффективна доза иверлонга 2 – 1,5 мл/10 кг массы тела животного. Однократное введение препарата в этой дозе позволяет полностью освободить овец от стронгилят, нематодирусов, трихоцефал и мониезий, а также профилактировать заражения ягнят этими нематодозами на протяжении двух месяцев. В результате проведенных исследований установлено, что препарат ни в

одной из испытанных доз не предупреждает от повторного заражения овец мониезиями.

3.4 Фармако-токсикологические свойства и эффективность супрамолекулярного комплекса никломек

3.4.1 Данные, полученные при исследовании размеров частиц никломека и субстанций ивермектин и никлозамид

Метод определения размера частиц основывается на измерении углового распределения интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча через образец. Крупные частицы преимущественно рассеивают свет под малыми углами к лазерному пучку, тогда как мелкие частицы – под большими углами. Размер частиц выражается в виде диаметра сферы эквивалентного объема. Международные нормативные документы регламентируют представление основных результатов измерений анализаторами размеров частиц в виде d_{10} , d_{50} и d_{90} , что соответствует процентному содержанию весовой доли частиц заданного размера менее 10, 50 и 90 в % от общего содержания. Изучив размер частиц никломека и использованных для его создания субстанций ивермектина и никлозамида, установили, что никломек имел максимальный размер частиц 50,4 мкм, что в 2,5 раза меньше максимальных значений размера частиц субстанции никлозамида и в 4,9 раза – ивермектина. Минимальный размер частиц никломека, который удалось установить – 1,96 мкм, что в 6,8 раза меньше размера частиц никлозамида и в 19 раз меньше размера частиц ивермектина. В таблице 64 представлены размеры частиц никломека и исходных субстанций.

Таблица 64 - Размер частиц никломека, а также субстанций никлозамида и ивермектина

№	Название образца	d_{90} мкм	d_{50} мкм	d_{10} мкм
1	Никломек серия 020618	50,4	10,4	1,96
2	Субстанция никлозамид серия 9101801001	128,2	39,2	13,4

Продолжение таблицы 64

3	Субстанция ивермектин серия 0317010005	246,6	123,9	37,2
---	---	-------	-------	------

Из данных, приведенных в этой таблице, видно, что никломек в форме порошка имеет в разы меньшие размеры частиц по сравнению с частицами субстанций никлозамида и ивермектина. Безусловно, по нашему мнению, это влияет на растворимость и биодоступность никломека.

3.4.2 Результаты исследования острой токсичности препарата никломек

Острую токсичность препарата изучали на примере двух его вариантов (варианты №2 и 1). Вариант №2 задавали мышам в виде 17,2% суспензии. Клинические проявления острого отравления мышей в диапазоне доз 10,0–14,0 г/кг характеризовались выраженным угнетением и вялостью, а также нарушением координации движения, малоподвижностью. Смерть животных наступала от остановки дыхания.

Результаты острой токсичности никломека (вариант 2) представлены в таблице 65.

Таблица 65 - Результаты острой токсичности никломека (вариант 2) при введении в желудок белым мышам

Доза в г/кг	8,0	10,0	12,0	14,0
Выжило	0	4	2	0
Погибло	1	2	4	6

На основании данных, приведенных в таблице, рассчитали значение среднесмертельной дозы ЛД₅₀ никломека вариант 2 по методу Кербера и ее ошибку по формуле Гаддама. Установлено, что ЛД₅₀ никломека (вариант 2) составляет 11,7±0,58 г/кг массы животного. По классификации (ГОСТ 12.1.007-76) никломек (вариант 2) относится к малотоксичным соединениям (4 класс

опасности). Графический анализ зависимости «доза–эффект» позволяет определить смертельные дозы – LD_{16} и LD_{84} , которые составили – 9,3 г/кг и 12,9 г/кг соответственно.

Несмотря на то, что образец №2 содержал в своем составе большее количество активных действующих веществ, были изучены параметры острой токсичности самого эффективного варианта (по результатам предварительных исследований) состава препарата никломек серии 1. Животным вводили препарат в дозах 8,0; 10,0; 12,0; 14,0; 16,0 г/кг. Клиника острого отравления животных, подвергавшихся действию никломека (вариант 1) в диапазоне доз 12,0–16,0 г/кг была схожей с клиническими проявлениями интоксикации мышей никломеком (вариант №2). Полученные в ходе этого опыта результаты представлены в таблице 66.

Таблица 66 - Результаты изучения острой токсичности суспензии никломека (вариант 1)

Доза в г/кг	8,0	10,0	12,0	14,0	16,0
Выжило	6	5	4	2	0
Погибло	0	1	2	4	6

На основании данных, приведенных в таблице, рассчитали значение среднесмертельной дозы LD_{50} никломека вариант 1. LD_{50} препарата составил $12,7 \pm 0,74$ г/кг массы тела, что позволяет отнести его к малотоксичным соединениям (4 класс по ГОСТ 12.1.007-76). С помощью графического метода анализа зависимости «доза–эффект» определяли LD_{16} и LD_{84} , которые составили – 9,8 г/кг и 15,6 г/кг соответственно.

По результатам экспериментов можно сделать вывод, что оба варианта (№1 и 2) препарата никломек относятся к малотоксичным соединениям (4-й класс опасности). LD_{50} варианта №1 препарата никломек составляет $12,7 \pm 0,74$ г/кг массы тела, а LD_{50} никломека (вариант 2) составляет $11 \pm 0,58$ г/кг массы тела. В то время как, по данным Дорошиной М.В. (1966) [94], LD_{50} никлозамида

составляет 13,5 г/кг, а ЛД₅₀ субстанции ивермектина составляет 25 мг/кг. Таким образом, этот эксперимент еще раз наглядно показывает, что с помощью механохимии можно создавать антипаразитарные комплексы с большей эффективностью, чем у исходных фармацевтических субстанций. В нашем случае никломек (оба исследованных варианта) оказался менее токсичен, чем никлозамид, и в два раза (вариант №1 – в 1,97, а вариант №2 в 2,3 раза) менее токсичен, чем исходная субстанция – ивермектин.

3.4.3 Результаты изучения субхронической токсичности никломека (вариант №1)

Проведенный клинический анализ периферической крови на 14-, 35- и 44-й дни эксперимента показал, что концентрация гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов у животных опытных групп достоверно не отличались от тех же показателей животных контрольных групп на протяжении всего опыта (таблица 67).

Таблица 67 - Гематологические показатели при введении никломека в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ (P>0,05)

День (от начала эксперимента)	Группа	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, x10 ¹² /л	Лейкоциты, x10 ⁹ /л
14	1	153 ±3,8	8,2 ± 0,56	9,8 ± 0,69
	2	149 ±3,9	7,7 ± 0,69	10,3 ±0,59
	3 (Контроль)	147 ±4,5	8,1 ±0,55	10,5 ±0,58
35	1	147 ±5,7	7,2 ± 0,49	11,4 ±0,65
	2	152 ±4,8	7,4 ± 0,58	10,8 ±0,76
	3 (Контроль)	148 ±3,9	7,6 ±0,61	11,1 ±0,64
44	1	147 ±3,9	7,8 ±0,62	10,6 ±0,68
	2	148 ±4,7	7,5 ± 0,49	10,5 ±0,59
	3 (Контроль)	147 ±4,9	7,9 ±0,62	10,7 ±0,58

Полученные в ходе этого опыта данные свидетельствуют об отсутствии влияния никломека на гематологические показатели.

Функциональное состояние печени оценивали по концентрации белка, креатинина, глюкозы, активность аланин- и аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы в сыворотке крови при введении никломека крысам (таблица 68).

Таблица 68 - Показатели функционального состояния печени

Сутки (от начала эксперимента)	Группа	Белок, г/л	АлАТ, ед/л	АсАТ, ед/л	Щелочная фосфатаза, ед/л	Глюкоза, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
14	1	59*±3,1	24,6* ±1,4	24,1 ±1,7	18,4±1,8	3,42± 0,11	96,8*± 4,8
	2	61*± 4,3	14,6 ±1,7	15,8 ± 1,9	17,3±1,9	3,15 ±0,18	84,8+ 6,2
	контроль	69± 3,7	13,8 ± 1,3	15,3 ± 1,8	19,1±1,5	4,29± 0,13	86,4± 5,7
35	1	62 ± 4,4	16,3 ± 1,5	15,9 ±1,4	17,3±1,9	4,67± 0,16	85,7± 4,8
	2	68 ±2,7	17,2 ± 1,4	14,8 ±1,3	10,2±1,8	4,63± 0,14	85,7± 4,9
	контроль	67 ± 4,4	15,9 ±1,5	13,7 ±1,9	18,5±1,6	4,44± 0,19	86,3±5,3
44	1	62 ±3,7	16,4 ±1,7	15,7 ±1,8	19,6±1,2	4,97± 0,23	84,8± 4,7
	2	65 ±3,8	15,8 ±1,6	14,6 ±1,7	16,8±1,5	4,14± 0,26	85,8± 4,8
	контроль	63 ± 4,4	16,1 ± 1,7	13,8 ±1,3	13,1±1,8	4,87± 0,18	87,3 ± 3,6

*P≤0,05

Данные, полученные в ходе этого эксперимента, выявили повышение индикаторных ферментов печени, креатинина и снижение общего белка сыворотки крови, что указывает на гепатотоксичность завышенных доз препарата в хроническом эксперименте. Однако данные изменения не стойкие и приходят к норме через 21 день после отмены препарата.

Результаты исследования функционального состояния почек после введения животным никломека в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ представлены в таблице 69.

Таблица 69 - Функциональное состояние почек при введении животным препарата никломек

День (от начала эксперимента)	Группа	Суточный диурез, мл	pH	Плотность мочи	Мочевина сыворотки крови, ммоль/л
14	1	16,1 ± 1,42*	6,8±0,11	1,010*±0,001	6,7± 0,26*
	2	13,8 ±1,39	6,7±0,13	1,018 ±0,001	5,3± 0,23
	3 (Контроль)	12,9 ±0,41	6,9±0,14	1,019± 0,001	5,8± 0,19
35	1	12,0 ±1,42	6,7±0,10	1,019± 0,001	5,1 ±0,26
	2	12,1 ±1,41	6,5±0,12	1,020± 0,001	5,3 ± 0,24
	3 (Контроль)	13,9 ±1,43	6,8±0,10	1,019± 0,001	5,6± 0,21
44	1	12,2 ±1,44	6,9±0,12	1,019± 0,001	5,7± 0,27
	2	12,1 ±1,46	6,6±0,13	1,018± 0,001	5,1± 0,23
	3 (Контроль)	12,3 ±1,41	6,7±0,11	1,02± 0,001	5,8± 0,27

* $P \leq 0,05$

Из полученных данных видно, что при длительном введении больших доз препарата наблюдается снижение функциональной активности почек, о чем свидетельствует повышение концентрации мочевины сыворотки крови, снижение удельного веса мочи и повышение суточного диуреза по сравнению с контрольными животными. Вместе с этим данные изменения обратимы, на что указывают нормальные величины функциональной активности почек уже через 21 сутки после отмены препарата.

Функциональную активность центральной нервной системы оценивали по работоспособности животных с помощью метода удержания на горизонтальном стержне и двигательной активности. Полученные в ходе этого эксперимента данные отражены в таблице 70.

Таблица 70 - Показатели, характеризующие состояние центральной нервной системы крыс, получавших никломек в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ в хроническом эксперименте

День (от начала эксперимента)	Группа	ВДА (число вертикальных стоек в 3 мин)	ГДА, с.	Время удержания на стержне, с.
14	1	6,2±1,7	42,5±6,1	71,6±3,9
	2	6,0±1,4	43,6±6,8	69,4±4,3
	3 (Контроль)	6,0±1,5	43,6±6,6	77,3±5,6
35	1	6,1 ±1,6	42,4±7,1	75,2±5,4*
	2	6,7±1,2	42,1 ±7,2	67,6±5,7
	3 (Контроль)	6,8±1,8	43,2±6,2	66,7±6,6
44	1	6,1±1,1	43,4±4,2	65,3±6,7
	2	6,8±1,2	42,2±6,1	68,5±6,4
	3 (Контроль)	6,8±1,1	42,6±5,4	74,1±6,1

* $P \leq 0,05$

Все показатели, характеризующие состояние ЦНС и работоспособности животных опытных групп, достоверно не отличаются от таковых у животных из контрольных групп, за исключением времени удержания на стержне. Следовательно, никломек не оказывает влияние на состояние ЦНС.

Результаты исследования весовых коэффициентов внутренних органов крыс после введения им никломека в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ представлены в таблице 71.

Таблица 71 - Весовые коэффициенты внутренних органов крыс ($P > 0,05$)

Орган	Срок	Группа 1	Группа 2	Группа 3 (контроль)
печень	14	7,34±0,34	7,28±0,31	7,41±0,27
	44	7,93 ±0,31	7,92 ± 0,29	7,82 ± 0,33
почки	14	1,09±0,04	1,06±0,03	1,10±0,05
	44	1,15 ±0,07	1,17± 0,06	1,16± 0,09
селезенка	14	0,54±0,01	0,52 ±0,03	0,55±0,04

Продолжение таблицы 71

	44	$0,57 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,05$	$0,59 \pm 0,03$
сердце	14	$0,78 \pm 0,03$	$0,77 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,05$
	44	$0,82 \pm 0,05$	$0,89 \pm 0,04$	$0,88 \pm 0,06$
вес животного	14	$249,3 \pm 5,4$	$254,5 \pm 7,3$	$251,7 \pm 5,9$
	44	$263,9 \pm 5,6$	$265,6 \pm 5,3$	$267,2 \pm 4,8$

Массовые коэффициенты органов у животных опытных групп находятся на одном уровне с таковыми в контрольной группе. Они достоверно не отличаются, что свидетельствует о том, что никломек не оказывает воздействия на эти показатели.

Проведенные исследования позволяют заключить, что длительное введение препарата никломек крысам в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ не приводит к изменениям со стороны органов кроветворения. Показатели клинического анализа периферической крови, такие как концентрация гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов у животных опытных групп достоверно не отличаются от показателей животных из контрольной группы на всем протяжении опыта. Кроме того, данные показатели не изменяются на всем протяжении эксперимента.

В результате исследований установлено, что введение препарата крысам в дозе 1/100 от LD₅₀ приводит к повышению индикаторных ферментов печени и снижению общего белка сыворотки крови на 14-е сутки после введения препарата, что указывает на незначительную гепатотоксичность завышенных доз лекарственного средства в хроническом эксперименте. Однако данные изменения не стойкие и приходят к норме через 21 сутки после отмены препарата.

Введение препарата в дозе 1/10 от LD₅₀ в течение 14 суток приводит к нарушениям со стороны мочевыделительной системы в виде увеличения мочевины сыворотки крови и суточного диуреза. Однако данные изменения имеют обратимый характер и уже к 21 суткам после отмены препарата не отличаются от показателей контрольной группы.

Длительное введение препарата никломек в испытанных дозах также не приводит к изменениям показателей, характеризующих состояние ЦНС и работоспособности животных. Введение животным никломека не влияет на массовые коэффициенты органов у животных из опытных групп и контрольных. Животные всех групп на протяжении эксперимента были активны, хорошо принимали корм, равномерно увеличивали массу тела.

3.4.4 Местно-раздражающее действие никломека (вариант 1)

В эксперименте исследовали местно-раздражающие свойства препарата никломек на кроликах методом накожной аппликации в течение 20 суток однократно с экспозицией 4 часа. Проведенные исследования позволяют заключить, что никломек при накожных аппликациях не вызывает каких-либо изменений кожного покрова, что свидетельствует об отсутствии у препарата раздражающего действия на кожу.

3.4.5 Результаты испытания на модели *Haemaphysalis papua* цестодоцидной активности никломека

Опытные группы в этом эксперименте, получавшие никломек, нумеровались в соответствии с номером варианта препарата, который получали мыши этой группы. Результаты этого эксперимента приведены в таблице 72.

Таблица 72 - Эффективность никломека при экспериментальном геменолепидозе

№ варианта препарата и № группы	Содержание ДВ, %	Доза, мг/кг по ДВ	ИЭ, %			
			№1	№2	№3	В среднем
№1	10	20	100	100	85,72	95,24
№2	20	20	100	87,5	85,72	91,07
№3 никлозамид субстанция	100	20	40	35,0	46,43	40,47
№4 контроль	-	-	0	0	0	0
ИИ, экз./мышь (контроль)			3,0	2,0	7,0	

В результате исследований установлено, что субстанция никлозамида (группа №3) в 5 раз уменьшенной терапевтической дозе оказалась не эффективна, ИЭ составила всего 40,47% по сравнению с первой группой, где ИЭ составила 40%. Во второй группе (2 серия никломека) ИЭ составила 91,07%. В первой группе серия №1 показала максимальное значение ИЭ – 95,24%. Таким образом, доказано, что никломек, состоящий из комплекса никлозамида, ивермектина и ПВП, высокоэффективен против геменолепидоза мышей в дозе в 10 раз меньше, чем общепринятая терапевтическая доза никлозамида. Субстанция никлозамида в этой же дозе оказалась не эффективна при экспериментальном геменолепидозе.

3.4.6 Результаты изучения нематодоцидной активности никломека на модели *Trichinella spiralis*

Сравнительную эффективность двух вариантов никломека и субстанции ивермектина изучали в лабораторных условиях, на модели экспериментального трихинеллеза белых мышей. В этих экспериментах, как и в предыдущих, терапевтическая доза действующего вещества – ивермектина была снижена в пять раз по отношению к общепринятой его терапевтической дозе. Полученные результаты отражены в таблицах 73.

Таблица 73 - Нематодоцидная активность никломека при экспериментальном трихинелезе белых мышей

№ варианта препарата и группы животных	Содержание ДВ, %	Доза, мг/кг по ивермектину	Обнаружено <i>T. spiralis</i> /гол.	ИЭ, %
1	0,05	0,04	29,8±3,6	67,04
2	0,1	0,04	33,9±3,7	62,5
3 Ивермектин субстанция	100	0,04	68,9±5,2	23,79
4 Контрольная группа	-	-	90,4±5,2	0

В этом эксперименте чистая субстанция ивермектина показала ИЭ 23,78%. Второй вариант препарата продемонстрировал ИЭ в 62,5%. Лучший результат с

ИЭ 67,04% получили в первой группе. Соответственно вариант препарата под номером 1 обладал самой высокой эффективностью. Таким образом, для дальнейших исследований мы остановились на первом варианте рецептуры никломека, содержащий в 1 мл ивермектина 0,05%, 10% никлозамида, поливинилпирролидона 79,9%.

3.4.7 Результаты клинических испытаний никломека при гельминтозах овец

Первые два опыта провели в Самарской области в хозяйстве «Красный Путь». В результате исследований установлена высокая эффективность никломека при мониезиозе и желудочно-кишечных стронгилятозах овец как в форме порошка, так и в форме суспензии. Результаты исследований отражены в таблице 74.

Таблица 74 - Эффективность никломека при мониезиозе овец

Препарат	Доза	Кол-во овец	Освободилось от инвазии, овец.	Кол-во яиц гельминтов в 1 г фекалий		Снижение количества яиц в 1 г фекалий, %
				до опыта	после лечения	
никломек суспензия	1 мл/кг	6	5	304,0 ± 7,3	6,33 ± 1,1	97,92
никломек порошок	0,2 г/кг	5	4	316,50 ± 8,0	9,50 ± 1,2	97,00
Контроль	-	10	0	276,85 ± 7,2	342,0 ± 7,4	-

Препарат показал высокую эффективность как в виде порошка, так и виде суспензии. Однако, в виде суспензии полученное значение было выше – 97,92%, тогда как никломек в виде порошка показал эффективность на уровне 97%. Также в первой группе освободилось от гельминтов 5 животных из шести, тогда как во второй группе – четыре из пяти. Данные, полученные в эксперименте по испытанию никломека при стронгилятозах, отражены в таблице 75.

Таблица 75 - Эффективность никломека в форме порошка и суспензии при стронгилятозах пищеварительного тракта овец

Препарат	Доза	Кол-во овец	Освободилось от инвазии, овец	Кол-во яиц гельминтов в 1 г фекалий		ИЭ, %
				до опыта	после лечения	
Никломек суспензия	1 мл/кг	7	6	320,3±9,3	5,43±1,1	98,31
Никломек порошок	0,2 г/кг	7	6	329,7±8,6	5,43±1,0	98,36
Контроль	-	12	0	414,8±9,0	481,33±8,7	-

Обе лекарственные формы никломека проявили высокую антигельминтную эффективность и показали почти одинаковый результат. Эффективность суспензии при стронгилятозах пищеварительного тракта овец составила 98,31%, а порошка 98,36%.

Третий опыт по изучению антигельминтной эффективности никломека поставили в ООО «Агроресурс» Пестравского района Самарской области. В этом эксперименте также были получены положительные результаты. Результаты проведенного исследования отражены в таблицах 76 и 77.

Таблица 76 - Эффективность никломека при желудочно-кишечных стронгилятозах овец

Препарат	Доза препарата	Число овец в группе	Освободилось от инвазии овец	Обнаружено яиц нематод в 1 г фекалий, экз.		Снижение количества яиц в 1 г фекалий, %
				до опыта	после лечения	
Никломек порошок	0,2 г/кг	15	13	175,5±9,4	11,8±0,9	94,3
Никломек суспензия	1,0 мл/кг	15	14	168,7±104	5,4±0,3	97,8
Контроль	-	15	0	178,4±9,3	192,4±9,6	-

Этот эксперимент подтвердил высокую эффективность препарата при стронгилятозах. Однако, в этом опыте различия в эффективности разных лекарственных форм препарата выражены более наглядно. В результате

исследований установлена интенсивность никломека в форме порошка 94,3% (из 15 животных освободилось от инвазии 13). Никломек в форме суспензии проявил 97,8% интенсивность (из 15 зараженных животных полностью от гельминтов освободилось 14).

Убедительные результаты получены в этом же хозяйстве в следующем эксперименте. Результаты эффективности никломека в двух лекарственных формах при мониезиозе овец представлены в таблице 77.

Таблица 77 - Эффективность никломека при мониезиозе овец

Препарат	Доза препарата	Число овец в группе	Освободилось овец от инвазии	Обнаружено яиц мониезий в 1 г фекалий, экз.		ИЭ, %
				до опыта	после лечения	
Никломек порошок	0,2 г/кг	6	6	97,8±6,6	0	100
Никломек суспензия	1,0 мл/кг	5	5	38,0±4,7	0	100
Контроль	0	5	0	92,9±6,7	86,8±5,8	-

Во всех опытных группах овцы полностью освободились от мониезий. В этом опыте животные получили дозу никлозамида в десять раз ниже общепринятой терапевтической (100 мг/кг). В этом случае обе лекарственные формы (суспензия и порошок) показали одинаковый результат (100%).

Четвертый эксперимент провели в Славском районе Калининградской области. При исследовании овец, отобранных в опытную и контрольную группы, установили, что экстенсинвазированность животных составила: мониезиями – 61%, нематодирусами – 45,5%, другими стронгилятами пищеварительного тракта – 52%, трихоцефалами – 11%. В этом опыте получили схожие данные с предыдущими результатами. По итогам копроовоскопических исследований фекалий овец после завершения эксперимента установлено: эффективность никломека при нематодирозе – 97%, стронгилятозах – 96,5%, трихоцефалезе – 87,5%, мониезиозе – 100%.

Пятый опыт был проведен в Московской области. Полученные результаты приведены в таблице 78.

Таблица 78 - Сравнительная эффективность никломека и субстанции ивермектина при стронгилятозах овец

Препарат	Доза, мг/кг по ДВ	Число овец в группе	Инвазированность овец в группе до обработки		ИИ овец после лечения, экз.		ИЭ, %	
			нематодурами	другими стронгилятами	нематодурами	другими стронгилятами	нематодурами	других стронгилятозах
никломок	0,05	10	88,5±4,7	205,2±7,1	11,4±1,2	11,4±1,2	87,4	94,4
никломок	0,1	10	90,2±5,0	197,6±6,8	0	0	100	100
ивермектин субстанция	0,05	10	87,4±4,8	201,3±7,0	69,3±4,2	180,4±6,7	25,9	12,9
контр. группа	-	9	91,5±4,9	198,0±6,9	93,6±5,3	207,2±7,0	0	0

В этом эксперименте никломок в дозе 0,1 мг/кг показал 100% интенсивность при стронгилятозах пищеварительного тракта, тогда как он же в дозе 0,05 мг/кг показал эффективность 94,4%. На наш взгляд, это объясняется дозой введенного препарата, во второй группе она была в два раза выше, чем в первой. Ивермектин субстанция оказалась не эффективной в испытанной дозе 0,05 мг/кг (12,9%), никломок в этой дозе проявил ИЭ 94,4%. Следует заметить, что испытанная доза ивермектина в никломеке в четыре раза ниже (50 мкг/кг), чем общепринятая доза ивермектина при этих гельминтозах (200 мкг/кг). При нематодирозе никломок в дозе 0,1 мг/кг показал 100% эффективность, тогда как никломок в дозе 0,05 мг/кг только 87,4%; Субстанция ивермектина в этой же дозе оказалась не эффективна – ЭЭ 25,9%.

Шестой опыт был проведен в Орловской области.

Полученные в ходе этого эксперимента данные отражены в таблице 79.

Таблица 79 Сравнительная эффективность препаратов никломек и альвет 10%

Препарат	До за	Кол. жив.	Инвазированность овец до опыта (экз. яиц/личинок/1г фекалий)				Инвазированность овец через 20 дней после обработки (экз. яиц/личинок/1г фекалий)				ИЭ %		
			Стронгиляты	Диктиокаулы	Мониезии	Нематоиды	Стронгиляты	Диктиокаулы	Мониезии	Нематоиды	Стронгиляты	Диктиокаулы	Мониезии
никломек	0,2 г/кг	20	104,7 ±4,9	61,5±3,5	384±8,0	45±6,1	0	0	0	0	100	100	100
альвет 10%	0,5 мл/10 кг	20	72,3 ±9,2	36±8,2	40,7±7,0	30±3,4	30±2,3	30±2,1	0	0	58,5	16,7	100
Контр. группа	-	10	91,7±5,2	95,6±2,66	379,5±7,3	45±6,2	105±4,7	90±3,3	385,5±6,9	92,3±7,2	0	0	0

В эксперименте сравнения эффективности никломека с известным препаратом альвет были получены следующие результаты. Никломек в дозе 0,2 г/кг полностью освободил животных от стронгилят пищеварительного тракта, диктиокаул, мониезий и нематодир. В то время как препарат сравнения альвет в этом опыте показал низкую эффективность при стронгилятозах (ИЭ 58,5%) и диктиокаулезе (ИЭ 16,7%), но оказался высокоэффективен (100%) при мониезиозе и нематодироze. Зараженность животных в контрольной группе была примерно на том же уровне, что и в начале опыта. Во время проведения этого эксперимента не отмечали каких-либо побочных воздействий испытанных препаратов.

Анализируя полученные результаты, полученные в данном эксперименте, следует отметить, что никломек как в форме порошка, так и в форме суспензии высокоэффективен при желудочно-кишечных стронгилятозах, диктиокаулезе и мониезиозе овец. При этом важно, что испытанные дозы по действующим веществам были ниже общепринятых по ивермектину в 4 раза, а по никлозамиду в десять раз. Сравнивая испытанные лекарственные формы порошок и суспензию, стоит отметить, что их эффективность очень близка. Суспензия оказалась лишь не на много эффективнее порошка. При стронгилятозах эффективность порошка составила 98,36 и 94,3%, тогда как суспензии – 98,31%, 97,8%, 96,5%, 94,4%. При мониезиозе эффективность порошка – 97 и 100%, тогда как суспензии – 97,92%, 100% и 100%. Это связано, на наш взгляд с двумя причинами, вероятно большей биодоступностью суспензии и более удобной для введения лекарственной формой (суспензии). Эксперименты по изучению эффективности нового антигельминтика никломек против мониезиоза, диктиокаулеза и стронгилятозов желудочно-кишечного тракта провели в трех федеральных округах и везде получили очень близкие результаты, характеризующие никломек как высокоэффективный препарат при этих гельминтозах.

3.5 Результаты доклинических и клинических испытаний лекарственного средства монизен форте

3.5.1 Острая токсичность препарата монизен форте

Основным составляющим компонентом настоящих исследований было тщательное наблюдение за возможной гибелью и проявлением симптомов интоксикации у подопытных животных. Результаты изучения эффектов после подкожного введения испытуемого препарата мышам приведены в таблице 80.

Таблица 80 - Гибель белых мышей после подкожного введения препарата монизен форте

Доза препарата (мг/кг)	1800	1900	2000	2100	2200	2300	2400	2500	2600	2700	Контроль
Выжило	10	10	8	8	8	7	7	6	4	7	10
Погибло	0	0	2	2	2	3	3	4	6	3	0

Введение монизена форте в дозе 1800 и 1900 мг/кг не привело к гибели животных. Все последующие дозы вызывали падеж животных. Самая высокая доза – 2700 мг/кг привела к гибели 70 % мышей в данной группе. В контрольной группе животных, падежа и признаков интоксикации не отмечалось.

При введении доз 1800 и 1900 мг/кг по лекарственной форме в течение 2 часов после инъекции препарата наступало сильное угнетение, животные лежали, движения отсутствовали. У некоторых мышей отмечали клонические судороги, прекращавшиеся через 30 минут после введения препарата. Реакция на внешние раздражители была сохранена. Полное восстановление до исходного состояния происходило в течение 1-2 суток.

При введении препарата в дозах от 2000 до 2700 мг/кг (по лекарственной форме) животные были угнетены, движения были неkoordinированы, отмечались клонические судороги, тремор, отказ от корма, взъерошенная шерсть, после чего животные впадали в кому и наступала смерть. У выживших животных гиподинамия отмечалась в течение 8 – 10 суток, мышцы плохо потребляли корм. На вскрытии павших мышей отмечали следующие изменения: печень увеличена,

сосуды печени кровенаполнены. Селезёнка дряблая, увеличена. Сосуды мягкой мозговой оболочки кровенаполнены, отек головного мозга. Лёгкие тестоватой консистенции, темно-красные, с синюшным оттенком и светлыми участками. Кровеносные сосуды переполнены кровью. Почки увеличены, гиперемированы, с точечными кровоизлияниями.

В контрольной группе животных падежа и признаков интоксикации не отмечали.

Результаты внутрижелудочного введения препарата монизен форте белым мышам приведены в таблице 81.

Таблица 81 - Гибель белых мышей после внутрижелудочного введения препарата монизен форте

Доза препарата (мг/кг)	300	500	800	1000	1500	2000	Контроль
Выжило	6	7	4	2	1	0	6
Погибло	0	1	2	4	5	6	0

Как видно из приведённых в таблице данных, монизен форте в дозе 300 мг/кг не приводит к гибели животных. Все последующие дозы вызывали падеж животных. Самая высокая доза 2000 мг/кг привела к гибели 100 % мышей в 6-й группе. После введения препарата в дозах в испытуемых дозах наблюдали сильное угнетение животных, некоординированные движения, взъерошенную шерсть, реакция на внешние раздражители была сохранена.

Через 1 – 2 дня животные впадали в кому, после чего наступала смерть. У павших мышей на вскрытии отмечали такие же явления, как и в предыдущем исследовании. В контрольной группе животных падежа и признаков интоксикации не отмечалось.

Данные по динамике прироста массы тела у мышей после подкожного введения испытуемого препарата приводятся в таблице 82.

Таблица 82 - Динамика прироста массы тела белых мышей при однократном подкожном введении монизен форте в остром опыте

Доза (мг/кг)	Масса (г) после введения через (сут)					Привес за 14 сут	% к исходной массе тела
	0	1	3	7	14		
1800	18,96±0,42	19±0,45	19,24±0,47	19,6±0,5	20,54±0,7	1,55±0,4*	108,18±2,3*
1900	18,37±0,2	18,76±0,5	19±0,5	19,47±0,6	19,87±0,67	1,5±0,58*	108,14±3,23*
2000	19,22±0,75	18,91±0,66	18,77±0,63	18,67±0,58	18,50±0,75	-0,5±0,58*	97,38±3,07*
2100	19,1±0,64	19,02±0,69	18,95±0,67	19,04±0,81	19,1±1,03	0,4±0,6*	101,53±3,08*
2200	19,83±0,88	19,56±0,78	19,20±0,56	19,17±0,56	19,14±0,61	-0,14±0,16*	99,25±0,89*
2300	19,2±0,44	18,96±0,36	18,73±0,37	18,55±0,22	18,40±0,23	-0,36±0,25*	98,13±1,35*
2400	19,26±0,51	18,98±0,4	18,78±0,37	18,68±0,42	18,47±0,59	-0,5±0,52*	97,36±2,67*
2500	19,36±0,68	19,18±0,54	18,81±0,24	18,68±0,4	18,42±0,66	-0,48±0,46*	97,43±2,6*
2600	19,27±0,79	18,78±0,31	18,54±0,51	18,44±0,56	18,27±0,76	-0,27±0,38*	98,4±2,12*
2700	19,22±0,83	18,45±0,4	18,07±0,22	17,62±0,31	17,34±0,4	-1±0,16*	94,53±1,01*
Контр.	19,06±0,4	19,65±0,71	20,3±0,62	22,38±1,21	24,64±1,14	5,55±0,91	129,9±4,55

*P ≤ 0,05

Как видно из таблицы, подкожное введение монизен форте белым мышам в диапазоне доз 1800 – 2700 мг/кг привело к снижению динамики привесов за 14 суток. На 14-е сутки после введения препарата у животных, которым вводили монизен форте в диапазоне доз 1800 – 1900 мг/кг и 2100 мг/кг, выявили положительный среднесуточный привес, который составил соответственно 108,18±2,3; 108,14±3,23 и 101,53±3,08 %, у контрольной группы – 129,9±4,55 %. В то время как однократное подкожное введение препарата монизен форте мышам в дозах 2200; 2300; 2400; 2500; 2600 и 2700 мг/кг по лекарственной форме привело к достоверному снижению массы тела мышей как относительно контрольных, так и первоначальных значений и составило соответственно 99,25±0,89; 98,13±1,35; 97,36±2,67; 97,43±2,6; 98,4±2,12 и 94,53±1,01 %, у контрольной группы – 129,9±4,55 %.

Установлено, что все испытанные дозы оказывают общетоксическое воздействие на организм мышей. Также зафиксирован дозозависимый эффект – чем выше доза, тем интенсивнее снижение привесов.

В таблице 83 представлены значения показателей коэффициентов внутренних органов белых мышей на 14-е сутки после однократного подкожного введения монизен форте.

Таблица 83 - Масса органов животных, их коэффициенты после однократного подкожного введения монизен форте ($P > 0,05$)

Доза, мг/кг,	Вес мыши	Печень		Почки		Селезенка		Сердце	
		масса	коэффициент	масса	коэффициент	масса	коэффициент	масса	коэффициент
1800	20,53 ±0,7	1,15± 0,10	0,05± 0,005	0,31± 0,03	1,52± 0,14	0,33± 0,10	0,02± 0,004	0,13 ±0,02	0,01± 0,001
1900	19,88 ±0,67	0,96± 0,21	0,05± 0,004	0,37± 0,15	1,51± 0,22	0,31± 0,07	0,02± 0,004	0,12± 0,01	0,01± 0,0008
2000	18,51 ±0,75	1,05± 0,09	0,06± 0,004	0,25± 0,03	1,38± 0,16	0,3± 0,06	0,02± 0,003	0,12± 0,02	0,01± 0,001
2100	19,2± 1,03	1,01±0, 06	0,05± 0,004	0,26± 0,02	1,38± 0,14	0,28± 0,04	0,01± 0,002	0,12± 0,014	0,01± 0,0009
2200	19,15 ±0,61	1,11± 0,12	0,06± 0,007	0,27± 0,04	1,41± 0,21	0,3± 0,17	0,02± 0,008	0,12± 0,03	0,01± 0,001
2300	18,41 ±0,23	0,97± 0,11	0,05± 0,0065	0,26± 0,028	1,41± 0,15	0,31± 0,13	0,02± 0,006	0,26± 0,25	0,01± 0,0007
2400	18,46 ±0,59	1,02± 0,23	0,06± 0,001	0,26± 0,04	1,42± 0,22	0,25± 0,09	0,01± 0,005	0,11± 0,02	0,01± 0,001
2500	18,43 ±0,66	1,04± 0,18	0,06± 0,009	0,26± 0,03	1,43± 0,22	0,25± 0,06	0,01± 0,003	0,11± 0,03	0,01± 0,001
2600	18,28 ±0,76	1,09± 0,15	0,06± 0,010	0,23± 0,03	1,250,1 3	0,32± 0,16	0,02± 0,009	0,1± 0,02	0,01± 0,001
2700	17,33 ±0,4	1,14± 0,009	0,07± 0,002	0,23± 0,02	1,33± 0,15	0,32± 0,02	0,02± 0,001	0,11± 0,04	0,01± 0,002
Конт.	24,63 ±1,14	1,35± 0,12	0,05± 0,004	0,33±0, 02	1,35± 0,11	0,35± 0,12	0,01± 0,005	0,51±0, 40	0,01± 0,011

Приведённые в таблице данные свидетельствуют, что подкожное однократное введение препарата монизен форте белым мышам в диапазоне доз от 1800 до 2600 мг/кг массы тела не вызывает статистически значимых изменений коэффициентов внутренних органов. Анализируя полученные данные, можно констатировать следующее: дозу 1900 мг/кг для препарата монизен форте при подкожном введении белым нелинейным мышам следует рассматривать в качестве переносимой, дозы в диапазоне 2000 – 2700 мг/кг в качестве летальных.

В таблице 84 отражены результаты значений динамики привеса мышей после перорального введения им препарата монизен форте.

Таблица 84 - Динамика привеса при внутрижелудочном введении препарата монизен форте в остром опыте

Доза, мг/кг	Масса (г) после введения через (суток)					Привес за 14 суток	% к исходной массе тела
	0	1	3	7	14		
300	18,5±0,33	18,5±0,34	18,7±0,37	19,2±0,43	20±0,82	1,4±0,63	107,7±3,26*
500	18,5±0,33	18,3±0,26	18,7±0,28	19,0±0,34	19,5±0,47	1,2±0,3	106,3±2,18*
800	18,5±0,4	17,4±1,2	17,8±1,03	19,2±0,85	18,3±1,53	0,1±1,46	100,4±8,05*
1000	18,8±0,46	17,5±1,63	21±0,05	20,8±0,64	17,9±1,93	-1,4±1,74	92,6±9,03*
1500	19,2±0,43	18,7±1,14	0	0	0	0	0
2000	18,8±0,33	0	0	0	0	0	0
Контроль	18,2±0,48	20,4±1,42	21,4±1,77	20,3±1,68	23,6±1,64	5,6±1,71	131,3±10,05

* $P \leq 0,05$

Введение монизен форте мышам внутрижелудочно в диапазоне доз 300 – 1000 мг/кг привело к снижению динамики привесов. Также привело к статистически значимому снижению динамики привесов введение монизен форте в диапазоне доз 300 – 800 мг/кг, на 14-е сутки после введения препарата у животных этой группы отмечался положительный среднесуточный привес. За 14 дней он составил соответственно 107,7±3,26*; 106,3±2,18* и 100,4±8,05* % против контрольного значения 131,3±10,05 %.

Однократное внутрижелудочное введение монизен форте мышам в дозе 1000 мг/кг привело к достоверному снижению массы тела мышей как относительно контрольных, так и первоначальных значений, и составило 92,7±9,03* % против контрольного значения 131,4±10,05 %. В группе, получившей дозу 1500 мг/кг, на третий день эксперимента погибло 5 из 6 мышей, а в группе, получившей дозу 2000 мг/кг, на этот день погибли все шесть мышей. Таким образом, установлено, что все изученные дозы способствуют общетоксическому действию на организм животных. Установлен дозозависимый эффект, чем выше доза, тем интенсивнее снижение привесов.

В таблице 85 представлены масса и показатели коэффициентов внутренних органов мышей на 14-е сутки после однократного внутрижелудочного введения препарата.

Таблица 85 - Масса органов мышей, их коэффициенты на 14-е сутки после однократного внутрижелудочного введения монизен форте

Доза, мг/кг	Вес мыши	Печень		Почки		Селезенка		Сердце	
		масса	коэффициент	масса	коэффициент	масса	коэффициент	масса	коэффициент
300	20,2± 1,45	1,1± 0,08	5,48± 0,22	0,27± 0,02	1,32± 0,03	0,14± 0,01	0,69± 0,02	0,1± 0,01	0,49± 0,02
500	19,8± 1,04*	1,2± 0,11	5,91± 0,28*	0,26± 0,01	1,34± 0,05	0,14± 0,01	0,69± 0,02	0,1± 0,01	0,48± 0,02
800	18,8± 2,76*	1,1± 0,16	6,03± 0,17*	0,28± 0,04	1,47± 0,03*	0,13± 0,02	0,69± 0,02	0,09± 0,01	0,5±0,01
1000	18± 3,52*	1,1± 0,26	6,32± 0,23*	0,27± 0,07	1,5±0,1*	0,13± 0,03	0,7±0,01	0,09± 0,02	0,5±0
1500	15	0,93	6,2	0,23	1,53	0,1	0,67	0,07	0,47
2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Конт роль	23,7± 2,66	1,4± 0,16	5,6± 0,25	0,33± 0,04	1,34± 0,04	0,16± 0,02	0,68± 0,01	0,13± 0,01	0,48± 0,01

* $P \leq 0,05$

Проанализировав данные, приведенные в этой таблице, можно сделать заключение, что однократное внутрижелудочное введение препарата мышам в дозе 300 мг/кг массы тела, не вызывает статистически значимых изменений коэффициентов внутренних органов. Тогда как введение доз в 500; 800 и 1000 мг/кг приводит к достоверному увеличению коэффициента массы печени до $5,91 \pm 0,28^*$; $6,03 \pm 0,17^*$ и $6,32 \pm 0,23^*$ соответственно, относительно контрольных животных $5,5 \pm 0,25$. Данный факт свидетельствует о гепатотоксическом действии летальных доз препарата монизен форте, что необходимо учитывать при проведении клинических испытаний. Вместе с этим однократное внутрижелудочное введение препарата монизен форте в дозах 800 и 1000 мг/кг массы тела по лекарственной форме мышам приводит к увеличению коэффициентов массы почек. У животных контрольных групп данный показатель составляет $1,35 \pm 0,04$. Данные изменения указывают на нефротоксическое действие летальных доз препарата. В результате проведенных исследований

установлена переносимая доза – 300 мг/кг, летальные дозы в диапазоне 500 – 1500 мг/кг. Доза 2000 мг/кг (по лекарственной форме) приводит к гибели 100% мышей. Параметры острого токсического действия монизен форте на белых мышей представлены в таблице 86.

Таблица 86 - Острое токсическое действие монизена форте (белые мыши)

Препарат	LD ₁₀ (мг/кг)	LD ₁₆ (мг/кг)	LD ₅₀ (мг/кг)	LD ₈₄ (мг/кг)	LD ₉₀ (мг/кг)
Подкожное введение					
монизен форте мышь-самец	2021±101,7	2124±83,5	2524±91,5	2999±232,74	3152±287
Внутрижелудочное введение					
монизен форте мышь-самец	258±195	411±186	953,82±156	1498±364	1650±512

Приведенные в таблицах данные позволяют сделать следующие очевидные выводы:

Значение LD₅₀ препарата монизен форте при парентеральном (подкожном) введении белым мышам составляет 2524±91,5 мг/кг.

Значение LD₅₀ препарата монизен форте при оральном (внутрижелудочном) введении белым нелинейным мышам составляет 953,82±156 мг/кг.

По параметрам острой токсичности, установленным на мышах, в условиях однократного парентерального и введения в желудок, препарат монизен форте, согласно общепринятой гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76 относится к 3 классу опасности – умеренно токсичные соединения.

3.5.2 Кумулятивные свойства препарата монизен форте

В результате проведенных исследований установлено, что введение препарата монизен форте в течение 3 дней эксперимента не вызывало изменение клинического состояния мышей опытной группы. Начиная с 4-го дня эксперимента, у отдельных животных опытной группы отмечалось угнетение, животные плохо потребляли корма, шерстный покров был взъерошен. Гибель животных начали регистрировать с 6 суток эксперимента. Клиническая картина интоксикации животных, получивших смертельные дозы, после введения

проявлялась в виде симптомов, характерных для смертельного отравления, – примерно через 10 – 15 минут после очередной инъекции препарата отмечали у мышей нарушение координации, тремор, угнетение, взъерошенную шерсть. Через 5 – 6 часов животные впадали в кому, после чего наступала смерть. У выживших животных отмечалась гиподинамия, мыши плохо потребляли корм. У мышей контрольной группы патологических изменений не отмечено. Результаты исследования представлены в таблице 87.

Таблица 87 - Оценка кумулятивных свойств препарата монизен форте

День эксперимента	Ежедневно вводимая доза, мг/кг	Суммарная доза мг/кг	Гибель животных
1-4	95,38	381,52	0/10
5-8	143,07	572,29	4/10
9-12	214,60	858,4	5/10
13-16	321,9	1287,65	6/10
17-20	482,85	1931,48	6/10
21-24	724,27	2897,22	6/10
25-28	1086,40	4345,8	10/10

На основании полученных результатов проведен расчет LD_{50} хрон.

LD_{50} хрон составила 1822,4 мг/кг.

Исходя из полученных данных, был рассчитан коэффициент кумуляции, как соотношение LD_{50} при n-кратном введении к LD_{50} при однократном введении.

Коэффициент кумуляции составил 1,9. Учитывая тот факт, что величина коэффициента кумуляции при кратном введении препарата монизен форте меньше 1, можно заключить о способности препарата при многократном подкожном введении накапливаться в организме животных. Согласно классификации химических веществ по кумуляции в организме животного по Л.И. Медведю монизен форте относится к препаратам с выраженной кумуляцией. При введении препарата монизен форте животным необходимо учитывать его кумулятивные свойства, исходя из чего подбирать кратность введения препарата и курс.

3.5.3 Результаты изучения субхронической токсичности монизен форте

В ходе исследований установлено, что как в первой, так и во второй опытных группах на 4-е сутки эксперимента наблюдалось снижение аппетита, гиподинамия, взъерошенность шерсти. Большинство животных, которым вводили подкожно препарат монизен форте были вялые отказывались от корма, к 6-7 суткам волосяной покров терял блеск, был взъерошен. Слизистые оболочки к 7 суткам эксперимента в обеих опытных группах животных были бледными у некоторых животных с желтоватым оттенком. Результаты анализа периферической крови представлены на таблице 88.

Таблица 88 - Гематологические показатели крыс-самцов после курсового введения препарата монизен форте в субхроническом эксперименте

Показатели	Ед. изм	День эксперимента								
		Через 7 суток после начала эксперимента			Через 22 суток			Через 37 суток		
		1 оп.	2 оп.	контр	1 оп.	2 оп.	контр	1 оп.	2 оп.	контр.
Лейкоциты	$\times 10^9/L$	4,3± 1,96*	5,5± 1,61*	9,6± 0,5	6,6± 1,51*	7,9± 1,43*	9,2± 0,35	7,6± 1,72	10,3±1, 86	9,6±0,5
Лимфоциты	$\times 10^9/L$	1,9± 1,13*	4± 0,78	7,4± 0,68	4,9± 1,23*	4,7± 0,88*	7,3± 0,73	5,3± 1,21*	7,7± 1,32	7,4± 0,62
Смесь моноцитов, базофилов, эозинофилов	$\times 10^9/L$	0,6± 0,32	1± 0,64	0,3± 0,24	1± 0,55	2,3± 0,83	0,2± 0,15	0,1± 0,16	0,5± 0,18	1,2± 2,63
Гранулоциты	$\times 10^9/L$	1,6±2	0,6± 0,36	1,9± 0,38	0,8± 0,24*	0,9± 0,32*	1,7± 0,86	2± 0,58	2,2± 1,02	1,9± 0,39
Лимфоциты	%	50,7± 20,66*	72,6± 10,75	77± 3,33	74,2± 6,73	59,6± 6,83	79,5± 8,7	71,4± 1,96	74,6± 5,04	77,1± 3,19
Смесь моноцитов, базофилов, эозинофилов	%	16,7± 9,23	16,2± 6,71	3,3± 2,33	14,3± 8,02	28,8± 8,11	2± 1,51	2,1± 2,56	4,7± 2,17	3,3±2,3
Гранулоциты	%	33,2± 28,7*	11,4± 4,52	19,7± 5,1	13± 6,52	11,6± 4,62	18,5± 9,38	26,5± 3,77*	20,6±6, 58	19,6± 5,11
Эритроциты	$\times 10^{12}/L$	4,2± 0,79*	6,9± 0,36*	8,9± 1,18	6,9± 0,1*	8,4± 0,52	9,5± 0,4	7,5± 1,37*	9± 0,65	9,3± 0,29
Гемоглобин	g/L	71,2± 17,66*	104,6 ±3,7*	139,2 ±15,5	113± 5,2*	116,2 ±17,1*	157,6 ±9,16	96,6± 11*	122±7, 32*	149± 9,95
Гематокрит	%	17,2± 3,84*	38,4± 4,43	45,2± 6,05	36± 2,61*	37,3± 3,99*	51,1± 3,3	32,1± 2,92*	40,2±2, 65	48,4± 3,6

Продолжение таблицы 88

Средний объем эритро- цита	F1	46,5± 5,02	56,4± 1,07	51,3± 0,56	51,5± 3,36	44,3± 4,75	54± 1,52	43,2± 7,09*	44,5±3, 72	51,7± 2,55
-------------------------------------	----	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	-------------	----------------	---------------	---------------

* P ≤ 0,05

Клинический анализ периферической крови показал, что введение препарата монизен форте в дозе 116, 5 мг/кг по лекарственной форме, что соответствовало 1/10 ЛД₅₀ в течение 7 суток приводит к достоверному снижению концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов. При отмене препарата к 30 суткам наблюдается положительная динамика восстановления данных показателей, однако они достоверно отличаются от таковых у животных контрольной группы, хотя и не выходят за пределы физиологических значений. Вместе с этим в опытной группе животных, которым вводили препарат монизен форте в дозе 1/100 ЛД₅₀ или 11,65 мг/кг по лекарственной форме отмечается достоверное снижение эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов на 7-е сутки после начала эксперимента. Положительная динамика изменения данных показателей отмечается уже к 15 суткам после отмены введения, хотя они достоверно отличаются от контрольных. К 30 суткам отмены введения концентрация гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов у большинства животных данной группы не отличаются от животных контрольной группы. Таким образом, можно заключить, что длительное введение завышенных доз препарата приводит к лейкопении и анемии. Результаты биохимического исследования сыворотки крови крыс представлены в таблице 89.

Таблица 89 - Биохимические показатели сыворотки крови крыс в субхроническом эксперименте

Показатели	Ед. изм.	День эксперимента								
		Через 7 дней после начала эксперимента			Через 22 суток			Через 37 суток		
		1 оп.	2 оп.	контр	1 оп.	2 оп.	контр	1 оп.	2 оп.	контр
АЛТ	Е/л	196,08 ±12,17 *	174,8± 11,66*	61,96 ±2,93	183,3 ±16*	127,9 ±8,9*	64,52 ±4,63	110,4 5±11, 6*	83,2± 5,21*	68,53± 6,43
АСТ	Е/л	187,37 ±6,09*	187,7± 22,16*	50,85 ±4,09	151±1 5,68*	104,6 ±9,16 *	51,04 ±3,83	94,63 ±8,43 *	74,22 ± 7,56*	50,33± 2,68

Продолжение таблицы 89

Щелочная фосфатаза	Е/л	652,84 ±65,58 *	599,6± 55,15*	304,3 1±35, 22	549,8 ±66,8 *	387,5 ±41,6	331,9 6±20, 5	467,3 7±30, 72*	378,3 7±37, 66	308,21 ±32,07
Мочевина	ммол ь/л	12,49± 1,5*	13,73± 0,8*	7,37± 0,6	11,6± 0,82*	7,56± 0,5	7,5± 0,69	7,51± 0,62	8,2± 0,53	7,62± 0,71
Креатинин	ммол ь/л	85,43± 5,65*	93,06± 9,44*	47,85 ±3,89	77,18 ± 6,05*	73,7± 4,7*	49,65 ±4,85	66,91 ± 4,68*	57,52 ± 5,96	49,74± 4,08
Билирубин	мкмо ль/л	6,11± 0,63*	5,62± 0,64*	0,29± 0,03	4,96± 0,36*	3,07± 0,23*	0,27± 0,03	2,63± 0,18*	0,3± 0,03	0,28± 0,03
Белок общ.	г/л	50,6± 5,11*	54,07± 4,98*	66,9± 1,78	56,63 ± 4,88*	59,81 ±5,83	68,25 ±7,21	57,62 ± 4,59*	62,73 ±3,12	65,97± 6,17
Альбумин	г/л	28,59± 2,38	29,6± 2,77	28,03 ±2,91	30,42 ± 3,29	30,4± 2,32	31,75 ±2,34	31,45 ± 1,67	28,94 ± 3,11	28,64± 1,33
Глобулин	г/л	22,01± 5,8*	24,47± 4,19*	38,88 ±4,13	26,21 ± 7,45*	29,41 ±5,45	36,5± 8,04	26,17 ± 3,67*	33,79 ± 2,18	37,33± 5,55

* P ≤ 0,05

При хронической интоксикации завышенными дозами монизен форте в сыворотке крови опытных крыс отмечается значительное повышение АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, общего билирубина и снижение концентрации общего белка. Данный факт указывает на гепатотоксичность курсового введения препарата монизен форте крысам в завышенных дозах.

Влияние монизена форте на функциональное состояние почек в субхроническом эксперименте отражено в таблице 90.

Таблица 90 - Показатели мочи крыс в субхроническом эксперименте

Показатели	День эксперимента								
	Через 7 суток после начала эксперимента			Через 22 суток			Через 37 суток		
	1 оп.	2 оп.	контр.	1 оп.	2 оп.	контр.	1 оп.	2 оп.	контр.
Белок, мг/100мл	10,3± 0,3*	10,3± 0,34*	2,4±0,03	11,01± 0,08*	11,03± 0,06*	2,5± 0,01	5±0,02*	2±0,01	2,4± 0,01
pH	6,6± 0,08	7±0,03	6,9±0,04	6,91± 0,04	7,02± 0,04	6,7± 0,03	6,9± 0,03	6,5± 0,03	6,5± 0,02
Относительная плотность	1,004± 0,004*	1,009± 0,002*	1,018± 0,02	1,004± 0,005*	1,015± 0,005*	1,024± 0,004	1,018± 0,003*	1,018± 0,006*	1,024± 0,004

* P ≤ 0,05

В результате анализа биохимических показателей сыворотки крови и мочи установлено, что у опытных животных отмечается достоверное повышение креатинина и мочевины сыворотки крови при хронической интоксикации завышенными дозами препарата монизен форте, что наряду со снижением плотности мочи свидетельствует о нефротоксическом влиянии введения монизен форте в дозах 116,5 и 11,65 мг/кг массы тела, в течение 7 суток. В первой группе животных, которым вводили монизен форте в дозе 116,5 мг/кг положительная динамика отмечается лишь на 30 сутки после его отмены. Однако данные показатели остаются и к этому времени на достаточно высоком уровне, что может свидетельствовать о хронизации процесса. Тогда как во второй опытной группе к 30 суткам отмены введения препарата монизен форте повышенными остаются лишь активность индикаторных ферментов печени, остальные биохимические показатели не отличаются от контрольных. Таким образом, можно констатировать, что подкожное введение препарата крысам в дозах 116,5 и 11,65 мг/кг, 1 раз в день 7 суток подряд оказывает гепатотоксическое и нефротоксическое действие.

Функциональную активность центральной нервной системы крыс оценивали, используя метод удержания животных на горизонтальном стержне и определения «вертикального» двигательного компонента. Полученные результаты приведены в таблице 91.

Таблица 91 - Состояние центральной нервной системы крыс в субхроническом опыте

День эксперимента, сут	Группа	ВДА (число вертикальных стоек в 3 мин)	ГДА, с.	Время удержания на стержне, с
Через 7 дней после начала эксперимента	1 подопытная	1±0,04*	4,7±0,41*	4,1±0,13*
	2 подопытная	2±0,09*	7,2±0,31*	5,9±0,19*
	контрольная	6,6±0,23	43,1±1,89	57,6±2,49
Через 22 дня	1 подопытная	2±0,1*	9,9±0,46*	7,1±0,35*
	2 подопытная	3±0,16*	10,1±0,46*	12,2±0,57*
	контрольная	6,1±0,19	43±1,75	59±2,18
Через 37 суток	1 подопытная	5±0,18	24,4±0,92*	10,4±0,52*
	2 подопытная	4,9±0,09	34,5±1,47	36±1,15
	контрольная	6,1±0,16	42±1,35	55,7±2,94

* P ≤ 0,05; ВДА– вертикальная двигательная активность; ГДА–горизонтальная двигательная активность.

Как видно из приведенных в таблице данных, все показатели, характеризующие состояние центральной нервной системы и работоспособности крыс из подопытных групп, достоверно снижены по сравнению с показателями животных из контрольных групп.

Динамика прироста массы животных так же важный показатель, при оценке токсического действия препарата. Результаты изучения динамики прироста массы крыс в субхроническом опыте приведены в таблице 92.

Таблица 92 - Динамика привеса крыс, получивших препарат монизен форте в субхроническом опыте ($P > 0,05$)

Животные	Масса (г) после введения через (суток)				Привес за 37 суток	% к исходной массе тела
	0	7	22	37		
1 опытная группа n=15						
1 группа	216,8±8,99	213,1±9,36	240,6±8,86	292,4±9,7	81,6±17,53	139,4±9,89
2 опытная группа n=15						
2 группа	211,9±9,05	214,1±8,7	274,8±11,08	322,8±17,32	81,6±17,53	139,4±9,89
контрольная группа n=15						
Контроль	217,1±7,53	248,7±11,47	321,3±13,74	401,3±17,21	185,4±15,23	185,9±6,98

Подкожное введение препарата монизен форте 1 раз в день в течение 7 дней, в дозах 116,5 и 11,65 мг/кг массы тела животных привело к статистически значимому снижению динамики прироста массы опытных животных по сравнению с контролем. Масса и значения весовых коэффициентов внутренних органов крыс, определенные в этом эксперименте, представлены в таблице 93.

Таблица 93 - Масса и весовые коэффициенты внутренних органов крыс при применении им монизен форте

Орган	Показатель	День эксперимента								
		Через 7 суток после начала эксперимента			Через 22 суток			Через 37 суток		
		1 оп.	2 оп.	конт.	1 оп.	2 оп.	конт.	1 оп.	2 оп.	контр
Общ. масса животного		213,4±19,7*	218,6±12,2*	249,2±11,3	241,2±9,5*	270,2±21,5*	321,8±32,5*	292,4±16,8*	322,8±29,96	401,2±29,8

Продолжение таблицы 93

Печень	Масса	14,7± 1,4	12,9± 0,9	12,9± 0,37	14,7± 0,61	16,4± 1,46	16,3± 1,87	17,1± 0,96	17,9± 1,5	20,3± 1,57
	Коэффициент	6,88± 0,28*	5,89± 0,27	5,18± 0,22	6,08± 0,12*	6,09± 0,09*	5,06± 0,12	5,85± 0,27	5,54± 0,24	5,05± 0,2
Почка	Масса	1,92± 0,2	1,76± 0,14	1,95± 0,11	1,98± 0,12	2,19± 0,2	2,6± 0,35	2,39± 0,1	2,56± 0,29	3,24± 0,37
	Коэффициент	0,9± 0,02	0,8± 0,03	0,78± 0,02	0,82± 0,03	0,81± 0,03	0,8± 0,04	0,82± 0,03	0,79± 0,03	0,81± 0,04
Селезенка	Масса	1,5± 0,12	1,38± 0,08	1,58± 0,08	1,57± 0,06	1,72± 0,19	1,92± 0,13	1,86± 0,14	1,98± 0,13	2,4± 0,22
	Коэффициент	0,7± 0,03	0,63± 0,03	0,63± 0,02	0,65± 0,03	0,64± 0,02	0,6± 0,02	0,64± 0,02	0,61± 0,02	0,6± 0,03
Сердце	Масса	0,96± 0,1	0,93± 0,06	1,05± 0,08	1± 0,07	1,15± 0,1	1,27± 0,14	1,2± 0,07	1,36± 0,15	1,62± 0,11
	Коэффициент	0,45± 0,02	0,42± 0,01	0,42± 0,02	0,41± 0,01	0,43± 0,02	0,39± 0,01	0,41± 0,01	0,42± 0,02	0,41± 0,01

* $P \leq 0,05$

Как видно из представленных данных, массовые коэффициенты внутренних органов и динамика прироста массы тела у животных опытных групп достоверно отличаются от контроля. В частности, наблюдается достоверное увеличение коэффициента массы печени у животных опытных групп на 7 сутки эксперимента как в первой, так и во второй подопытных группах. Однако данный показатель варьирует и достигает физиологических значений к 30 суткам после отмены препарата.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что применение монизена форте подкожно ежедневно один раз в день, в течение 7-и суток, в дозах 116,5 и 11,65 мг/кг массы тела животного вызывает гепатотоксическое и нефротоксическое действие, на что указывают изменения гематологических и биохимических показателей крови, а также показателей общего анализа мочи и снижение среднесуточных привесов. Данные нарушения необходимо учитывать при назначении препарата монизен форте целевым животным, т.е не допускать кратного введения препарата в течение длительного времени.

Подводя итог исследованию субхронической токсичности монизена форте, можно утверждать, что после длительного (в течение 7 дней) введения крысам

препарата монизен форте отмечаются изменения их клинического состояния. Клинический анализ периферической крови показал, что кратное подкожное введение препарата монизен форте приводит к снижению гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов периферической крови. Также установлено достоверное повышение активности аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, концентрации билирубина, снижение общего белка, что указывает на гепатотоксическое действие препарата. Также отмечаются достоверные изменения показателей функциональной активности почек (повышение креатинина, мочевины и снижение плотности мочи). Показатели ВДА (вертикальная двигательная активность), ГДА (горизонтальная двигательная активность), время удержания на стержне, животных опытных групп, достоверно снижены по сравнению с контрольными. Также фиксировали достоверное снижение динамики среднесуточного прироста массы тела и увеличение коэффициента массы печени у животных опытных групп на 7 сутки эксперимента как в первой, так и во второй опытных группах. Приведённые данные необходимо учитывать при назначении препарата монизен форте целевым животным, т.е. не допускать многократного введения препарата в течение длительного времени.

3.5.4 Местно-раздражающее, алергизирующее действие препарата монизен форте

В этом эксперименте изучено местно-раздражающее и сенсibiliзирующее действие препарата монизен форте. Полученные результаты отражены в таблице 94.

Таблица 94 - Результаты, полученные при изучении раздражающего действия монизен форте на кожу кроликов

Номер кролика	Масса кролика, кг	Количество нанесенного препарата, мл	Индекс суммарного раздражения
1	3,39	3,39	0,45
2	2,91	2,91	0,45
3	2,69	2,69	0,425
4	2,9	2,9	0,475

Продолжение таблицы 94

5	3,13	3,13	0,4
6	2,56	2,56	0,45
7	3,21	3,21	0,425
8	2,84	2,84	0,45
9	2,63	2,63	0,45
10	3,38	3,38	0,45
Среднее	2,97±0,3	2,97±0,3	0,44±0,02

В ходе эксперимента выявлено, что через час после удаления препарата, у большинства кроликов отмечали едва заметное покраснение кожного покрова, которое исчезало самопроизвольно через 3-4 часа.

В результате исследований установлено, монизен форте обладает слабой степенью ответной реакции на раздражение у кроликов в соответствии с ГОСТ ISO 10993-10–2011 [85]. В таблице 94 представлены результаты изучения раздражающего действия монизен форте на конъюнктиву глаз.

Таблица 94 - Результаты изучения местно-раздражающего действия монизен форте на конъюнктиву

№ жи вот но го	контрольный глаз												подопытный глаз											
	Реакция через, час						Оценка через, час						Реакция через, час						Оценка через, час					
	0,5	1	4	24	48	72	0,5	1	4	24	48	72	0,5	1	4	24	48	72	0,5	1	4	24	48	72
1	OP	OP	OP	OP	OP	OP	0	0	0	0	0	0	+	+	OP	OP	OP	OP	1	1	0	0	0	0
2	OP	OP	OP	OP	OP	OP	0	0	0	0	0	0	+	+	OP	OP	OP	OP	1	1	0	0	0	0
3	OP	OP	OP	OP	OP	OP	0	0	0	0	0	0	+	+	OP	OP	OP	OP	2	1	0	0	0	0
4	OP	OP	OP	OP	OP	OP	0	0	0	0	0	0	+	+	OP	OP	OP	OP	1	1	0	0	0	0
5	OP	OP	OP	OP	OP	OP	0	0	0	0	0	0	+	+	OP	OP	OP	OP	1	1	0	0	0	0

* - OP – отсутствие реакции.

В ходе опыта установлено, что сразу после введения препарата в конъюнктивальный мешок глаз кроликам отмечается сужение глазной щели, легкое покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице, которое самопроизвольно проходило в течение 3-4 часов. Это указывает, что препарат монизен форте обладает умеренно выраженным эффектом раздражающего действия на слизистые оболочки глаз кроликов. Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что препарат монизен форте не обладает раздражающим действием на кожу. Соответственно препарат монизен форте при накожных аппликациях согласно межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 10993-10–2011 обладает слабой степенью ответной реакции на раздражение у кроликов. Нанесение разрешающей дозы препарата сенсibilизированным кроликам не вызывает значимую ответную реакцию со стороны слизистой оболочки глаза и кожного покрова, что говорит об отсутствии алергизирующих свойств монизен форте.

3.5.5 Иммунотоксичность препарата монизен форте

Результаты оценки клеточного иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) после однократного подкожного введения препарата монизен форте в дозах 1/10 и 1/100 от ЛД₅₀ (соответственно 252,4 и 25,24 мг/кг по лекарственной форме) при введении в качестве антигенов эритроцитов барана представлены в таблице 95.

Таблица 95 - Оценка иммунотоксичности препарата монизен форте при подкожном введении мышам в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (P >0,05)

Группа 1		Группа 2		Контроль	
№ животного	Инд. реакции	№ животного	Инд. реакции	№ животного	Инд. реакции
1	5,91	11	4,3	21	5,19
2	5,8	12	4,76	22	4,92
3	6,01	13	5,89	23	4,18
4	5,9	14	4,92	24	5,05
5	5,67	15	4,95	25	4,93
6	5,84	16	4,45	26	4,56
7	4,9	17	4,48	27	5,29
8	4,84	18	6	28	5,25
9	4,56	19	5,26	29	4,17
10	6,01	20	5,7	30	5,91
Среднее	5,54±0,55	Среднее	5,07±0,62	Среднее	4,95±0,53

Приведенные в таблице данные наглядно демонстрируют, что индекс реакции в опытных группах и контроле достоверно не различался. В этом эксперименте установлено, что монизен форте не оказывает как стимулирующего, так и ингибирующего действия на клеточный иммунитет.

Результаты исследований по влиянию препарата монизен форте на гуморальный иммунный представлены в таблице 96.

Таблица 96 - Исследование влияния препарата монизен форте на гуморальный иммунитет мышей методом локального гемолиза ($P > 0,05$)

№ живот ного	Кол-во АОК на 5×10^5 спленоцитов	№ живот ного	Кол-во АОК на 5×10^5 спленоцитов	№ живот ного	Кол-во АОК на 5×10^5 спленоцитов	Индекс стимуляции при подкожном введении 1 группа	Индекс стимуляции при подкожном введении 2 группа
1	65,83	11	81,3	21	76,44	0,9	1
2	80,63	12	66,58	22	68,37	0,8	0,8
3	78,92	13	58,84	23	63,41	0,8	0,7
4	75,59	14	58,52	24	82,71	1,1	1,2
5	56,42	15	73,22	25	74,33	1,2	1,2
6	60,58	16	81,18	26	80,75	0,7	0,9
7	59,61	17	73,44	27	66,12	0,9	1,1
8	75,66	18	78,22	28	57,61	1	1
9	82,96	19	73,35	29	78,31	1	1,2
10	63,21	20	58,87	30	83,56	1,2	1
Среднее	69,94± 9,82		70,35± 9,09		73,16± 8,85	0,96± 0,17	1,01± 0,17

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют, что индекс реакции в контрольной и опытных группах не имел достоверных различий. Наряду с этим установлено отсутствие влияния препарата на гуморальный иммунитет в реакции локального гемолиза. Проведенный эксперимент показал, что препарат монизен форте не обладает иммунотоксическим действием на организм животных в дозах 1/10 и 1/100 от ЛД₅₀.

3.5.6 Переносимость монизен форте в терапевтической и повышенных дозах при многократном введении овцам

В этом эксперименте изучали влияние препарата монизен форте на основные физиологические функции организма клинически здоровых овец при подкожном введении в дозировках, превышающих рекомендуемые. В ходе клинического осмотра животных установлено, что некоторые животные после повторного введения препарата и до конца эксперимента занимают вынужденное лежачее положение в течение 3–5 минут. Большинство животных, которым вводили подкожно препарат монизен форте, были вялые, однако аппетит у всех животных был сохранен. Слизистые оболочки к 7-м суткам эксперимента у животных во всех опытных группах были бледными, у некоторых животных с желтоватым оттенком. За время эксперимента гибели животных не наблюдалось. Гематологические показатели приведены в таблице 97.

Таблица 97 - Гематологические показатели овец при подкожном введении препарата монизен форте

Показатели	День эксперимента											
	За 24 часа до эксперимента				Через 7 суток				Через 37 суток			
	1 оп.	2 оп.	3 оп.	конт	1 оп.	2 оп.	3 оп.	конт	1 оп.	2 оп.	3 оп.	конт р.
Лейкоциты $\times 10^9/L$	11± 4,05	11,9 ±5,0	9,8± 4,95	9,3± 1,3	5,1± 0,52*	4,7± 1,27 *	2,8± 0,9*	11,2± 3	13,9 ±4,8	12,3 ±3,7	15± 4,67	8,3± 2
Лимфоциты $\times 10^9/L$	3,5± 1,29	3,6± 0,89	3,5± 0,98	5,4± 1,8	1,8± 0,41*	1,9± 0,35 *	1,6± 0,59 *	6,2± 2,73	7,2± 2,76	6,2± 1	9,4± 3,04	4,4± 1
Смесь моноцитов, базофилов, эозинофилов $\times 10^9/L$	1,5± 0,56	1,5± 0,55	1,2± 0,26	2± 1,57	0,6±0, 18*	0,8± 0,12 *	0,3± 0,13 *	3,1± 1,26	1,9± 0,67	1,5± 0,47	0,8± 0,42	2,6± 1
Гранулоциты $\times 10^9/L$	6,2± 3,47	6,5± 4,45	5,3± 4,12	2± 0,83	2,4± 0,91	2,3± 1,02	0,9± 0,29	2,1± 1,34	4,8± 2,35	4,7± 2,3	4,7± 3,1	1,4± 0,6
Эритроциты $\times 10^{12}/L$	6,8± 1,89	6,2± 2,8	6,8± 0,96	8,6± 0,9	5,4± 0,51*	4,6± 0,88 *	4,5± 0,58 *	8± 1,37	11,5 ±4	5,3± 1,61*	5,2± 1,07*	9,1± 1
Гемоглобин g/L	96,7 ±27	105± 22,9	109, 2 ± 38	116, 3±16	57,8±1 3*	59± 20,3 7*	43,8 ±16*	104,2 ±11	105, 8±58	54,8 ±14*	57± 11,16 *	115, 2± 11

Продолжение таблицы 97

Гемато крит%	26,4± 8,8	28,3 ±3	24,6 ±4	35,5 ±2	17,8±1 ,9*	15,7 ±3*	14,2 ±2*	34,6 ±4	34,1 ±13	17 ±5*	16,8 ±4*	37,5 ±3
-----------------	--------------	------------	------------	------------	---------------	-------------	-------------	------------	-------------	-----------	-------------	------------

*P≤0,05

В первой опытной группе клинический анализ периферической крови показал, что введение животным в течение 7-и суток препарата монизен форте в объеме 1 мл/20 кг по лекарственной форме (что соответствовало однократной терапевтической дозе) приводит к достоверному снижению концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов (таблица 97). После отмены введения препарата на 30-е сутки показатели концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов у большинства животных данной группы не отличались от показателей у животных контрольной группы. Однако, среднее содержание гемоглобина было достоверно ниже у животных опытной группы, по сравнению с контрольной группой животных. При отмене препарата к 30-м суткам наблюдается положительная динамика восстановления данных показателей, однако они достоверно отличаются от контрольных, хотя и не выходят за пределы физиологических значений.

Во второй опытной группе животных, которым вводили препарат монизен форте в объеме 2 мл/20 кг по лекарственной форме, отмечали достоверное снижение эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов на 7-е сутки после начала эксперимента. К 30-м суткам также отмечали положительную динамику восстановления данных показателей, однако эритроциты и гемоглобин оставались ниже физиологических значений.

В третьей опытной группе животных динамика гематологических показателей была аналогична животным из второй опытной группы.

Вместе с этим нельзя не отметить, что на 3–5-е сутки после отмены препарата все животные, как опытных, так и контрольной групп были активными. Реакция на внешние раздражители сохранена, аппетит удовлетворительный (прием корма был активный).

Результаты биохимического исследования сыворотки крови овец представлены в таблице 98.

Таблица 98 - Биохимические показатели сыворотки крови овец после курсового введения препарата монизен форте

Показатели	Ед. Изм.	День эксперимента											
		За 24 часа до эксперимента				Через 7 суток				Через 37 суток			
		1 оп.	2 оп.	3 оп.	кон.	1 оп.	2 оп.	3 оп.	кон.	1 оп.	2 оп.	3 оп.	кон.
АЛТ	Е/л	20,3 ±2	19,5 ±2	20,2 ±	21,3 ±2	48,1 ±3*	48,4 ±4*	55±6*	20,6 ±2	30,2 ±2*	32,7 ±3*	39,7 ±4*	21,3 ±3
АСТ	Е/л	54,3 ±7	55,2 ±6	56,9 ±8	54,8 ±6	132±11*	159±15*	172±20*	55±5	74,5 ±5	78,8 ±7	110±9*	53,7 ±5
Щелочная фосфатаза	Е/л	72,8 ±6	69,2 ±7	68,9 ±6	64,2 ±7	354±39*	345±26*	375±51*	66,5 ±5	106,4 ±4	103,8±9	170±10*	70,1 ±7
Мочевина	ммоль/л	4,9±0,5	4,8±0,3	4,7±0,6	4,6±0,4	2,9±0,2*	2,9±0,2*	15,9 ±1,5*	5,1±0,3	4,7±0,4	5±0,5	5,9±0,8	4,9±0,5
Креатинин	ммоль/л	88,5 ±12	83±4	86,9 ±8	91,7 ±8,3	66,8 ±8*	68,1 ±3*	256,3±24*	97,7 ±5	104,8 ±11	102,1±13	105,8±9	90,7 ±10
Глюкоза	ммоль/л	2,7±0,4	2,8±0,5	2,7±0,3	3,1±0,5	1,7±0,3*	1,7±0,3*	1,7±0,3*	2,8±0,4	2,8±0,4	2,8±0,4	3,1±0,5	3±0,4
Белок общий	г/л	65,2 ±8	64,9 ±7	63,6 ±4	65,1 ±8	101,4 ±8*	99,7 ±12*	104,9±12*	63,3 ±5	67,4 ±8	70,8 ±8,09	72,3 ±8,11	66,3 ±8,94
Альбумин	г/л	29,9 ±2	30,8 ±1	32,1 ±2	30,2 ±2	22,1 ±2*	21,6 ±1*	20,6 ±2*	31,3 ±3	28,9 ±2	32,5 ±1	28,8 ±3	28,6 ±2
Глобулин	г/л	35,3 ±7	34,1 ±9	31,5 ±4	34,9 ±8	79,3 ±9*	78,1 ±12*	84,4 ±13*	31,9 ±7	38,5 ±8	38,4 ±8	43,5 ±8	37,8 ±11

* $P \leq 0,05$

При хронической интоксикации завышенными дозами препарата монизен форте установлено повышение АЛТ и АСТ, а также щелочной фосфатазы, и повышение концентрации общего белка в сыворотке крови животных опытных групп. Вместе с этим фиксировали достоверное снижение альбуминов, глюкозы и повышение глобулиновых фракций белка. Данный факт указывает на гепатотоксичность длительного введения препарата монизен форте ягнятам в терапевтической и повышенной дозах. Наряду с этим у животных первой и второй опытных групп отмечали достоверное снижение креатинина и мочевины

сыворотки крови, что наряду с повышением индикаторных ферментов печени указывает на снижение функциональной активности гепатобилиарной системы. У животных третьей опытной группы отмечалось достоверное повышение креатинина сыворотки крови, что указывает на нефротоксичность хронического введения повышенных в три раза доз препарата монизен форте.

Через 30 суток после отмены препарата в первой и второй опытных группах у животных отмечали полное восстановление биохимических показателей сыворотки крови до физиологических значений, при этом они не отличались от показателей сыворотки крови контрольных овец. У ягнят в третьей опытной группе, которым вводили препарат в 3-кратной терапевтической дозе (или 3 мл/20кг), активность индикаторных ферментов печени и щелочной фосфатазы оставались повышенными.

Таким образом, можно констатировать, что подкожное введение препарата монизен форте ягнятам в терапевтической и повышенной дозах (в два и три раза), 1 раз в день в течение 7 суток подряд оказывает гепатотоксическое и нефротоксическое действие.

Еще одним показателем, характеризующим физиологическое развитие молодняка сельскохозяйственных животных, является прирост массы тела. Результаты по определению динамики прироста массы тела ягнят после подкожного введения в течение 7 суток препарата монизен форте в терапевтических и завышенных дозах приведены в таблице 99.

Таблица 99 Динамика прироста массы тела ягнят после курсового введения препарата монизен форте

№ группы	Масса (кг) после введения через (суток)			Среднесуточный привес за 37 дней, г
	до	7	37	
1	26±1,59	27,3±2,93*	30,7±2,84*	127±7,4*
2	25±2,05	26,5±1,67*	29,5±1,84*	122±8,44*
3	26,1±2,07	26,4±1,9*	28,9±1,83*	76±7,49*
Контрольная группа	25,9±2,14	30,2±2,96	35,8±2,02	268±7,86

* $P \leq 0,05$

В результате многократное введение препарата в течение 7 суток приводит к достоверному снижению прироста массы тела опытных животных по сравнению с контролем.

Подводя итог обсуждению результатов, полученных в этом эксперименте, можно сделать вывод, что при длительном подкожном введении препарата монизен форте в дозах 1, 2 и 3 мл/20 кг массы тела животного, 1 раз в день, в течение 7-и суток вызывает существенный сдвиг в физиологическом состоянии животных. Клинический анализ периферической крови у овец всех опытных групп выявил снижение гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов периферической крови. При исследовании влияния препарата монизен форте на основные показатели метаболизма при многократном введении установлено достоверное повышение активности аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, концентрации общего белка за счет глобулиновых фракций, в то время как альбумины, наоборот снижались, что наряду со снижением уровня глюкозы указывает на гепатотоксическое действие препарата. Повышение уровня креатинина и мочевины свидетельствует о нефротоксическом воздействии препарата.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что препарат монизен форте при ежедневных однократных, подкожных введениях, в течение 7-и суток, в одно, двух и трёхкратных дозах обладает гепатотоксическим и нефротоксическим действием, на что указывают изменения гематологических и биохимических показателей крови, а также снижение среднесуточных привесов у животных подопытных групп.

Данные нарушения необходимо учитывать при назначении препарата монизен форте целевым животным, то есть не допускать многократного введения препарата в течение длительного времени.

3.5.7 Фармакокинетика и динамика выведения ивермектина и празиквантела после применения препарата монизен форте

Целью исследований было изучение фармакокинетики и динамики выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела из организма овец после введения препарата монизен форте, а также динамики выведения остаточных количеств ивермектина и празиквантела с молоком у коз. Результаты анализа содержания ивермектина в сыворотке крови овец после однократного подкожного введения препарата монизен форте в дозе 1 мл на 15 кг массы тела представлены в таблице 100 и рисунке 50.

Таблица 100 - Концентрация ивермектина в сыворотке крови овец после однократного применения препарата монизен форте, нг/мл

Время отбора проб	№ животного						Среднее значение концентр., нг/мл	Стандартное отклонение среднего значения, ±
	1	2	3	4	5	6		
До применения	-	-	-	-	-	-	-	-
4 ч	<LoQ*	12	10	<LoD	16	10	12**	2,82**
12 ч	12	23	10	13	20	15	15,5	5,00
24 ч	26	34	18	20	28	21	24,5	5,99
2 сут.	31	39	22	28	34	18	28,7	7,73
4 сут.	19	28	13	19	22	16	5,16	26,50
7 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	11,0***	1,41***
10 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
15 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
28 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-

*<LoQ – концентрация ниже предела количественного определения;

** - статистические данные по 4 значениям;

*** - статистические данные по 2 значениям.



Рисунок 50 - Динамика изменения концентрации ивермектина в сыворотке крови овец после применения препарата монизен форте

Установлено, что концентрации ивермектина в сыворотке крови животных находились на низких уровнях, среднее значение максимальной концентрации ивермектина - 28,7 нг/мл (через 2 суток после применения препарата). Через 7 суток ивермектин обнаруживали в следовых количествах (11 нг/мл) лишь у 2 животных из 6.

Результаты анализа содержания празиквантела в сыворотке крови овец после однократного подкожного введения препарата монизен форте в дозе 1 мл на 15 кг массы тела представлены в таблице 101 и рисунке 51.

Таблица 101 - Концентрация празиквантела в сыворотке крови овец после применения препарата монизен форте, нг/мл

Время отбора проб	№ животного						Среднее значение концентр. нг/мл	Стандартное отклонение среднего значения, ±
	1	2	3	4	5	6		
4 ч	236	404	295	273	309	258	262,5	38,66
12 ч	228	195	278	264	290	241	249,3	35,12
24 ч	111	113	125	130	124	96	116,5	12,43
2 сут.	76	63	94	87	109	55	80,7	20,06
4 сут.	<LoQ*	<LoQ	50	<LoQ	65	<LoQ	57,5**	10,60
7 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
10 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
15 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-
28 сут.	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	-	-

*<LoQ – концентрация ниже предела количественного определения

** - статистические данные по 2 значениям



Рисунок 51 - Динамика изменения концентрации празиквантела в сыворотке крови овец после применения препарата монизен форте

Максимальные концентрации празиквантела составляли 262,5 нг/мл уже в первый срок наблюдения (через 4 часа после применения препарата). В последующие сроки концентрация празиквантела в сыворотке крови последовательно снижалась до минимальных значений: через 2 суток средняя концентрация составляла 80,7 нг/мл, через 4 суток – 57,5 нг/мл.

Различия индивидуальных значений концентраций ивермектина и празиквантела по каждой временной точке отбора носят статистически значимый характер, вследствие существенного разброса результатов из-за индивидуальной вариабельности и очень низких концентраций аналитов.

После двукратного подкожного введения препарата козам в дозе 1 мл на 15 кг массы тела получили следующие результаты анализа образцов молока коз. Полученные значения содержания ивермектина в образцах молока коз представлены в таблице 102.

Таблица 102 - Содержание ивермектина в образцах молока коз

Время отбора проб	Концентрация ивермектина, мкг/кг					Среднее значение, нг/г	Стандартное отклонение среднего значения, ±
	<LoD *	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD		
12 ч	<LoD *	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
24 ч	10,5	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	11.25	1.06
2 сут.	14,3	10,3	15,8	10,6	<LoQ	12.75	2.72
4 сут.	17,3	14,5	18,7	12,9	12,7	15.22	2.67
7 сут.	11,2	10,0	13,0	<LoD	<LoD	11.4	1.5
10 сут.	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела детектирования

Остаточные количества ивермектина в молоке были выявлены уже через 24 часа, далее остаточные количества регистрировали через 2, 4 и 7 суток после второго применения препарата монизен форте. Максимальные концентрации ивермектина были отмечены через 4 суток после второго применения и составили $15,22 \pm 2,67$ нг/г. Через 10 суток концентрации ивермектина были ниже предела детектирования метода.

Результаты анализа празиквантела в образцах молока коз представлены в таблице 103.

Таблица 103 - Результаты анализа образцов молока коз (празиквантел)

Время отбора проб	Концентрация празиквантела, мкг/кг					Среднее значение, нг/г	Стандартное отклонение среднего значения, ±
	LoD*	LoD	LoD	LoD	LoD		
12 ч	LoD*	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-
24 ч	LoD	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-
2 сут.	LoD	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-
4 сут.	LoD	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-
7 сут.	LoD	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-
10 сут.	LoD	LoD	LoD	LoD	LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела детектирования

Как видно из таблицы 106 празиквантел, как исходное соединение (аналит), в молоке коз не был обнаружен как через 12 часов, так и через 10 суток после введения.

Продолжение таблицы 105

Легкие	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Селезенка	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Почки	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сальниковый жир	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела детектирования.

По результатам исследований остаточное содержание празиквантела не было выявлено ни в одной ткани. Концентрации ивермектина и празиквантела в органах и тканях овец после 35 суток после второго введения монизена форте приведены в таблицах 106 и 107.

Таблица 106 - Результаты анализа экстрактов органов и тканей (ивермектин) через 35 суток

Ткань	№ животного						Ср. знач., мкг/кг	Откл. ср.знач. ±
	1	2	3	4	5	6		
Печень	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Мышцы	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Мышцы из места инъекции	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сердце	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Легкие	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Селезенка	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Почки	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сальниковый жир	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела детектирования

Таблица 107 - Результаты анализа экстрактов органов и тканей (празиквантел) через 35 суток

Ткань	№ животного						Ср. знач., мкг/кг	Станд. отклонение средн. знач., ±
	1	2	3	4	5	6		
Печень	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Мышцы	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Мышцы из места инъекции	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сердце	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Легкие	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Селезенка	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Почки	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-
Сальниковый жир	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	-	-

*<LoD – концентрация ниже предела детектирования

При исследовании органов и тканей через 35 суток после второго введения препарата остаточные количества ивермектина и празиквантела ни в одном из исследованных образцов обнаружены не были (все значения были ниже предела детектирования).

Необходимо отметить, что в соответствии с «Гигиеническими нормативами содержания действующих веществ пестицидов в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах» существуют утвержденные максимально допустимые уровни (МДУ) остаточных количеств ивермектина в продукции животноводства: для печени овец – не более 0,015 мг/кг (15 нг/г), для жировой ткани – не более 0,02 мг/кг (20 нг/г), для иных тканей и молока МДУ не установлены. МДУ для остаточных количеств празиквантела отсутствуют [77].

Таким образом, основываясь на полученных результатах, можно сделать заключение, что убой овец на мясо целесообразно проводить не ранее чем через 35 суток после последнего применения препарата, молоко коз возможно употреблять в пищу человеку через 10 дней после его применения.

3.5.8 Изучение терапевтической эффективности препарата на овцах

3.5.8.1 Эффективность монизена форте при пероральной даче

В 2017 году в Орловской области провели сравнительные испытания терапевтической эффективности препарата монизен форте (серия 020617) и препарата альвет 10% при цестодозах и нематодозах овец. В результате проведенных исследований перед обработкой животных установили, что у овец первой опытной группы (монизен форте) яйца мониезий были обнаружены в 5 пробах (ЭИ–25%), яйца стронгилят ЖКТ в 19 пробах (ЭИ - 95%), личинки диктикаулюсов в 7 пробах (ЭИ–35%), яйца нематодир – в 8 пробах (ЭИ–40%). Во второй группе (альвет) яйца стронгилят были обнаружены у 20-и животных (ЭИ–100%), личинки диктикаул у 8 овец (ЭИ–40%), яйца мониезий у 5 животных (ЭИ–25%), нематодир – у 6 овец (ЭИ–30%). У овец контрольной группы (10 животных) яйца мониезий были обнаружены в 6 пробах (ЭИ–60%), яйца

стронгилят пищеварительного тракта в 7 пробах (ЭИ - 70%), яйца нематодир – в 7 пробах (ЭИ-35%), личинок диктиокаул не обнаружили. У животных первой опытной группы в день дегельминтизации через 6 часов началось отхождение цестод с фекалиями. Часть выделенных цестод собрали, промыли в воде и зафиксировали в жидкости Барбагалло, в лаборатории был определен вид – *Moniezia benedeni*. Аппетит и общее состояние обработанных монизеном форте животных улучшилось, кашель и диарея прекратились.

На 10-е сутки эксперимента для определения эффективности обработки монизеном форте отобрали пробы фекалий от всех овец опытных и контрольной групп. При исследовании фекалий в пробах от овец первой опытной группы членики, яйца и личинки гельминтов не выявлены. В пробах фекалий от овец второй опытной группы обнаружены яйца стронгилят и личинки диктиокаул. В 6 пробах от овец контрольной группы были обнаружены яйца мониезий (ЭИ– 60%), в 7 пробах – яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта (ЭИ–70%), в 7 пробах (ЭИ-35%) обнаружены яйца нематодир.

Полученные в ходе этого эксперимента данные отражены в таблице 108.

Таблица 108 - Сравнительная эффективность препаратов монизен форте и альвет (10%)

Препарат	До за	Кол. жив.	Инвазированность овец до опыта (экз. яиц /личинок/1г фекалий)				Инвазированность овец через 20 дней после обработки (экз. яиц/личинок/1г фекалий)				ИЭ, %		
			Стронгиляты (я.)	Диктиокаулы (лич.)	Мониезии (я.)	Нематоиды	Стронгиляты	Диктиокаулы	Мониезии	Нематоиды	Стронгилята	Диктиокаулы	Мониезии
монизен форте	1 мл/20 кг	20	59,2±8,1	30±2,7	45±5,3	45±4,5	0	0	0	0	100	100	100
альвет 10%	0,5 мл/10 кг	20	72,35±9,2	36±7,3	40,7±7	30±3,6	30±2,1	30±2,1	0	0	58,5	16,7	100
контр. группа	-	10	75±11,2	0	40±4,7	45±3,6	72,9±6,0	0	42,5±6,1	42±4,1	0	0	0

Этот эксперимент сравнения ещё раз наглядно продемонстрировал высокую эффективность препарата монизен форте в дозе 1 мл на 20 кг массы животного однократно перорально индивидуально. Монизен форте оказался высокоэффективен (100%) при стронгилятозах, диктиокаулёзе, нематодирозе и мониезиозе. Препарат сравнения альвет (10%) при стронгилятозах показал интенсэффективность 58,5 %, диктиокаулезе – 16,7%, при мониезиозе и нематодирозе полностью освободил овец от гельминтов. Побочных явлений после введения животным препарата не выявлено.

Следующий эксперимент провели в Курской области. Монизен форте применяли овцам перорально групповым способом. Было установлено, что у овец до обработки наблюдалась микстинвазия: стронгилоидоз+трихоцефалез – ЭИ 28,6%; стронгилоидоз+нематодироз+дикроцелиоз – ЭИ 28,6% и инвазия – диктиокаулез+мониезиоз – ЭИ 42,9%. Всех овец подвергли клиническому осмотру. У 14 ягнят отмечен кашель, усиливающийся при прогоне, слизистые выделения из носовых отверстий, вялость; у 7 ягнят наблюдалась умеренная диарея, выделение члеников мониезий с жидкими фекалиями. При осмотре на наличие эктопаразитов на теле всех животных обнаружили кровососок на 10 см² *Melophagus ovinus* (ИИ от 10 до 40 экз.) и власоедов *Bovicola bovis* (средняя ИИ – 1–3 экз.).

Спустя 6 часов с момента поедания кормолекарственной смеси у овец опытной группы с фекалиями началось отхождение мониезий (преимущественно в виде фрагментов стробил). Оно происходило в течение 3 часов наблюдения, после чего наблюдение за животными прекратили. По словам владельца овец отхождение мониезий наблюдалось до вечера. Отошедших мониезий собрали, промыли в воде и зафиксировали в 70° спирте. Паразиты были идентифицированы как *Moniezia benedeni* – возбудители осеннего мониезиоза.

Состояние овец опытной группы существенно улучшилось через 2-3 дня после дегельминтизации – овцы стали активнее, улучшился аппетит, прекратились диарея и кашель. Через неделю после обработки овец провели

осмотр опытной группы, было отмечено значительное улучшение состояния животных. Количество кровососок и власоедов на них значительно уменьшилось.

Через 2 недели после обработки монизеном форте в пробах овец опытной группы яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта, трихоцефалюсов, мониезий, личинки диктиокаулюсов не были обнаружены. У овец контрольной группы обнаружили яйца дикроцелиумов – ЭИ 50%; трихоцефалюсов – ЭИ 60%; яйца и (или) членики мониезий – ЭИ 80%; личинки диктиокаулюсов – ЭИ 40%. Клиническое состояние всех овец опытной группы соответствовало норме, у овец контрольной группы по-прежнему наблюдались вялость, кашель, понос, выделение члеников мониезий, плохой аппетит. При осмотре овец на наличие эктопаразитов на овцах опытной группы подвижных форм кровососок и власоедов не обнаружили, однако на руне находилось до 20-30 куколок кровососок и пустые пупарии. На овцах контрольной группы обнаружили, как и ранее, подвижных кровососок, власоедов, а также куколки кровососок. По просьбе владельца овец, а также с учетом обнаружения на овцах опытной группы куколок кровососок через 15 дней после дегельминтизации все овцы опытной (повторно) и контрольной (первично) были обработаны кормолекарственной смесью с монизеном форте. Побочных явлений, осложнений и нежелательных реакций на введение препарата не установили. Через 6 часов после обработки у животных контрольной группы наблюдали отхождение с фекалиями фрагментов мониезий, в опытной группе этого не наблюдалось. При осмотре овец опытной группы через 30 суток после первой обработки и через 15 суток после второй обработки, кровососок и власоедов обнаружено не было (на некоторых овцах были единичные пустые пупарии). В руне овец контрольной группы, обработанных первично, обнаруживались единичные подвижные кровососки (по-видимому, только вышедшие из куколок), куколки и пустые пупарии, власоедов не было. Общее состояние овец опытной группы было хорошее, клинических признаков болезней не наблюдали, состояние овец контрольной группы (в сравнении с состоянием до обработки) также значительно улучшилось. От овец обеих групп еще раз отобрали пробы фекалий. При лабораторном исследовании в

2 пробах из опытной группы и в 3 – из контрольной обнаружили яйца дикроцелиумов. Яйца, членики и личинки других гельминтов не обнаружены.

Этот эксперимент наглядно продемонстрировал, что монизен форте в дозе 1 мл на 20 кг массы тела овец применённый натошак однократно групповым способом в виде кормолекарственной смеси с зерном (ячменем) обладает высокой эффективностью – ЭЭ =100% при мониезиозе, нематодозах желудочно-кишечного тракта и легких (стронгилятозах, трихоцефалезе, диктиокаулезе), а также при двукратном применении с интервалом 14 суток – при энтомозах (мелофагозе, бовиколезе). При дикроцелиозе в этом эксперименте препарат показал экстенсэфективность, равную 80%.

Монизен форте в виде кормолекарственной смеси с зерном хорошо поедается овцами и не вызывает побочных реакций. Проведенные исследования применения препарата монизен форте перорально показали, что его можно с успехом применять как индивидуально, так и групповым способом. Применение монизена форте по рекомендованной схеме и в описанных дозах безопасно для овец.

3.5.8.2 Эффективность монизена форте при парентеральном введении препарата

Испытанию эффективности инъекционной формы этого препарата было уделено особое внимание, так как подобных инъекционных лекарственных препаратов ранее в России не применялось. Провели испытание в разных климатических зонах страны, в Курской, Рязанской и Калининградской областях.

В Курской области провели испытание препарата при мониезиозе, стронгилятозе желудочно-кишечного тракта, мелофагозе, бовиколезе и иксоидозе. Перед проведением эксперимента у овец отобрали фекалии и исследовали их. Установили, что в 23-х пробах фекалий обнаружены яйца стронгилят ЖКТ (ЭИ=46 %). При обследовании отобранных овец на эктопаразитарные болезни у всех были обнаружены овечьи кровососки *Melophagus ovinus* (ЭИ=100 %, ИИ – от 3 и выше), власоеды *Bovicola ovis* (ЭИ=100 %) и иксодовые клещи (ЭИ=100%).

Яиц и члеников мониезий в фекалиях не обнаружили, хотя, по словам владельца овец, в прошлые годы при убое в кишечнике овец обнаруживались мониезии, а в фекалиях – членики мониезий. При осмотре свежесвыделенных фекалий всех животных до дегельминтизации членики мониезий обнаружены не были.

Через 6 часов после дегельминтизации, началось отхождение мониезий длиной до 80 см. Отшедшие гельминты были премагинальных стадий развития: с головками, молочно-белого цвета, живые (при захвате пинцетом стробила сокращалась). Отхождение паразитов наблюдалось еще в течение 3 часов, после чего наблюдение за животными прекратили. Отшедших мониезий собрали, промыли в воде и зафиксировали 70° спиртом. Позже они были идентифицированы как *Moniezia expansa*. Таким образом, диагноз на мониезиоз в данном хозяйстве был установлен методом дегельминтизации, у всех взятых в опытную группу животных были обнаружены мониезии в премагинальной стадии развития (ЭИ=100 %). В течение 9 часов после дегельминтизации - в период отхождения мониезий, и в последующие две недели наблюдения негативных изменений в состоянии и поведении овец не происходило, было установлено, что аппетит и общее состояние животных улучшились. При исследовании фекалий через две недели после обработки установили, что в пробах от овец опытной группы яиц и личинок стронгилят, яиц и члеников мониезий обнаружено не было. Таким образом, экстенсэфективность и интенсэфективность препарата при стронгилятозах пищеварительного тракта и мониезиозе составила 100 %. У всех овец контрольной группы в фекалиях были обнаружены яйца стронгилидного типа (ЭИ=100 %), а в 8 пробах и членики мониезий (ЭИ=80 %). В день завершения эксперимента и отбора проб фекалий все животные опытной и контрольной групп были тщательно обследованы на наличие кровососок, власоедов и иксодовых клещей. У всех животных опытной группы этих и других эктопаразитов не оказалось – экстенсэфективность по мелофагозе, бовиколезе и иксодидозе составила 100 %. У всех 10 овец контрольной группы на теле были обнаружены кровососки и власоеды, а у 4 – живые присосавшиеся иксодовые клещи. В этот же день с целью контроля полученных при лабораторных

исследованиях данных всех овец (опытной и контрольной групп) обработали суспензией монизен в дозе 1 мл на 10 кг массы однократно индивидуально натошак перорально и наблюдали за ними в течение 10 часов. В указанный период, а также в последующие двое суток отхождения мониезий из кишечника животных опытной группы не наблюдали, что подтверждает 100 % экстенс- и интенсэфективность препарата монизен форте при мониезиозе. У всех овец контрольной группы через 5-6 часов наблюдалось отхождение мониезий. В этом эксперименте монизен форте, примененный подкожно, однократно в дозе 1 мл на 20 кг веса животного проявил 100% эффективность при мониезиозе, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта, мелофагозе и бовиколезе, проявил акарицидное воздействие на иксодовых клещей (в опытной группе все животные освободились от иксодид).

В Рязанской области был испытан монизен форте при мониезиозе и стронгилятозах пищеварительного тракта овец. Перед проведением опыта исследовали фекалии от овец опытной и контрольной групп, и установили микстинвазию. У овец одновременно паразитировали до шести разных видов паразитов. Кроме гельминтов были обнаружены у овец опытной и контрольной группы эймерий. Результаты исследований представлены в таблице 109.

Таблица 109 - Результаты лабораторных (копроовоскопических) исследований овец опытной и контрольной групп до применения противопаразитарного препарата монизен форте

Группы животных	Инд. № животного	Результаты лабораторных исследований
опытная	176	<i>Moniezia expansa</i> , <i>Strongylata spp.</i> , <i>Eimeria arloingi</i> , <i>E. ninaekohljakimovae</i>
	3814	
	3553	
	5148	
	3241	
	3494	<i>Strongylata spp</i> , <i>Eimeria arloingi</i>
	3774	
	3583	
	041	
	3495	<i>Moniezia spp.</i> , <i>Strongylata spp.</i> , <i>Nematodirus spp.</i> , <i>Eimeria arloingi</i> , <i>E. ninaekohljakimovae</i>
	б/н 1	
	3769, 3795	

Продолжение таблицы 109

	3423	
	3448	
	3558	
	3637	
	049	
	3585	
	147	
	б/н 2	
	110	
	383	
	б/н 3	
	137	
	201	
	3452	
	151	
	3961	
	3424	
	158	
	141	
	3614	
	3582	
	203	
	169	
	124	
	135	
	157	
	219	
	170	
	999	
	136	
	109	
	125	
	139	
	3606	

*Moniezia spp.,
Strongylata spp.,
Eimeria arloingi,
E. ninaekohljakimovae*

*Moniezia expansa,
Strongylata spp.,
Nematodirus spp.,
E. ninaekohljakimovae*

*Moniezia expansa,
Strongylata spp.,
Nematodirus spp.,
Eimeria arloingi,
E. ninaekohljakimovae*

*Moniezia spp.,
Strongylata spp.,
E. ninaekohljakimovae*

*Moniezia spp.,
Strongylata spp.,
Eimeria arloingi,
E. ninaekohljakimovae*

Продолжение таблицы 109

	186	
	167	
	3315	
контрольная	154	<i>Moniezia expansa</i> , <i>Strongylata spp.</i> , <i>Nematodirus spp.</i> , <i>Eimeria arloingi</i>
	129	
	3361	
	3618	
	3711	
	3825	<i>Moniezia spp.</i> , <i>Strongylata spp.</i> , <i>Chabertia ovina</i>
	3420	
	3949	
	3834	
	3458	

Проведя копроовоскопические исследования установили, что до дачи препарата овцы опытной и контрольной групп были поражены мониезиозом (ЭИ=92 %, ИИ=5-9), нематодирозом (ЭИ=48 %, ИИ=1-4) и эймериозом (ЭИ=92 %, ИИ=4-7-12), и стронгилятами пищеварительного тракта (ЭИ=100%).

В результате исследований установили, что препарат оказался высокоэффективен. При мониезиозе он проявил ЭЭ=96 %, при стронгилятозах ЖКТ и нематодирозе овец экстенсивность составила 100 %. Яйца *Moniezia spp.* были выявлены только у двух опытных животных, а яйца нематодир – у пяти. Эймерии двух видов (*Eimeria arloingi*, *E. ninaekohljakimovae*) обнаружены в пробах фекалий только у 13 (ЭИ=26 %) опытных овец, что, по-видимому, объясняется повышением общей реактивности и местного иммунитета вследствие дегельминтизации.

У животных контрольной группы при лабораторном исследовании обнаружены яйца мониезий, яйца стронгилят желудочно-кишечного тракта и ооцисты эймерий при таких же показателях экстенсивности инвазии, как и в начале опыта.

Полученные результаты подтверждают высокую антигельминтную эффективность против мониезий и стронгилят желудочно-кишечного тракта противопаразитарного препарата монизен форте. Побочное действие препарата монизен форте у овец опытной группы не отмечено.

В Рязанской области провели еще один эксперимент по изучению терапевтической эффективности препарата монизен форте. В Рязанском районе (ООО «Авангард») провели наружный осмотр шерсти, копроовоскопические и ларвоскопические исследования фекалий от овец опытных и контрольной групп. Установили при исследовании за день до начала опыта, что из 36 овец первой опытной группы инвазировано 30 животных (ЭИ=83,3%), а из 36 овец второй группы 33 овцы (ЭИ=91,6%). В исследованных пробах фекалий от овец контрольной группы обнаружены яйца стронгилят пищеварительного тракта и стронгилоидов. В результате исследований установлено, что животные контрольной группы инвазированы нематодами (ЭИ=100%). Вышеуказанные нематоды принадлежат к подотрядам *Strongylata* и *Rhabditata*.

При клиническом обследовании овец опытных и контрольной групп у всех (100%) отмечены симптомы мелофагоза (выпадение шерсти, очаговый дерматит, зуд) и обнаружены имаго *Melophagus ovinus* и их куколки. Полученные данные отражены в таблице 110.

Таблица 110 - Эффективность препарата монизен форте при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и стронгилоидозе овец

Группы животных	Число исследованных	Инвазировано	ЭИ, %	Результаты исследований после дегельминтизации (инвазировано)	ЭЭ, %
Опытная группа № 1	36	30	83,3	2	93,3
Опытная группа №2	36	33	91,6	3	90,9
Контрольная группа	10	10	100	Дегельминтизацию не проводили	

В первой опытной группе овец на 4-6-й дни после применения препарата отмечено улучшение общего состояния, увеличение аппетита, а при индивидуальном исследовании шерстного покрова - отсутствие кровососок, небольшие алопеции в области спины и на боках.

Во второй опытной группе овец на 7-12-е сутки, несмотря на их удовлетворительное состояние, хороший аппетит и увеличение двигательной активности, отмечали выпадение шерсти, обширные алопеции в области шеи, спины и конечностей. При индивидуальном осмотре овец имаго *Melophagus ovinus* не обнаружили, но выявили большое количество нежизнеспособных куколок. При энтомологическом исследовании овец опытных групп на мелофагоз через 14 суток после применения препарата монизен форте половозрелые кровососки и их куколки не были обнаружены (ЭЭ 100%). У овец контрольной группы при осмотре выявлены имаго *Melophagus ovinus* от 5 до 20 экз. на животное. При копроовоскопических и ларвоскопических исследованиях фекалий от овец опытных и контрольной групп через 14 суток после применения монизен форте установлены следующие результаты: в опытных группах овец у пяти овец выявлены яйца стронгилят и стронгилоидов (ЭИ 90,9-93,3%). У всех 10 овец контрольной группы выявлены яйца и личинки стронгилят и стронгилоидов желудочно-кишечного тракта в большом количестве, а также имаго *Melophagus ovinus*.

Проведя этот эксперимент, установили, что монизен форте в дозе 1 мл на 20 кг массы животного, введенный подкожно обладает выраженным нематодоцидным действием, высокоэффективен при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта и стронгилоидозе взрослых овец, а также против кровососок *Melophagus ovinus* и их куколок.

В Калининградской области в КФХ «Меерис» изучили эффективность внутримышечного введения монизена форте. Перед началом эксперимента провели исследование фекалий от животных и установили, что в контрольной группе из 30-и животных поражено 20, интенсивазированность равна 66,7%, а в опытной группе из 30-и животных поражено 25, интенсивазированность равна

83,3%. В контрольной группе преобладала микстинвазия – 50%, трематодами были поражены 20 животных (100%), цестодами (4 овцы) – 20%, нематодами (5) – 25% овец. В опытной группе у 11 овец установлена микстинвазия (44%). В этой группе из 25 овец были поражены фасциолёзом – 14 (56%), дикроцелиозом – 9 (36%), парамфистомозом -2 овцы, (трематодозами 100%) , мониезиозом – 4 (16%), нематодозами - 7 овец (28%). При внутримышечном введении препарата монизен форте овцам воспалительных процессов в месте инъекции и болевой реакции на введение не наблюдали, наблюдение за животными продолжали ещё трое суток. Побочных явлений от введения препарата отмечено не было. Через 18 суток при исследовании фекалий, получили следующие результаты: у овец опытной группы в пробах фекалий обнаружили яйца трихостронгилид количестве – $4,7 \pm 1,1$ экз. у двух животных (ЭЭ 71,4%). В фекалиях овец контрольной группы насчитывалось яиц стронгилят пищеварительного тракта $218,5 \pm 7,8$ экз. в 1 г фекалий. Эффективность монизена форте в этом опыте при стронгилятозах пищеварительного канала составила 97,8%. При мониезиозе препарат освободил от мониезий 6 овец из семи – ЭЭ = 85,7%. При трематодозах полностью от гельминтов освободилось 17 животных из 25 – ЭЭ= 68%, причем при дикроцелиозе экстенсэффективность составила 55,6%, при фасциолёзе 71,4%. Яиц парамфистом обнаружено не было. Следует отметить, что интенсэффективность препарата против трематод была близка к 100%. У животных опытной группы в 1 г фекалий яиц фасциол и дикроцелий обнаружили $4,6 \pm 1,8$ экз., тогда как у овец контрольной группы количество яиц фасциол и дикроцелий в среднем было $257,8 \pm 2,4$ экз. Соответственно в этом эксперименте интенсэффективность монизена форте при фасциолёзе и дикроцелиозе составила 98,2%. При гельминтологическом вскрытии печени 3-х овец контрольной группы было обнаружено 19 фасциол и 24 дикроцелия, в среднем 15 экземпляров на животное. Тогда как при вскрытии трёх овец изопытной группы установили, что 2 овцы были свободны от трематод на 100%, у одной овцы в печени обнаружено 2 фасциолы.

Полученные в этом эксперименте результаты исследований дают основание рекомендовать данный препарат для лечения и профилактики стронгилятозов, мониезиоза и для профилактики фасциолёза и дикроцелиоза овец.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Овцеводство – одна из важнейших отраслей народного хозяйства страны, являющаяся источником получения такой продукции, как шерсть, мясо, молоко, сало. В России активно развито овцеводство в Дагестане, Калмыкии, Ставропольском крае, Астраханской области, Карачаево-Черкессии. На конец июля 2021 года общее число овец и коз в России насчитывается - 23,3 млн голов. Для качественного содержания овец важно не только определенные условия содержания и кормления животных, но и проведение своевременных лечебно-профилактических мероприятий – в том числе и обработка овец от эндопаразитов и эктопаразитов, причиняющих существенный отход молодняка, снижение массы тела и качества шерсти животных. В связи с этим разработка инновационных противопаразитарных препаратов остается актуальной. В данной работе освещен подход к разработке противопаразитарных препаратов пролонгированного действия, также супрамолекулярного комплекса, созданного с помощью механохимической технологии. Освещаются результаты изучения фармако-токсикологических свойств, фармакокинетики и динамики выведения действующих веществ препаратов, изучение эффективности действия, разработка схемы применения пяти лекарственных средств в форме раствора для орального применения, 2-х для парентерального применения, суспензии для орального применения и раствора для парентерального и орального применения.

Разработанная новая лекарственная форма ивермектина – 4% раствор для перорального применения – иверсан, хорошо переносится овцами. Пероральное введение ягнятам препарата иверсан двукратно с интервалом в 14 суток в рекомендуемой и трехкратной терапевтической дозе не оказывает влияния на физиологические показатели ягнят. Их общее состояние, активность, потребление корма и воды на протяжении всего эксперимента не выходило за пределы физиологической нормы. У животных опытных групп биохимические и гематологические показатели крови статистически не отличались от показателей овец контрольной группы. Препарат не оказывает отрицательного влияния на изменение динамики массы ягнят. По данным общеклинических и лабораторных

исследований показано, что двукратное с интервалом 14 суток пероральное введение препарата ягнятам в дозе в 3 раза больше рекомендуемой, достоверно не влияет на функциональное состояние органов и систем организма молодняка мелкого рогатого скота, что говорит о безопасности лекарственного препарата иверсан.

Иверсан высокоэффективен при индивидуальном применении и при групповой обработке овец. Была изучена эффективность применения иверсана при групповом способе путем выпаивания лечебного раствора и скармливания животным кормолекарственной смеси препарата с зерном. Иверсан показал одинаково высокую эффективность при назначении его животным в дозе 0,1 мл на 20 кг массы индивидуально и групповым способом с водой и в смеси с кормом. Изучение препарата провели в разных климатических зонах – Курской, Калининградской и Рязанской областях России. Во всех трех регионах препарат оказался высокоэффективен. В результате проведенных исследований установлено, что иверсан в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного при однократном применении обладает выраженным нематоцидным действием. Препарат эффективен при диктиокаулезе, трихоцефалезе, ларвальных и имагинальных формах стронгилятозов желудочно-кишечного тракта и стронгилоидоза овец, а также против половозрелых *Melophagus ovinus* (ЭЭ 100%) и власоедов *Bovicola ovis* (ЭЭ 100%). Препарат показал 100%-ную эффективность при стронгилятозах пищеварительного тракта овец, диктиокаулезе, при нематодирозе, при гемонхозе, трихостронгилезе и трихоцефалезе овец его экстенсэффективность составила 98,4%. При эстрозе овец он проявил 100%-ную эффективность против личинок *Oestrus ovis* 1-й и 2-й стадии. Против личинок *Oestrus ovis* 3-й стадии интенсэффективность иверсана составила 95%. При двукратном применении препарата с интервалом 14 суток в дозе 0,1 мл на 20 кг массы животного эффективность при псороптозе овец составила 100 %. Побочные явления, нежелательные реакции и осложнения после применения лекарственного препарата иверсан не фиксировались. Таким образом, можно сделать заключение, что препарат безопасен, высокоэффективен и его можно

рекомендовать для борьбы с нематодозами и арахноэнтормозами мелкого рогатого скота. Применение иверсана групповым методом значительно сокращает как трудоемкость, так и стоимость противопаразитарных обработок мелкого рогатого скота. Лекарственный препарат, содержащий 4% ивермектина, разработан и испытан в России впервые. Впервые в нашей стране доказана эффективность перорального применения раствора ивермектина групповым способом мелкому рогатому скоту для борьбы с нематодозами и арахноэнтормозами. Научная новизна разработки подтверждена патентом. Повышенная концентрация действующего вещества в препарате позволяет снизить транспортные расходы и удобна при групповых обработках скота.

Препараты для парентерального применения, содержащие 1% ивермектина, применяются в ветеринарии очень широко и выпускаются большим количеством фармацевтических компаний. Они прочно зарекомендовали себя как высокоэффективные и безопасные средства борьбы с паразитами. Но, к сожалению, до сих пор в России не зарегистрировано ни одного ивермектин содержащего лекарственного препарата пролонгированного действия. Появление такого препарата позволит значительно сократить потери овцеводства от паразитарных болезней. Выполняя эту диссертационную работу, удалось разработать подходы к созданию лекарственных форм ивермектина, обладающих пролонгированным действием. Разработать и испытать препараты пролонгированного действия с ивермектином и комплексный лекарственный препарат, содержащий ивермектин и празиквантел. Эти препараты получили рабочие названия иверлонг 1 и иверлонг 2.

Разрабатывая лекарственную форму препарата, проведена серия экспериментов по определению кинетики высвобождения ивермектина из образцов препарата иверлонг 1. В результате был подобран оптимальный состав препарата, обеспечивающий плавное и длительное высвобождение ивермектина из лекарственной формы. Иверлонг 1 содержал 5 % ивермектина, в качестве вспомогательных компонентов – биоразлагаемый полимер PLGA, N-метилпирролидон и триацетин. Разработав лекарственную форму препарата и

убедившись, что она достаточно долго высвобождает действующее вещество, был проведен целый ряд экспериментов с целью определения эффективной дозы. В результате проведенных исследований установлена высокая эффективность иверлонга 1 в дозе 1 мг/кг по ивермектину при стронгилятозах пищеварительного тракта овец даже через 75 дней после введения. При этом интенсивность препарата составила 100 %. Учитывая полученные данные, для профилактики стронгилятозов и предотвращения контаминации пастбищ инвазионным началом рекомендуем иверлонг 1 при этих нематодозах применять в пастбищный период с интервалом в три месяца в дозе 1 мл/50 кг массы животного. Несколько худшие результаты были получены при испытании иверлонга 1 против трихоцефалеа. Препарат в дозе 1мл/50 кг проявил высокую интенсивность (96%). Считаем, что при этой инвазии целесообразно повысить дозу до 1,5 мл/50 кг массы животного. Известно, что в природе, как правило, гельминтозы протекают в виде микстинвазий, вероятно, что эта доза будет эффективна при всех гельминтозах овец. Введение иверлонга 1 не вызывало болезненности. После его введения не отмечалось появления припухлости или какого-либо другого побочного действия. Для успешной профилактики желудочно-кишечных стронгилятозов овец в течение пастбищного сезона необходимо дважды применять иверлонг 1 в дозе 1 мл/50 кг с интервалом в 2,5-3 месяца. Это обеспечит освобождение животных от нематодозов и защитит их от повторного заражения в течение всего пастбищного сезона. Разработав подход к созданию пролонгированной лекарственной формы с ивермектином, была продолжена работа по созданию комбинированного препарата пролонгированного действия, содержащего ивермектин с празиквантелом. Препарат получил название иверлонг 2. При создании этого лекарственного препарата для биологических исследований были приготовлены и изучены девять комбинаций препарата. При изучении профиля высвобождения ивермектина и празиквантела из лекарственной формы установили, что из девяти исследованных составов лучшие результаты показали № 4, 5 и 9. Образец под номером 4 содержал 5 мг/г, а образцы 5 – 6,3 мг/г, 9 – 7,5 мг/г ивермектина. Празиквантела в образце № 4 было 61 мг/г, в № 5 – 87,6 мг/г, а в

№ 9 – 125,1 мг/г. На 14-е сутки эксперимента из этих образцов в среду высвобождения перешло соответственно 49,2; 38,03 и 39,08% празиквантела. Для изучения кинетики высвобождения ивермектина из лекарственной формы были взяты образцы под номером 4 и 5. Этот эксперимент длился 17 суток и показал, что из обоих образцов высвобождение действующего вещества шло плавно. Но из образца 4 ивермектин выделялся быстрее и больше, чем из образца 5. На завершающей стадии опыта из образца 4 в среду высвобождения вышло 60,05%, а из образца № 5 – 55,14% ивермектина. Соответственно этот эксперимент выявил не только оптимальные для дальнейшего изучения рецептуры препарата, но и показал, что празиквантел медленнее выделяется из этой лекарственной формы, чем ивермектин. Для дальнейшего изучения этих перспективных препаратов необходимо было разработать технологию приготовления готовой лекарственной формы препарата иверлонг 2. В ходе выполнения диссертационной работы эта технология была разработана, что позволило наработать необходимое для дальнейших исследований количество лекарственного препарата. В рамках доклинических исследований готового лекарственного препарата провели исследования, используя образец № 9, так как он также показал хорошие результаты во время предварительных испытаний, и он содержал максимальное из трех образцов содержание ивермектина (7,5 мг/г) и празиквантела (125,1 мг/г). Проведенные исследования показали, что LD₅₀ иверлонга 2 для крыс при введении в желудок составляет 4,3 г/кг. В соответствии с ГОСТ 12. 1007-76 препарат относится к 3 классу опасности. Иверлонг 2 не вызывает раздражающего действия, не обладает алергизирующим и иммунотоксическим действием.

Для всех лекарственных препаратов, применяемых продуктивным животным, необходимо определять период ожидания и изучать фармакокинетику действующих веществ препарата в организме целевых видов животных. Так как иверлонг 2 (образец № 4) является оригинальным препаратом, аналитические методики для определения содержания ивермектина и празиквантела в биологических объектах, включая сыворотку крови, молоко, органы и ткани овец, были разработаны впервые и отвалидированы. В процессе отработки методов

пробоподготовки установлена средняя степень извлечения ивермектина и празиквантела из разных биологических матриц от 83,3 % до 95,5 %. Установили, что высвобождение действующих веществ иверлонга 2 в кровотоке овец происходит с задержкой и, что важно, оно носит медленный и постепенный характер, особенно выражено это для ивермектина. Концентрация ивермектина в сыворотке достигала максимума через 48 часов ($62,9 \pm 15,4$ нг/мл), затем она постепенно падала и на 30-е сутки составила $11,3 \pm 1,2$ нг/мл. Этот эксперимент наглядно продемонстрировал, что наличие биоразлагаемого полимера в препарате способствует длительному поддержанию концентрации ивермектина на уровне, превышающем минимально эффективную концентрацию 1 нг/мл [348]. По сравнению с ивермектином, высвобождение празиквантела шло гораздо быстрее, его концентрация в сыворотке достигла максимума уже через 4 часа ($136,5 \pm 25,6$ нг/мл), затем она начала снижаться и через сутки составила уже $46,6 \pm 19,4$ нг/мл, на четвертые сутки – $16,2 \pm 5,2$ нг/мл. На 10-е сутки концентрация празиквантела снизилась ниже предела определения. Быстрое снижение концентрации празиквантела в сыворотке крови овец, по сравнению с ивермектином, объясняется его меньшей устойчивостью к биотрансформации. Изучив фармакокинетику препарата, сделали вывод, что выбор в качестве носителя для жидкой имплантируемой системы сополимера молочной и гликолевой кислот обеспечивает плавное и длительное высвобождение действующих веществ препарата в организме овец. На 30-е сутки наблюдения концентрация ивермектина в сыворотке крови более чем в 10 раз превышала минимальный его терапевтический уровень.

Проведя изучение его эффективности при микстинвазии овец, установили, что наиболее эффективная доза иверлонга 2 – 1,5 мл/10 кг массы тела животного. Его однократное введение в этой дозе позволяет полностью освободить овец от стронгилят, нематодирусов, трихоцефал и мониезий, а также профилактировать заражения ягнят перечисленными нематодозами на протяжении двух месяцев. Полученные данные свидетельствуют о том, что разработанная жидкая имплантируемая система и полученные результаты ее исследований могут

служить основой для создания высокоэффективного комбинированного препарата пролонгированного действия.

В последние годы появились работы, показывающие эффективность механохимической технологии при создании противопаразитарных лекарственных комбинаций. В процессе выполнения диссертационной работы была проведена серия экспериментов по созданию высокоэффективного лекарственного средства с помощью механохимической технологии. В результате остановились на комбинации – никлозамид/ивермектин/поливилпирролидон, она получила рабочее название никломок. Такая комбинация действующих веществ и вспомогательного компонента была предложена впервые в России. Впервые же была предпринята попытка с помощью механохимии, используя эту комбинацию веществ, создать противопаразитарный лекарственный препарат. Известно, что в основе механохимического процесса лежит измельчение вещества. Проведя сравнительное изучение размеров частиц никломека и использованных для его создания субстанций ивермектина и никлозамида, было установлено, что максимальный размер частиц никломека равен – 50,4 мкм, а минимальный – 1,96 мкм. Минимальный размер частиц никломека в 6,8 раз меньше размера частиц никлозамида и в 19 раз меньше размера частиц ивермектина. Известно, что препарат с меньшим размером частиц должен обладать большей биодоступностью. Данное предположение было проверено в условиях вивария на белых мышах, зараженных *Hymenolepis nana* и *Trichinella spiralis*. Было испытано четыре варианта препарата, отличавшихся количественным содержанием действующих веществ. Испытав все четыре варианта никломека при гименолипедозе мышей, установили, что лучшие результаты были получены в 1-й группе, ИЭ в которой составила 95,24%. Субстанция никлозамида в испытанной дозе проявила только 40,47% ИЭ. То есть она в дозе 20 мг/кг оказалась не эффективна при гименолипедозе, никломок, состоящий из комплекса никлозамида, ивермектина и ПВП в этой же дозе оказался высокоэффективен при цестодозе. Следует отметить, что испытанная доза (20 мг/кг) в 5 раз меньше, чем общепринятая терапевтическая доза никлозамида. Эти же четыре композиции

препарата никломек были испытаны при трихинеллезе мышей. Доза по ивермектину была занижена в 5 раз по отношению к общепринятой. Как и в первых опытах, субстанция (в данном случае – ивермектин) оказалась не эффективна (ИЭ 23,79%). Лучшая интенсэффективность была получена в первой группе (67,04%), следовательно, как и в первом опыте вариант никломека под номером 1 проявил лучшую эффективность из всех четырех исследованных вариантов. Эта серия экспериментов позволила не только отобрать лучший по составу препарат, но и наглядно продемонстрировать, что препарат в дозе в 5 раз ниже общепринятых по ивермектину и в 10 раз ниже по никлозамиду эффективен при гименолипедозе и трихинеллезе мышей. Определив лучший по эффективности состав никломека, были изучены его фармако-токсикологические свойства, так как известно, что в некоторых случаях с повышением биодоступности препарата может возрастать и его токсическое воздействие на организм животного. Исходя из этого, была изучена острая токсичность двух рецептур никломека, лучших по результатам лабораторных исследований (варианты № 2 и 1). В результате исследований установлено, что никломек (оба исследованных образца) оказался менее токсичен, чем никлозамид и значительно – в два раза (вариант № 1 – в 1,97, а вариант № 2 в 2,3 раза) менее токсичен, чем исходная субстанция – ивермектин. Этот эксперимент еще раз подтвердил, что, используя механохимическую технологию, возможно создавать антипаразитарные комплексы не только с большей эффективностью, но и с меньшей токсичностью, чем у исходных фармацевтических субстанций. Изучение фармако-токсикологических свойств проели на препарате никломек вариант № 1. LD₅₀ для мышей при введении в желудок составляет 12,7 г/кг. В соответствии с ГОСТ 12. 1007-76 препарат относится к 4 классу опасности. Исследовав хроническую токсичность никломека, установили, что его введение в дозах 1/10 от LD₅₀ и 1/100 от LD₅₀ не приводит к статистически значимым изменениям со стороны мочевыделительной системы крыс. Не приводит к изменениям со стороны их органов кроветворения, а также к изменениям показателей, характеризующих состояние ЦНС и работоспособности. Препарат не влияет на

массовые коэффициенты внутренних органов у животных опытных групп и не оказывает повреждающего действия на гепатобилиарную систему. Изучив раздражающее действие никломека, выяснили, что он не обладает раздражающим действием на кожу. Убедившись в безвредности препарата никломек, приступили к его испытанию на целевом виде животных – овцах.

Эффективность антигельминтного действия никломека была изучена на двух его препаративных формах – суспензии и порошке, а также в сравнении с субстанцией ивермектин и с зарегистрированным лекарственным препаратом альвет 10% (суспензия).

Обе лекарственные формы никломека проявили высокую антигельминтную эффективность и показали почти одинаковый результат. ИЭ суспензии при стронгилятозах пищеварительного тракта овец интенсэффективность порошка составила от 94,3 до 98,36%, а суспензии от 94,4 до 98,31%. При мониезиозе интенсэффективность порошка составила 97 -100%, суспензии – 97,92-100%. Никломек в форме 20% суспензии показал интенсэффективность: при нематодирозе 97%, при трихоцефалезе – 87,5%, при мониезиозе – 100%. При сравнительном испытании никломека (вариант № 1) и субстанции ивермектин (в дозе 0,05 мг/кг) были получены следующие результаты. При нематодирозе никломек показал ИЭ – 87,4%, при других стронгилятозах – 94,4%, тогда как ивермектин в этой же дозе оказался совсем не эффективен (ИЭ 25,9 и 12,9%). В эксперименте сравнения эффективности никломека с известным препаратом альвет (суспензия) никломек полностью освободил животных от стронгилят пищеварительного тракта, диктиокаул, мониезий и нематодир. В то время как препарат сравнения альвет в этом опыте показал низкую эффективность при стронгилятозах (58,5%) и диктиокаулезе (16,7%), но оказался высокоэффективен (100%) при мониезиозе и нематодирозе.

Проведя этот комплекс исследований, еще раз подтвердили универсальность механохимической технологии модификации свойств лекарственных веществ при их совместной обработке в измельчителях – активаторах с регулируемой энергонапряженностью. Высокая эффективность и

безопасность супрамолекулярного комплекса никломек подтверждена на лабораторных моделях и в производственных условиях на овцах.

С целью изыскания высокоэффективного лекарственного препарата для борьбы с паразитами овец проведены исследования комбинации ивермектин – празиквантел. В рамках выполнения научно-исследовательской работы на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук, был разработан новый лекарственный препарат монизен в виде суспензии. Этот ветеринарный препарат внедрен в производство и успешно используется не только в России, но и в зарубежных странах. Однако, суспензия, как лекарственная форма, имеет ряд недостатков, в частности, она подразумевает только индивидуальную обработку животных, а в ряде овцеводческих хозяйств и даже стран, в частности в Монголии, овец обрабатывают против паразитозов только с помощью инъекционных препаратов. Мы неоднократно получали просьбы от практикующих ветеринарных врачей разработать лекарственный препарат в виде раствора, содержащего празиквантел и ивермектин, как для парентерального применения, так и для групповой обработки скота пероральным способом. Откликаясь на просьбы практикующих ветеринарных врачей, был разработан лекарственный препарат монизен форте.

Изучение фармако-токсикологических свойств монизена форте показало, что препарат относится к 3 классу опасности – умеренно токсичные соединения, обладает выраженной кумуляцией. Это необходимо учитывать при подборе кратности и курса введения препарата. Параметры субхронической токсичности монизен форте свидетельствуют, что после длительного его введения крысам отмечаются изменения клинической картины крови. На протяжении эксперимента фиксировалось достоверное снижение динамики среднесуточного прироста массы тела и увеличение коэффициента массы печени у животных опытных групп. Эти данные необходимо учитывать при назначении монизен форте целевым животным, и не допускать кратного введения препарата в течение длительного времени. Монизен форте обладает слабой степенью ответной реакции на

раздражение у кроликов, не обладает алергизирующими и иммунотоксическими свойствами.

Исследуя переносимость монизен форте овцами при его подкожном введении в терапевтических и повышенных дозах, установили, что препарат при ежедневных однократных введениях, в течение 7 суток обладает гепатотоксическим и нефротоксическим действием. Это также необходимо учитывать при назначении монизен форте целевым животным, и не допускать многократного введения препарата в течение нескольких дней подряд.

При введении монизена форте мелкому рогатому скоту, безусловно, его действующие вещества некоторое время циркулируют в органах и тканях животных, а у молочных коз выделяются с молоком. Зная это, провели изучение фармакокинетики и динамики выведения ивермектина и празиквантела из организма овец, а также динамики их выведения с молоком у коз после применения препарата. Установлена максимальная концентрация ивермектина в сыворотке крови через 2 суток, празиквантела - через 4 часа после применения препарата. Максимальные концентрации ивермектина в молоке коз были отмечены через 4 суток после второго применения. Празиквантел в молоке коз не был обнаружен. Через 30 суток после введения препарата не было обнаружено празиквантела ни в одной из исследованных проб органов и тканей овец. Ивермектин был обнаружен в печени, в мышечной ткани (в месте инъекции), в сальниковом и околопочечном жире. Через 35 суток после применения монизена форте не было обнаружено остаточных количеств ивермектина и празиквантела ни в одной из исследованных проб. Соответственно мясо и органы овец, обработанных препаратом монизен форте, можно употреблять в пищу не ранее чем через 35 дней после последнего введения препарата.

В следующей серии исследований была изучена эффективность монизена форте при паразитозах мелкого рогатого скота.

Первоначально провели изучение эффективности препарата при его пероральном применении. Сравнительное испытание эффективности монизен

форте и серийно выпускающегося лекарственного препарата альвет (суспензия 10%) при индивидуальном применении показало, что монизен форте высокоэффективен (100%) при стронгилятозах пищеварительного тракта, диктиокаулезе, нематодирозе и мониезиозе. Препарат сравнения альвет показал эффективность при стронгилятозах (58,5%), диктиокаулезе (16,7%), при мониезиозе и нематодирозе альвет полностью освободил овец от гельминтов.

Групповой способ обработки животных монизеном форте также оказался эффективным. В ходе этого опыта была разработана методика приготовления кормолекарственной смеси на основе монизена форте для ее скармливания овцам групповым способом. Проведенные исследования применения препарата монизен форте перорально показали, что его можно с успехом применять как индивидуально, так и групповым способом. При индивидуальном применении препарата в дозе 1 мл/20 кг веса животного монизен форте показал 100%-ную эффективность при стронгилятозах пищеварительного тракта, мониезиозе, диктиокаулезе и нематодирозе. При групповом способе применения в дозе 1,25 мл/20 кг однократно при дикроцелиозе препарат показал ЭЭ 80%, а при мониезиозе, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта, трихоцефалезе и диктиокаулезе он полностью освободил овец от этих гельминтов (ЭЭ 100%). Двукратное применение препарата в этой же дозе с интервалом в 14 суток позволяет полностью избавить овец от мелофагоза и бовиколеза.

Эффективность монизена форте при парентеральном применении определяли в Курской, Рязанской и Калининградской областях. Установили, что доза 1 мл/20 кг введенная однократно подкожно высокоэффективна (100%) при мониезиозе, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта, мелофагозе и бовиколезе, препарат также проявил акарицидное воздействие на иксодовых клещей. При хабертиозе, эзофагостомозе, остертагиозе и нематодирозе препарат показал 90 % экстенсэффективность, при мониезиозе – 96 %. Однократное внутримышечное введение монизена форте в дозе 1 мл на 15 кг массы животного оказалось эффективно при трематодозах.

Интенсэффективность препарата при фасциолезе и дикроцелиозе составила 98,2%, а экстенсэффективность при дикроцелиозе – 55,5%, при фасциолезе – 71,4%. При стронгилятозах пищеварительного канала его интенсэффективность составила 97,8%. При мониезиозе препарат показал экстенсэффективность 85,7%. Способ введения монизена форте подкожно более предпочтителен, чем введение его внутримышечно, так как он показал лучшие результаты при нематодозах и мониезиозе. Подводя итог этой серии экспериментов, стоит отметить, что при индивидуальном пероральном применении монизен форте высокоэффективен (100%) при стронгилятозах пищеварительного тракта, диктиокаулезе, нематодирозе и мониезиозе. При групповом способе применения он также проявил экстенсэффективность 100% при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта, трихоцефалезе, диктиокаулезе и мониезиозе, а при дикроцелиозе показал экстенсэффективность 80%. Применение препарата двукратно с интервалом в 14 суток позволяет вылечить овец от мелофагоза и бовиколеза.

При парентеральном введении препарата при мониезиозе достигается 96–100% экстенсэффективность, стронгилятозах пищеварительного тракта и диктиокаулезе –90 – 100%. Препарат также высокоэффективен при мелофагозе и бовиколезе, иксодидозе, обладает трематоцидным действием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что иверсан при двукратном применении овцам в терапевтической и 3-кратной терапевтической дозах не оказывает побочного действия. Максимальная концентрация ивермектина в сыворотке крови наблюдается через 24 часа, в молоке через 2 суток после введения препарата. Убой овец на мясо допускается через 28 суток после дегельминтизации.

2. Иверсан высокоэффективен при индивидуальном и групповом применении овцам при диктиокаулезе, трихоцефалезе, ларвальных и имагинальных формах стронгилятозов желудочно-кишечного тракта и стронгилоидоза, а также против, возбудителя эстроза. При двукратном применении с интервалом в 14 суток высокоэффективен при псороптозе, мелофагозе, бовиколезе.

3. Разработана технология получения парентеральной имплантируемой системы пролонгированного действия с включением в лекарственную форму сополимеров молочной и гликолевой кислот, обеспечивающих длительное высвобождение действующего вещества и поддержание его терапевтических концентраций в организме овец.

4. Установлен оптимальный состав препарата иверлонг 1: 50 мг/мл ивермектина, вспомогательные компоненты - PLGA, N-метилпирролидон, триацетин.

5. Разработана схема применения иверлонга 1 для профилактики желудочно-кишечных стронгилятозов и диктиокаулеза, а также предотвращения контаминации пастбищ инвазионным началом. Рекомендовано применение иверлонга 1 овцам в дозе 1мг/кг (по ивермектину) в течение пастбищного сезона дважды с интервалом в 2,5-3 месяца, что обеспечивает освобождение животных от нематодозов и защиту их от повторного заражения в течение всего пастбищного периода.

6. Установлен оптимальный состав препарата иверлонг 2: ивермектин - 5 мг/мл, празиквантел 61 мг/мл, вспомогательные вещества PLGA и N-метилпирролидон.

7. Установлено, что иверлонг 2 при однократном введении в желудок является умеренно токсичным соединением. В соответствии с ГОСТ 12. 1007-76 препарат относится к 3 классу опасности. Иверлонг 2 не обладает местно-раздражающим, аллергизирующим, иммунотоксическим действием. Максимальная концентрация ивермектина в сыворотке крови установлена через 48 часов, минимальная - через 30 суток. Максимальная концентрация празиквантела определена через 4 часа, минимальная - через 7-10 суток.

8. Однократное введение иверлонга 2 в дозе 1,5 мл/10 кг позволяет освободить овец от стронгилят, нематодирусов, трихоцефал и мониезий, а также профилактировать заражение ягнят нематодозами на протяжении двух месяцев.

9. Разработан супрамолекулярный комплекс никломек с помощью механохимической технологии. Определен оптимальный состав препарата никломек: никлозамид 10 мг/мл, ивермектин 0,05 мг/мл, ПВП 89,95 мг/мл.

10. Установлено, что никломек при однократном введении в желудок является малотоксичным соединением. В соответствии с ГОСТ 12. 1007-76 препарат относится к 4 классу опасности. Никломек не обладает местно-раздражающим действием.

11. Определена эффективная терапевтическая доза никломека 1 мл/кг (0,05 мг/кг по ивермектину, 10 мг/кг по никлозамиду) при стронгилятозах пищеварительного тракта, нематодирозе, трихоцефалезе, мониезиозе.

12. Разработан лекарственный препарат монизен форте для парентерального и орального введения. Монизен форте относится к 3 классу опасности - умеренно токсичные соединения. Препарат обладает выраженной кумуляцией, не обладает местно-раздражающим, аллергизирующим, иммунотоксическим действием на организм животных. Максимальная концентрация ивермектина в сыворотке крови определена через 2 суток, празиквантела - через 4 часа после применения препарата. Максимальные концентрации ивермектина в молоке коз были отмечены через 4 суток после второго применения. Празиквантел в молоке коз не был обнаружен. Убой овец на мясо допускается через 35 суток после дегельминтизации.

13. При индивидуальном, групповом применении перорально, а также парентерально в дозе 1 мл/20 кг однократно монизен форте высокоэффективен при стронгилятозах пищеварительного тракта, диктиокаулезе и нематодирозе, мониезиозе, иксодидозе. Препарат высокоэффективен при мелофагозе и бовиколезе при двукратном применении в этой же дозе с интервалом в 14 суток.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В работе предложены теоретические и практические подходы к созданию новых противопаразитарных препаратов, которые можно с успехом использовать для дальнейших разработок. В частности, приведены результаты исследований эффективности нового лекарственного препарата иверсан при паразитозах овец, разработана инструкция по его применению мелкому рогатому скоту. Препарат иверсан внедрен в производство, выпускается в промышленных масштабах. Активно применяется ветеринарной службой Южного Федерального Округа РФ для борьбы с паразитами овец. При масштабном применении этого препарата возможно появление результатов, позволяющих расширить его спектр действия. Так, получен запрос от животноводов Таджикистана и Узбекистана на разработку схемы применения иверсана верблюдам. Есть запрос от практических ветеринарных врачей о разработке схем применения иверсана групповым способом для лошадей и крупного рогатого скота. Впервые разработаны методические подходы к созданию противопаразитарных препаратов пролонгированного типа, иверлонг 1 и иверлонг 2. Эти подходы в ветеринарной паразитологии применены впервые и имеют большие перспективы развития для создания других лекарственных препаратов пролонгированного действия. Увеличение длительности противопаразитарного действия ивермектина в препарате иверлонг 1 до 2,5 месяцев позволяет осуществлять длительную защиту овец от паразитозов при ведении отгонного овцеводства и рекомендуется для дальнейшего изучения и внедрения в производство. Внедрение в широкую ветеринарную практику иверлонга будет способствовать разработке новых схем борьбы с паразитами овец. Не менее интересен и перспективен для дальнейшего изучения и внедрения в производство антипаразитарный комплекс никломек, обладающий не только большей эффективностью, но и меньшей токсичностью, чем у исходных фармацевтических субстанций. Подобранные оптимальное сочетание действующих и вспомогательных веществ в этом препарате позволит наладить его промышленное производство и успешно включить его в схемы борьбы с гельминтозами овец. Разработанные две лекарственные формы

антипаразитарного препарата широкого спектра действия монизен форте зарегистрированы Россельхознадзором РФ в установленном порядке, выпускаются промышленным способом, применяются не только в России, но и за рубежом. Особенно ценно то, что препарат имеет уникально широкий спектр действия при паразитозах овец и позволяет успешно лечить и профилактировать большинство гельминтозов и арахноэнтомозов мелкого рогатого скота, встречающихся в России и странах ближнего зарубежья. Несомненно, необходимо более тщательное изучение его эффективности при ряде гельминтозов овец, перспективны также разработки новых схем его применения при паразитозах не затронутых в работе. Широкое внедрение в ветеринарную практику этого лекарственного препарата позволит существенно повысить эффективность противопаразитарных обработок животных. Полученные результаты исследований позволяют существенно расширить арсенал средств борьбы с паразитами овец. Основные научные положения работы и полученные практические результаты также рекомендуется использовать ветеринарным специалистам при планировании и проведении противопаразитарных мероприятий, а также в учебном процессе студентам и слушателям курсов повышения квалификации в ветеринарных вузах и на ветеринарных факультетах.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Некоторые аспекты направленного транспорта лекарств в организме с помощью полимерных наночастиц / К.С. Абрамов, И.Н. Скидан, А.Е. Гуляев [и др.] // Клинические исследования лекарственных средств в России. — 2001. — № 2. — С. 18–2
2. Абрамова Е.В. Антигельминтная активность, фармакокинетика и токсикологическая характеристика инъекционного препарата на основе сульфоксида альбендазола : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.02.11 ; 06.02.03 / Абрамова Елена Владиславовна ; Всерос. науч.-исслед. ин-т фундамент. и прикл. паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина. — Москва, 2016. — 25 с. : ил.
3. Авдиенко А.Н. Сравнительная ангельминтная и экономическая эффективность лекарственных форм фенасала при мониезиозе овец : дис. канд. ... вет. наук : 03.00.20 / Авдиенко Анатолий Николаевич ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 1992. — 125 с.
4. Акбаев М.Ш. Мониезиозы овец: (патогенез, вопросы биологии, эпизоотологии и разработка лечебно-профилактических мероприятий) : дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.29 / Акбаев Магомед Шогайбович ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 1986. — 421 с.
5. Паразитология и инвазионные болезни животных : учебник для студентов высш. учеб. заведений / под ред. М. Ш. Акбаева. — 3-е изд., перераб. и доп. — Москва : Колос, 2008. — 775, [1] с. : ил., [8] л. цв. ил. — (Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений).
6. Акильжанов Р.Р. Эффективность ивомека при буностомозе и эймериозе овец // Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. Ленингр. вет. ин-та. — 1991. — Вып. 119. — С. 6–8.
7. Алексеев Е. А. Борьба с псороптозом крупного рогатого скота // Ветеринария. — 1988. — № 5. — С. 36–38.
8. Алюшин М.Т. Силиконы в фармации / М.Т. Алюшин. — Москва : Медицина, 1970. — 120 с.

9. Андриевский Р.А. Наноматериалы: концепция и современные проблемы // Российский химический журнал. — 2002. — Т. 46, № 5. — С. 50–56.
10. Апалькин В.А. Макроциклические лактоны при паразитозах крупного рогатого скота // Проблемы адаптации сельскохозяйственных животных в Сибири / Рос. акад. с.-х. наук, Сиб. отд-ние ; под ред. П.Н. Смирнова. — Новосибирск, 1995. — С. 241–243.
11. Арестов И.Г. Эквалан – высокоэффективное средство при стронгилятозах лошадей / И.Г. Арестов, Н.Ф. Карасев, В.М. Золотов // Ветеринарная наука – производству : межведомств. сб. / Зап. регион. отд-ние Всерос. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Белорус. НИИ эксперим. ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. — Минск : Ураджай, 1991. — Вып. 29. — С. 118–119.
12. Архипов И.А. Пролонгированное действие ивомека против микроонхоцеркоза крупного рогатого скота // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1987. — Вып. 47. — С. 5–8.
13. Архипов И.А. Изучение эффективных средств против онхоцеркоза крупного рогатого скота // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1989. — Вып. 51. — С. 15–19.
14. Архипов И.А. Эффективность ивомека-ф при гельминтозах крупного рогатого скота / И.А. Архипов, Д.Р. Архипова // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1990. — Вып. 54. — С. 3–8.
15. Архипов И.А. Эффективность кожного применения ивомека против нематод и эктопаразитов крупного рогатого скота // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1992. — Т. 31. — С. 10–15.
16. Архипов И.А. Эффективность ивомека при нематодозах крупного рогатого скота // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина — 1992. — Т. 31. — С. 3–9.
17. Архипов И.А. Препараты для терапии смешанных паразитарных заболеваний жвачных животных // Ассоциативные паразитарные болезни, проблемы экологии и терапии : материалы докл. науч. конф., Москва, 5–6 дек. 1995 г. / Рос. акад. наук [и др.]. — Москва : [б. и.], 1995. — С. 12–13.

18. Архипов И.А. Новые отечественные антгельминтики при гельминтозах животных // Ветеринария. — 1998. — № 11. — С. 29–31.
19. Архипов И.А. Антгельминтики / И.А. Архипов, А.Б. Шакиров, Б.К. Касымбеков. — Бишкек : [б. и.], 1998. — 41 с.
20. Архипов И.А. Эффективность противопаразитарных мероприятий // Ветеринария. — 1999. — № 3. — С. 26–27.
21. Архипов И.А. Особенности применения и дозирования антгельминтиков на разных видах животных // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 2002. — Т. 38. — С. 19–36
22. Архипов И. А. Применение полусинтетических и минеральных поверхностно-активных веществ при пролонгации антигельминтных препаратов // Труды Всероссийского научно-исследовательского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 2003. — Т. 39. — С. 21.
23. Архипов И.А. Антигельминтики: фармакология и применение / И.А. Архипов. — Москва : [б. и.], 2009. — 405 с. : ил.
24. Антигельминтная эффективность вигисокса при гельминтозах овец / И.А. Архипов, А.В. Радионов, Е.Е. Белова [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2010. — №4. — С. 89–92.
25. Цестодоцидная активность супрамолекулярных комплексов с альбендазолом на овцах / И.А. Архипов, К.М. Садов, В.А. Долгошев [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2015. — № 16. — С. 18–20.
26. Применение нано- и механохимической технологии и адресной доставки для разработки инновационных антигельминтных препаратов / И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2016. — № 17. — С. 30–35.
27. Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов. Получение и свойства / И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин [и др.]. — Москва : Новые авторы, 2017. — 90 с. : ил.
28. Влияние механохимической технологии на антигельминтную эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с экстрактом солодки /

- И.А. Архипов, А.И. Варламова, С.С. Халиков [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2020. — Т. 14, № 1. — С. 70–74.
29. Влияние механохимической технологии на антигельминтную эффективность твердой дисперсии альбендазола / И.А. Архипов, А.В. Душкин, С.С. Халиков [и др.] // Биофармацевтический журнал. — 2021. — Т. 13, № 2. — С. 36–41.
30. Испытание дронцита при бовисном цистицеркозе / Н.С. Архипова, М.Н. Белоусов, И.А. Нисенбаум [и др.] // Морфология гельминтов, эпизоология и профилактика гельминтозов. — Москва, 1983. — С. 3–13. — (Труды Всесоюзного института гельминтологии ; т. 26).
31. Терапия овец при ценурозе празиквантелом / Н.С. Архипова, А.С. Бессонов, Е.И. Малахова [и др.] // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1986. — Вып. 43. — С. 13–16.
32. Стронгилятозы жвачных Дагестана / А.М. Атаев, К.Б. Махмудов, О.А. Магомедов [и др.] // Ветеринария. — 2007. — № 7. — С. 35–39.
33. Атаев А.М. Концепция борьбы с гельминтозами жвачных в Дагестане / А.М. Атаев, М.Г. Газимагомедов, М.М. Зубаирова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы докл. науч. конф., Москва, 17–19 мая 2011 г. / Рос. акад. с.-х. наук [и др.] ; сост. К. Г. Курочкина. — Москва : «Типография» Россельхозакадемии, 2011. — Вып. 12. — С. 35–41.
34. Экспериментальное изучение нового антгельминтика йомезана и его комбинации с акрихином / Д.Г. Баяндина, А.Ф. Бехли, М.Б. Брауде [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1962. — Т. 31, № 6. — С. 673–677.
35. Эффективность новых методов терапии гименолепидоза / Д.Г. Баяндина, Э.Б. Медуницкая, М.Е. Маневич, К.И. Смирнова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1966. — Т. 35, № 4. — С. 412–413.
36. Баяндина Д.Г. Новый зарубежный антгельминтик широкого спектра действия празиквантел: (обзор лит.) / Д.Г. Баяндина, А.И. Кротов, А.И. Черняева // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1981. — Т. 50, № 5. — С. 62–70.

37. Бекиров Р.Э. К химиотерапии цестодозов плотоядных // Профилактика гельминтозов сельскохозяйственных животных в зонах отгонного животноводства и мелиорации земель : тез. докл. науч.-практ. конф., Джембул, 29 сент. – 1 окт. 1986. — Москва : [б. и.], 1986. — С. 19.
38. Березкина С.В. Опыт применения ивомека при паразитарных болезнях овец // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1992. — Т. 31. — С. 22–30.
39. Лечение телят, зараженных бовисными цистицерками / А.С. Бессонов, А. В. Успенский, Ю.Б. Комаров [и др.] // Ветеринария. — 1980. — № 3. — С. 40–42.
40. Видовой состав гельминтов овец ставропольской и северокавказской пород в регионе Северного Кавказа / А.М. Биттиров, А.И. Тохаева, Л.А. Мидова, А.А. Биттирова // Ветеринария. — 2015. — № 5. — С. 30–32.
41. Богуш А.А. Саркоптоз свиней и оценка качества мяса / А.А. Богуш, Н.А. Урбанович, С.А. Лукьянчик // Ветеринария. — 1991. — № 1. — С. 39–42.
42. Болдырев В.В. Механохимия и механическая активация твердых веществ // Успехи химии. — 2006. — Т. 75, № 3. — С. 203–216.
43. Новые полимерные системы для контролируемого высвобождения дипиридамола и индометацина на основе поли-3-гидроксibuтирата / А.П. Бонарцев, Г.А. Бонарцева, Т.К. Махина [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42, № 6. — С. 710–715.
44. Поли-3-оксибутират и биополимерные системы на его основе / А.П. Бонарцев, Г.А. Бонарцева, К.В. Шайтан, М.П. Кирпичников // Биомедицинская химия. — 2011. — Т. 57, № 4. — С. 374–391.
45. Бонина О. М. Экологическая оценка некоторых антгельминтиков / О.М. Бонина, Е.А. Ефремова // Паразиты и паразитарные болезни в Западной Сибири : первая науч. конф. Новосиб. отд-ния Паразитол. о-ва Рос. акад. наук, Новосибирск, 16 янв. 1996 г. : сб. тез. конф. — Новосибирск, 1996. — С. 13–14.
46. Бронштейн А.М. Празиквантел и другие современные препараты и методы химиотерапии трематодозов печени человека : (описторхоз, клонорхоз) //

Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1984. — № 2. — С. 51–56.

47. Бубашвили М.О. Испытание антгельминтиков при эхинококкозе собак / М.О. Бубашвили, Г.И. Годердзешвили // V Закавказская конференция по паразитологии, Ереван, 18–20 мая 1987 г. : тез. докл. / Акад. наук Арм. ССР, Ин-т зоологии [и др.]. — Ереван : Изд-во Акад. наук Арм. ССР, 1987. — С. 180–181.

48. Букштынов В.И. Эффективность анометрина, неопинамина, циперметрина, фоксима, фозалона, белофоса и ивомека против личинок полостного овода овец // Вопросы ветеринарной токсикологии, энтомологии и дератизации / Всесоюз. науч.-исслед. ин-т вет. санитарии ; ред. В.С. Ярных. — Москва, 1987. — С. 94–97.

49. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон; пер. с англ. Е. Н. Живописцевой ; под ред. А. С. Батуева. — Москва : Высшая школа, 1991. — 398, [1] с. : ил.

50. Эффективность лекарственной формы фенбендазола, полученной на основе нанотехнологии и адресной доставки Drug Delivery System при гельминтозах / А.И. Варламова, И.А. Архипов, И.М. Одоевская [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2014. — № 4. — С. 43–44.

51. Эффективность комбинированного препарата на основе никлозамида против аноплицефалят разных видов и разного возраста / А.И. Варламова, И.А. Архипов, Е.Е. Белова [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2014. — № 4. — С. 79–83.

52. Острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с использованием адресной доставки Drug Delivery System / А.И. Варламова, И.А. Архипов, Н.В. Данилевская, В.Н. Скира // Российский паразитологический журнал. — 2015. — № 2. — С. 92–96.

53. Эффективность супрамолекулярных комплексов антигельминтиков при желудочно-кишечных стронгилятозах овец в производственных условиях /

- А.И. Варламова, В.А. Долгошев, К.М. Садов [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2015. — № 1. — С. 71–74.
54. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец / А.И. Варламова, Ю.В. Лимова, К.М. Садов [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2016. — № 1. — С. 76–81.
55. Варламова А.И. Спектр антигельминтной активности супрамолекулярного комплекса фенбендазола с арабиногалактаном / А.И. Варламова, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. — 2017. — № 1. — С. 78–83.
56. Испытание супрамолекулярных комплексов фенбендазола на лабораторной модели *Trichinella spiralis* / А.И. Варламова, И.А. Архипов, И.М. Одоевская [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2017. — № 18. — С. 90–92.
57. Повышение эффективности празиквантела на основе механической технологии и супрамолекулярной системы адресной доставки при цестодозах / А.И. Варламова, И.А. Архипов, С.С. Халиков [и др.]. — DOI 10.30906/0023-1134-2020-54-10-60-64 // Химико-фармацевтический журнал. — 2020. — Т. 54, № 10. — С. 60–64.
58. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против нематод при комиссионном производственном испытании / А.И. Варламова, И.А. Архипов, К.М. Садов, С.С. Халиков. — DOI 10.31016/1998-8435-2020-14-2-93-97 // Российский паразитологический журнал. — 2020. — Т. 14, № 2. — С. 93–97.
59. Варламова А.И. Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки / А.И. Варламова, И.А. Архипов. — DOI 10.31016/1998-8435-2020-14-2-83-87 // Российский паразитологический журнал. — 2020. — Т. 14, № 2. — С. 83–87.
60. Верещагина Л.А. Фармако-токсикологическая оценка препарата на основе мебендазола и празиквантела для дегельминтации собак : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 16.00.04 / Верещагина Любовь Алексеевна ; Всерос. гос. центр

качества и стандартизации лекарств. средств для животных и кормов. — Москва, 2007. — 21 с.

61. Веселова Т.П. К вопросу сравнительной токсичности антгельминтиков // Материалы к научным конференциям Всесоюзного общества гельминтологов : нояб. – дек. 1964 г. В 2 ч. Ч. 1 / Акад. наук СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1964. — С. 58–61.

62. Веселова Т.П. Современные аспекты изучения токсичности антигельминтиков // Материалы Второй Закавказской конференции по паразитологии, Ереван, 28–30 нояб. 1981 г. / Ин-т зоологии Акад. наук Арм. ССР [и др.]. — Ереван : Изд-во Акад. наук Арм. ССР, 1981. — С. 64–66.

63. Вибе П.П. Опыт определения экономического ущерба от эхинококкоза в Семипалатинской области // Труды научно-исследовательского ветеринарного института / Каз. акад. с.-х. наук. — 1961. — Т. 10. — С. 649–674.

64. Вибе П.П. Испытание эффективности фенасала и гексахлорофена на авителлин и тизаниезий / П.П. Вибе, Т.Д. Султанкулов, Н.С. Мозалев // Сборник работ по гельминтологии : посвящ. 90-летию со дня рождения акад. К.И. Скрябина / Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Всесоюз. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва : Колос, 1971. — С. 80–83.

65. Вибе П.П. Испытание фенасала, оксида, битионола и битиразина при авителлинозе и тизаниезиозе овец / П.П. Вибе, Т.Д. Султанкулов, В.С. Петров // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. — 1972. — Вып. 9. — С. 18–19.

66. Водянов А.А. Морфология, биология и лабораторная диагностика возбудителей инвазионных болезней животных : учеб.-метод. пособие. В 3 ч. / А.А. Водянов, С.Н. Луцук, В.П. Толоконников ; Ставроп. гос. аграр. ун-т. — Ставрополь : АГРУС, 2009. — Ч. 2 : Ветеринарная арахноэнтомология. — 83 с. : ил..

67. Волков Ф.А. Эффективность ивомека при диктиокаулезе телят / Ф.А. Волков, В.С. Козяков // Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с инфекционными болезнями животных : сб. науч. тр. / Рос. акад. с.-х. наук, Сиб.

- отд-ние [и др.] ; отв. ред. С.И. Джупина. —Новосибирск : СО РАСХН, 1992. — С. 90–94.
68. Волков Ф.А. Экологическая безопасность применения ивомека в свиноводческих хозяйствах // Ветеринария. — 1993. — № 7. — С. 35–36.
69. Волков Ф.А. Экологическая безопасность и эффективность ивомека при смешанных инвазиях свиней // Актуальные проблемы ветеринарии : материалы Междунар. конф., Барнаул, 26–30 июня 1995 г. / Алт. гос. аграр. ун-т. — Барнаул, 1995. — С. 128.
70. Волков Ф.А. Эффективность препаратов группы макроциклических лактонов при нематодозах свиней // Паразиты и паразитарные болезни в Западной Сибири : первая науч. конф. Новосиб. отд-ния Паразитол. о-ва Рос. акад. наук, Новосибирск, 16 янв. 1996 г. : сб. тез. конф. — Новосибирск, 1996. — С. 21–22.
71. Волкова И.Б. Перспективные лекарственные формы антимикробных средств в ветеринарии // Разработка и применение антибиотиков немедицинского назначения : тез. докл. Всесоюз. конф., Москва, 9–10 дек. 1987 г. / М-во мед. и микробиол. пром-сти СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1987. — С. 27–28.
72. Вышемирский И.П. Дегельминтизация фенасалом при анопцефалезах овец / И.П. Вышемирский, Р.Я. Бутылин // Ветеринария. — 1970. — № 8. — С. 66–67.
73. Вышемирский И.П. Анопцефалезы овец в южной Киргизии: вопросы эпизоотологии, патоморфологии и меры борьбы :автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.20 / Вышемирский Иван Прокофьевич ; Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Всесоюз. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Фрунзе, 1974. — 21 с.
74. Гаджиев И.М. Экономическая эффективность применения эквалана при желудочно-кишечных нематодозах и гастрофилезе лошадей // Профилактика гельминтозов животных : [сб. ст.] / Рос. акад. с.-х. наук, Сиб. отд-ние. — Новосибирск, 1991. — С. 24–26. — (Научно-технический бюллетень ; вып. 2).
75. Галиева Ч.Р. Иммуитет лошадей при параскаридозно-стронгилятозной инвазии / Ч.Р. Галиева, В.З. Галимова // Современные достижения ветеринарной

медицины и биологии – в сельскохозяйственное производство : материалы Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию со дня рождения Хамита Валеевича Аюповай, 60-летию кафедры паразитологии, микробиологии и вирусологии Башкирского ГАУ, 20–21 февр. 2009 г. / М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации [и др.]. — Уфа : Башк. ГАУ, 2009. — С. 35–36.

76. Гапон Н.М. Аноплоцефалытозы крупного рогатого скота в Среднем Прииртышье : (виды возбудителей и возрастная динамика) // Научные труды Омского ветеринарного института. — 1971. — Т. 28. Вып. 2. — С. 102–109.

77. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень): Гигиенические нормативы 1.2.3539-18: утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 10 мая 2018 года № 33 // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. — 2019. — № 3 (77). — С. 7—103.

78. Экспериментальные данные о переносимости и влиянии на антитоксическую функцию печени некоторых антигельминтиков / В.Ф. Гладких, Х.И. Сейфулла, М.Н. Лебедева, Э.В. Сазанова // Материалы к научным конференциям Всесоюзного общества гельминтологов, 09–12 дек. 1963 г. В 2 ч. Ч. 1 / Акад. наук СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1963. — С. 71–73.

79. Антигельминтная эффективность лекарственных форм альбендазола, полученных по механохимической технологии и с использованием адресной доставки Drug Delivery System на лабораторной модели / И.И. Гламаздин, И.А. Архипов, И.М. Одоевская [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2013. — № 3. — С. 92–95.

80. Эффективность новых лекарственных форм альбендазола при гельминтозах овец / И.И. Гламаздин, И.А. Архипов, О.П. Курносова [и др.] // Ветеринария. — 2014. — № 5. — С. 35–37.

81. Головкина Л.П. Эффективность аверсекта-2 (фармацина) при паразитозе овец // Ветеринарный вестник (Барнаул). — 1995. — № 2 (8). — С. 2–3.

82. Липосомы в биологических системах / под ред. Г. Грегориадиса, А. Аллисона; пер. с англ. М.Я. Варшавской, А.Л. Клибанова. — Москва : Медицина, 1983. — 384 с. : ил.
83. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : межгосударственный стандарт : утвержден и введен в действие Постановлением Гос. ком. СССР по стандартам от 10 марта 1976 г. № 579 : введен впервые : дата введения 1977-01-01 / разработан и внесен Мин-вом хим. пром-сти. — Москва : Стандартиформ, 2017. — 7 с.
84. ГОСТ 54627-2011. Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов : национальный стандарт Российской Федерации : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 декабря 2011 г. № 774-ст : введен впервые : дата введения 2013-01-01 / разработан Гос. науч. учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина» Рос. акад. с.-х. наук (ГНУ «ВИГИС» Россельхозакадемии). — Москва : Стандартиформ, 2013. — 16 с
85. ГОСТ ISO10993-10-2011. Межгосударственный стандарт. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследования раздражающего и сенсибилизирующего действия : внесен Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации : дата введения 2013-01-01 / подготовлен Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении» // Кодекс : информ. компания. — 2021. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200097629> (дата обращения: 04.12.2021).
86. Гюльгазли Г.С. Испытание бунамидина оксинафтоата и дронцита при кишечных цестодозах собак // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. — 1977. — Вып. 20. — С. 9–12.

87. Даугалиева Э.Х. Эффективность ивомека при трихоцефалезе овец / Э.Х. Даугалиева, В.Е. Абрамов // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1984. — Вып. 38. — С. 5–7.
88. Даугалиева Э.Х. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / Э.Х. Даугалиева, В.В. Филиппов. — Москва : Агропромиздат, 1991. — 187, [1] с. : ил.
89. Дашанимаев Б.Ц. Изыскание средств лечения телязиоза крупного рогатого скота // Легочные и желудочно-кишечные нематодозы человека и животных и меры борьбы с ними : материалы докл. науч. конф., Москва, 05–06 окт. 1993 г. / Всерос. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина [и др.]. — Москва: [б. и.], 1993. — С. 28.
90. Демидов Н.В. Справочник по терапии и профилактике гельминтозов животных / Н.В. Демидов, В.А. Потемкина. — Москва : Колос, 1980. — 240 с.
91. Демидов Н.В. Антгельминтики в ветеринарии / Н.В. Демидов. — Москва: Колос, 1982. — 367 с.: ил.
92. Демидов Н.В. Эффективный метод профилактики стронгилятозов желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота: (обзор иностр. лит.) / Н.В. Демидов, М.Я. Бочаров // Ветеринария. — 1988. — № 3. — С. 69–71.
93. Диденко П.П. Феналидон при мониезиозе овец // Ветеринария. — 1986. — № 2. — С. 46–48.
94. Дорошина М.В. Сравнительная токсичность дихлорофена, битионола и фенасала при парентеральном и энтеральном введениях // Материалы к научной конференции Всесоюзного общества гельминтологов : дек. 1966 г. В 5 т. Т. 4 / Акад. наук СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1966. — С. 108–110.
95. Дорошина М.В. Фармакология и токсикология дихлорофена, битионола и фенасала : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Дорошина Мария Васильевна ; Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Всесоюз. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 1968. — 21 с.
96. Дорошина М.В. К вопросу токсичности дронцита // Ветеринария. — 1983. — № 5. — С. 64–65.

97. Дурдусов С.Д. Гельминты, эпизоотология и профилактика основных гельминтозов мясного крупного рогатого скота в Калмыкии : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.20 / Дурдусов Сергей Данилович ; Всерос. науч.-исслед. ин-т им. акад. К.И. Скрябина. — Москва, 1994. — 29 с.
98. Душкин А.В. Возможности механохимической технологии органического синтеза и получения новых материалов // Химия в интересах устойчивого развития. — 2004. — Т. 12, № 3. — С. 251–274.
99. Душкин А.В. Возможности механохимической технологии органического синтеза и получения быстрорастворимых материалов : дис. ... д-ра хим. наук : 05.17.04 / Душкин Александр Валерьевич ; [Место защиты: Ивановский гос. хим.-технол. ун-т]. — Новосибирск, 2005. — 336 с. : ил.
100. Душкин А.В. Возможности механохимической технологии в получении быстрорастворимых лекарственных средств и биологически активных добавок / А.В. Душкин, С.А. Гуськов, Н.В. Тимофеева // Новые материалы для медицины / Рос. акад. наук, Урал. отд-ние [и др.] ; отв. ред. М.Г. Зуев, Л.П. Ларионов. — Екатеринбург : УрО РАН, 2006. — С. 70–99. — (Химия твердого тела – медицине). — ISBN 5-7691-1718-4.
101. Душкин А.В. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ / А. В. Душкин, Л.П. Сунцова, С.С. Халиков // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 1/2. — С. 448–457.
102. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) : утверждены Решением Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года № 299. Раздел 15 : Требования к пестицидам и агрохимикатам / Евразийская экономическая комиссия. — 2021. — URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/txnreg/depsanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx (дата обращения: 23.11.2021).
103. Езерский М.Л. Применение струйного помола для получения порошков фармацевтических препаратов / М.Л. Езерский, Л.А. Травина, С.И. Эйдельштейн // Химико-фармацевтический журнал. — 1972. — Т. 6, № 10. — С. 52–56.

104. Енгашева Е.С. Фармако-токсикологические свойства и лечебно-профилактическая эффективность монизена при гельминтозах водоплавающих птиц : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 06.02.03 ; 03.00.19 / Енгашева Екатерина Сергеевна ; Всерос. науч.-исслед. ин-т вет. санитарии, гигиены и экологии. — Москва, 2012. — 25 с. : ил.
105. Енгашев С.В. Усовершенствование мер борьбы с телязиозами крупного рогатого скота в Нечерноземной зоне России : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Енгашев Сергей Владимирович ; Моск. вет. акад. им. К.И. Скрябина. — Москва, 1992. — 18 с.
106. Енилаева Н.Х. Зональные особенности экологии носоглоточных оводов овец в Узбекистане // Возбудители и переносчики паразитозов и меры борьбы с ними : материалы Всесоюз. конф. по паразитологии, Ташкент, 11–13 окт. 1988 г. / Акад. наук Узб. ССР, Ин-т зоологии и паразитологии [и др.] ; отв. ред. Н.М. Матчанов. — Ташкент : Фан, 1988. — С. 70.
107. Ерболатов К.М. Профилактика диктиокаулеза крупного рогатого скота на западе и юго-востоке Казахстана // Возбудители и переносчики паразитозов и меры борьбы с ними : материалы Всесоюз. конф. по паразитологии, Ташкент, 11–13 окт. 1988 г. / Акад. наук Узб. ССР, Ин-т зоологии и паразитологии [и др.] ; отв. ред. Н.М. Матчанов. — Ташкент : Фан, 1988. — С. 71.
108. Ергалиев К.Е. Распространение желудочно-кишечных стронгилятозов овец и меры борьбы с ними на юго-востоке Казахстана // Возбудители и переносчики паразитозов и меры борьбы с ними : материалы Всесоюз. конф. по паразитологии, Ташкент, 11–13 окт. 1988 г. / Акад. наук Узб. ССР, Ин-т зоологии и паразитологии [и др.] ; отв. ред. Н.М. Матчанов. — Ташкент : Фан, 1988. — С. 72.
109. Ершов В.С. Задачи научно-исследовательских учреждений в ликвидации ценуроза, эхинококкоза, фасциолеза и других массовых гельминтозов животных // Материалы по координации тематики научных работ в области животноводства и ветеринарии научно-исследовательских учреждений и вузов : [координац. совещ. по тематике в обл. животноводства. (20–24 дек. 1957 г.)] / Всесоюз. ордена

- Ленина акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина. — Москва : Изд-во М-ва с.-х. СССР, 1959. — С. 150–159.
110. К фармакологии новой лекарственной формы фенасала-гранул / С.И. Золотухин, Л.Ф.Виноградова, Л.М.Козлова [и др.] // Фармакология и токсикология. — 1983. — Т. 46, № 2. — С. 88–91.
111. Ибраев В.К. Взаимодействие *P. equorum* и *Gastrophilus* spp. и их влияние на организм лошадей // XI конференция Украинского общества паразитологов, Киев, 21–23 сент. 1993 г. : тез. докл. — Киев : [б. и.], 1993. — С. 54.
112. Ивашкин В.М. Определитель гельминтов крупного рогатого скота / В.М. Ивашкин, С.А. Мухамадиев. — Москва : Наука, 1981. — 259 с. : ил.
113. Кадыров Н.Т. Основные нематодозы лошадей и меры борьбы с ними : лекция / Целиногр. с.-х. ин-т. — Целиноград, 1987. — 37, [1] с. : ил.
114. Кадыров Н.Т. Оздоровление лошадей от паразитарных болезней // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. — 1990. — № 1. — С. 73–77.
115. Кадыров Н.Т. Современные меры профилактики желудочно-кишечных паразитозов табунных лошадей / Н.Т. Кадыров, С.А. Аубакиров // Гельминтология сегодня: проблемы и перспективы : тез. докл. науч. конф., Москва, 04–06 апр. 1989 г. В 2 т. Т. 1 / Всесоюз. о-во гельминтологов им. К.И. Скрябина [и др.]. — Москва : ВАСХНИЛ, 1989. — С. 148–149.
116. Каржаухов А.Г. Сравнительная эффективность отечественных и зарубежных антгельминтиков при гельминтозах овец // Легочные и желудочно-кишечные нематодозы человека и животных и меры борьбы с ними: материалы докл. науч. конф., Москва, 05–06 окт. 1993 г. / Всерос. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина [и др.]. — Москва : [б. и.], 1993. — С. 36.
117. Кармалиев Р.С. Гельминтозы крупного рогатого скота Западного Казахстана и меры борьбы с ними : эпизоотология, терапия, резистентность к антгельминтикам : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.02.11 / Кармалиев Рашид Сагитович; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 2011. — 49 с.

118. Каспакбаев А.С. Эффективность дронцита и цетовекса при цестодозах собак / А.С. Каспакбаев, В.Т. Рамазанов, Н.В. Демидов // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. — 1981. — Вып. 29. — С. 17–20.
119. Полимеры для систем замедленной доставки лекарственных веществ пролонгированного действия : (обзор). Перспективные синтетические и природные полимеры / С.А. Кедик, Е.С. Жаворонок, И.П. Седишев [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2013. — № 2 (3). — С. 18–26.
120. Кириш Ю.Э. Лекарственные композиции продленного действия на полимерной основе: состав, строение и формы применения : обзор // Химико-фармацевтический журнал. — 1985. — Т. 19, № 9. — С. 1105–1111.
121. Ковешникова Е.И. Антгельминтик тенал и его фармакотоксикологические свойства : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 03.00.19 / Ковешникова Елена Ивановна ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 2007. — 26 с. : ил.
122. Колесников В.И. Эпизоотический процесс при стронгилятозах овец в условиях Ставропольского края, меры борьбы и профилактики : рекомендации / В.И. Колесников, Г.А. Башкатов, В.А. Оробец. — Ставрополь: [б. и.], 1990. — 25 с.
123. Эффективность ивомека при некоторых гельминтозах и арахно-энтомозах / В.И. Колесников, Г.А. Башкатов, В.И. Ремез, Е.А. Терехова // Болезни овец в Ставропольском крае : Ставроп. науч.-исслед. вет. станции – 60 лет : сб. науч. тр. / под ред. Г.А. Башкатова. — Ставрополь : Кн. изд-во, 1991. — С. 133–141.
124. Корешков Н.М. Эффективность препаратов макроциклических лактонов при нематодозах животных // Актуальные проблемы ветеринарии : материалы Междунар. конф., Барнаул, 26–30 июня 1995 г. / Алт. гос. аграр. ун-т. — Барнаул, 1995. — С. 129.
125. Котельников Г.А. Применение фенасала при мониезиозе и тизаниезиозе овец / Г.А. Котельников, В.И. Худошин // Ветеринария. — 1971. — № 10. — С. 84–85.

126. Эффективность болюсов фасковерма при паразитарных болезнях овец и крупного рогатого скота / Н.И. Кошеваров, И.А. Архипов, Э.Х. Даугалиева, Д.Н. Шемяков // Ветеринария. — 1998. — № 8. — С. 33–38.
127. Экспресс-экспериментальный метод прогнозирования параметров хронической токсичности по показателю ET 50 / Г.Н. Красовский, Н.А. Егорова, З.И. Жолдакова [и др.] // Актуальные вопросы экологической токсикологии : сб. науч. тр. / Иван. гос. мед. ин-т [и др.] ; [редкол. : Г.А. Степанский [и др.]. — Иваново : [б. и.], 1978. — С. 44–46
128. Кузнецов М.И. Испытание антгельминтиков при авителлинозе овец / М.И. Кузнецов, И.Х. Иргашев, А.Г. Мустакимов // Болезни сельскохозяйственных животных : тр. Узб. науч.-исслед. вет. ин-та. — 1965. — Т. 17. — С. 126–128.
129. Лемехов П.А. Эффективность ивомека при диктиокаулезе крупного рогатого скота в производственных условиях // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1987. — Вып. 48. — С. 53–54.
130. Леушин Н.В. Фенасал и гексахлорофен при цестодозах собак // Ветеринария. — 1971. — № 1. — С. 69–70.
131. Антигельминтная эффективность фенасала на основе супрамолекулярных систем доставки Drug Delivery System при мониезиозе крупного рогатого скота / Ю.В. Лимова, К.М. Садов, С.Г. Канатбаев, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. — 2016. — № 2. — С. 223–227.
132. Антигельминтная эффективность новых лекарственных форм фенасала на основе супрамолекулярных, наноразмерных систем доставки Drug Delivery System при аноплоцефалидозах лошадей / Ю.В. Лимова, К.М. Садов, Е.В. Корогодина [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2017. — № 2. — С. 188–191.
133. Липицкий С.С. Производственное испытание ивомека // Ветеринарная наука – производству. — 1990. — Т. 28. — С. 136–138.
134. Малахова Н.А. Гельминтозы лабораторных грызунов и меры борьбы с ними в питомниках и вивариях: автореф. ... канд. вет. наук : 03.00.20 / Малахова

- Наталья Алексеевна ; Всерос. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 1991. — 24 с.
135. Малыгин С.А. Применение фенасала при мониезиозе / С.А. Малыгин, Е.И. Мальцева // Ветеринария. — 1970. — № 4. — С. 77.
136. Мальцев К.Л. Легочные стронгилятозы животных в Центральной зоне Европейской части РФ: эпизоотология, меры борьбы : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03 ; 03.00.19 / Мальцев Константин Леонидович ; Нижегор. гос. с.-х. акад. — Нижний Новгород, 2006. — 42 с.
137. Мамыкова О.И. Влияние ивермектина на иммунитет хозяина / О.И. Мамыкова, Н.П. Салтанова // Доклады Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. — 1991. — № 12. — С. 37–39.
138. Об эффективности препаратов ивомека и морантелтартрата против некоторых гельминтозов каракульских овец / Н.М. Матчанов, А.С. Назаров, Н.В. Демидов [и др.] // Доклады Академии наук Узбекской ССР. — 1985. — № 6. — С. 53–55.
139. Методические рекомендации по исследованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования / М-во здравоохран. СССР; Е. Н. Буркацкая, В. Ф. Витер, Л. А. Тимофиевская [и др.]. — Киев : [б. и.], 1980. — 47 с.
140. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. В 2 ч. Ч. 1 / М-во здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации [и др.] ; отв. ред. А.Н. Миронов. — Москва : Гриф и К, 2012. — 944 с
141. Михайлова Л.М. Использование силиконовых каучуков и резин для конструирования лекарственных форм / Л.М. Михайлова, П.В. Лопатин, М.Т. Алюшин // Химико-фармацевтический журнал. — 1975. — № 3. — С. 22–28.
142. Эффективность супрамолекулярных комплексов триклабендазола с полимерными наполнителями при фасциолёзе / М.Б. Мусаев, М.В. Миленина, И.А. Архипов [и др.]. — DOI 10.33092/np2018.3.15-24 // Российский паразитологический журнал. — 2017. — № 3. — С. 271–276.

143. Антигельминтная и токсикологическая оценка супрамолекулярных комплексов триклабендазола / М.Б. Мусаев, М.В. Миленина, М.С. Халиков [и др.]. — DOI 10.33092/np2018.3.15-24 // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2018. — № 3. — С. 15–24.
144. Патент № 2640482 Российская Федерация, МПК А61К31/41 (2006.01), А61К 31/715 (2006.01), А61Р 33/10 (2006.01), А61К 9/16 (2006.01) Супрамолекулярный комплекс триклабендазола для лечения животных при фасциолёзе : № 2016115779 : заявл. 22.04.2016 : опубл. 09.01.2018 / Мусаев М.Б. , Архипов И.А., Халиков С.С. [и др.]. — 11 с. : ил.
145. Иммуниетет животных при гельминтозах и пути его коррекции / Т.Я. Мясцова, М.В. Якубовский, С.И. Веренич [и др.] // Актуальные проблемы медицинской и ветеринарной паразитологии : тез. докл. Междунар. конф. / Витеб. мед. ин-т ; отв. ред. О.-Я. Л. Бекиш. — Витебск, 1993. — С. 66.
146. Токсические и антгельминтные свойства фенасала с пониженной температурой плавления и повышенной зольностью / М.В. Надыкто, В.Ш. Полуэктов, Б.А. Тимофеев [и др.] // Ветеринария. — 1984. — № 6. — С. 64–65.
147. Надыкто М.В. Эффективность ивомекаприлегочных и желудочно-кишечных стронгилятозах овец / М.В. Надыкто, В.Ш. Полуэктов, В.Д. Тимофеев // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1986. — Вып. 46. — С. 20–23.
148. Никольский С.Н. Ивермектин как средство борьбы с паразитами / С.Н. Никольский, Ю.П. Овсянникова // X конференция Украинского общества паразитологов : (Одесса, 1986 г.) : материалы конф. В 2 ч. Ч. 2 / Акад. наук СССР [и др.]. — Киев : Наукова думка, 1986. — С. 64.
149. Петров В.С. Производственный опыт применения дронцита при цестодозах собак / В.С. Петров, Т.Д. Султанкулов // Информ. листок Джамбулского ЦНТИ. — 1983. — № 78/83. — 4 с.
150. Петрухин М.А. Разработка мероприятий по борьбе с нематодозами свиней // Гельминтозы и меры борьбы с ними : сб. ст. / Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И.

Ленина, Сиб. отд-ние. — Новосибирск, 1990. — С. 16–21. — (Научно-технический бюллетень ; вып. 3).

151. Политов Ю.А. Химиопрофилактика гельминтозов животных путем пролонгирования антгельминтиков / Ю.А. Политов, Б.Т. Ахметов // Гельминты человека, животных и растений : [сб. ст.] / Акад. наук Каз. ССР, Ин-т зоологии. — Алма-Ата, 1987. — С. 167–173.

152. Поникаров А.В. Эффективность инъекционного ивомека-ф при лечении овец // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1989. — Вып. 52. — С. 86.

153. Об утверждении Правил лабораторной практики : приказ от 23 августа 2010 № 708н : зарегистрировано в Минюсте РФ 13 октября 2010 г. регистр. № 18713 / Министерство здравоохранения и социального развития // Гарант.ру : информ. портал. — 22 окт. 2010 г. — URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/12079613/> (дата обращения: 25.10.2021).

154. Прозоровский В.Б. Рекомендации по статистической обработке результатов токсикологических исследований. — М., 1965, 36 с.

155. Растегаев Ю.М. Эффективность ивермектина при ринэстрозе и гастрофилезе лошадей / Ю.М. Растегаев, Г.И. Ибишев // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. — 1988. — № 5. — С. 64–66.

156. Резник Г.К. Действие бунамидина солянокислого и празиквантела на *Echinococcus granulosus* / Г.К. Резник, Л.Г. Тищенко // Ветеринария. — 1987. — № 2. — С. 36–39.

157. Резяпкин И.Н. Эпизоотический процесс и меры борьбы при эхинококкозе животных : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.19 / Резяпкин Иван Николаевич ; Саратов. гос. аграр. ун-т им. Н.И. Вавилова. — Саратов, 2001. — 57 с.

158. Рекомендации по статистической обработке результатов экспериментально-токсикологических исследований / Ин-т гигиены труда и профзаболеваний Акад. мед. наук СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1965. — 80 с. : ил.

159. Ремез В.И. Эффективность подкожного введения ивомека при лечении саркоптоидозов овец и свиней // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. / Ставроп. с.-х. ин-т ; [редкол. : В.Я. Никитин [и др.]]. — Ставрополь, 1984. — С. 23–25.
160. Ремез В.И. Противосаркоптозная эффективность ивомека и влияние его на воспроизводительную и шерстную продуктивность овец // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. / Ставроп. с.-х. ин-т ; [редкол. : В.Я. Никитин [и др.]]. — Ставрополь, [1987]. — С. 77–80.
161. Ремез В.И. Эффективность ивомека при различной интенсивности псароптоза овец // Паразитарные болезни животных и человека на Северном Кавказе / Всесоюз. акад. с.-х. наук, Всерос. отд-ние [и др.]. — Новочеркасск : [б. и.], 1989. — С. 92–94.
162. Розовенко М.В. Клинико-биохимические показатели и инсектицидная активность препаратов различных химических групп при гематопинозе свиней: автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Розовенко Михаил Васильевич ; Моск. вет. акад. им. К.И. Скрябина. — Москва, 1990. — 14 с.
163. Русак Л.В. К изучению механизма действия фенасана // Материалы к научным конференциям Всесоюзного общества гельминтологов, нояб.–дек. 1964 г. В 2 ч. Ч. 2 / Акад. наук СССР [и др.]. — Москва : [б. и.], 1964. — С. 118–122.
164. Сапунов А.Я. Испытания некоторых препаратов при смешанной ценурозно-эстрозной инвазии у овец // Ассоциативные паразитарные болезни, проблемы экологии и терапии : материалы докл. науч. конф., Москва, 05–06 дек. 1995 г. / Рос. акад. наук [и др.]. — Москва : [б. и.], 1995. — С. 152–155.
165. Сафиуллин Р.Т. Антгельминтная и экономическая эффективность ивомека при кишечных нематодозах свиней // Научно-технический бюллетень СО ВАСХНИЛ. — 1986. — Вып. 18/19. — С. 57–60.

166. Сафиуллин Р.Т. Эффективность и экономичность ивомека при смешанных инвазиях свиней // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1986. — Вып. 46. — С. 37–42.
167. Сафиуллин Р.Т. Эзофагостомоз свиней: профилактика и меры борьбы : буклет / Р.Т. Сафиуллин. — Москва : [б. и.], 1990. — 6 с.
168. Сафиуллин Р.Т. Экономически обоснованные схемы дегельминтизации ремонтного молодняка свиней при кишечных нематодозах в специализированных хозяйствах // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1992. — Т. 31. — С. 106–116.
169. Сафиуллин Р.Т. Лечебная и экономическая эффективность премикса с ивермектином при паразитарных болезнях свиней // Ветеринария. — 1995. — № 6. — С. 43–47.
170. Сафиуллин Р. Т. Экономическая эффективность применения альбендазола при мониезиозе овец // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2009. — № 10. — С. 348–351.
171. Сафиуллин Р. Р. Фармако-токсикологическая характеристика и терапевтическая эффективность комплексного препарата на основе ивермектина и клозантела при паразитарных болезнях крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 16.00.04 / Сафиуллин Радмир Ринатович ; Всерос. гос. центр качества и стандартизации лекарств. средств для животных и кормов. — Москва, 2003. — 20 с.
172. Семенов С. В. Новая лекарственная форма ивермектина, ее фармакологические свойства и эффективность при лечении паразитарных болезней животных : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 16.00.04 / Семенов Сергей Вячеславович ; Всерос. гос. центр качества и стандартизации лекарств. средств и кормов для животных. — Москва, 2009. — 21 с.
173. Сейфулла Х. И. О фармакологических свойствах препарата № 391 (йомезана) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1964. — Т. 33, № 3. — С. 306–308.

174. Сивков Г.С. Ассоциации инвазионных болезней овец и эффективные средства их терапии / Г.С. Сивков, В.Н. Домацкий // Паразиты и паразитарные болезни в Западной Сибири : Первая науч. конф. Новосиб. отд-ния Паразитол. о-ва Рос. акад. наук, Новосибирск, 16 янв. 1996 г.) / Паразитол. о-во Рос. акад. наук, Новосиб. отд-ние. — Новосибирск : [б. и.], 1996. — С. 89–90.
175. Сидельникова Л.Ю. Применение ивомека при саркоптозе и гельминтозах свиней // Ветеринария. — 1990. — № 5. — С. 41–43.
176. Скира В.Н. Фармако-токсикологическая оценка и антипаразитарная эффективность авермектинов отечественного производства : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.19 / Скира Василий Николаевич ; Иван. гос. с.-х. акад. — Иваново, 2001. — 52 с.
177. Сравнительная характеристика эффективности ивомека и аверсекта / М.А. Симецкий, Д.И. Удавлиев, В.В. Филиппов [и др.] // Ветеринария. — 1994. — № 1. — С. 40–42.
178. Скворцова Ф.К. Действие празиквантела на ультраструктуру ларвоцист *Echinococcus granulosus* при экспериментальном эхинококкозе мышей / Ф.К. Скворцова, В.Б. Ястреб, А.С. Бессонов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1987. — № 5. — С. 19–21.
179. Скосырских Л.Н. Ивомек при демодекозе крупного рогатого скота // Ветеринария. — 1987. — № 12. — С. 46–47.
180. Определитель паразитических нематод. В 4 т. / под ред. К.И. Скрябина ; Акад. наук СССР, Гельминт. лаборатория. — Москва ; Ленинград : Изд-во и 2-я тип. Изд-ва Акад. наук СССР, 1949-1954. — Т. 3 : Стронгиляты / К.И. Скрябин, Н.П. Шихобалова, Р.С. Шульц [и др.]. — 1952. — 891 с. : ил.
181. Смирнов А.М. Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных : монография / А.М. Смирнов, В.И. Дорожкин. — Москва : Россельхозакадемия, 2008. — 120 с
182. Смычков А.С. Продуктивность овцематок в зависимости от инвазированности анопцефалытами и сроков дегельминтизации // Сборник

- научных работ Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института. — 1978. — Вып. 33 : Паразитарные и незаразные болезни животных. — С. 53–56.
183. Солодовник В.Д. Микрокапсулирование / В.Д. Солодовник. — Москва: Химия, 1980. — 216 с.
184. Антгельминтная эффективность препарата «ивомек» при диктиокаулезе овец / Н.П. Сулаберидзе, Г.И. Годердзишвили, Т.А. Бараташвили, О.М. Шавгулидзе // Материалы III республиканской научной конференции молодых ученых и специалистов в области животноводства, ветеринарии и экономики сельского хозяйства, Тбилиси, 19–21 нояб. 1985 г. / Гос. агропром. ком. СССР [и др.]. — Тбилиси : Сабчота Сакартвело, 1986. — С. 179–181.
185. Султанкулов Т.Д. Эффективность фенасала против тениид собак в производственных условиях / Т.Д. Султанкулов, М.Б. Орынбаев, Р.Д. Сарсенгалиев // Перспективы ликвидации потерь от эхинококкоза в животноводстве : тез. докл. науч.-практ. семинара, г. Фрунзе, 14–16 окт. 1987 г. / Всесоюз. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина [и др.]. — Москва : [б. и.], 1987. — С. 57–58.
186. Тарасов В.В. Смешанные нематодозы свиней и их профилактика // Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с инфекционными болезнями животных : сб. науч. тр / Рос. акад. с.-х. наук, Сиб. отд-ние [и др.] ; [редкол. : С.И. Джупина [и др.]]. — Новосибирск : СО РАСХН, 1992. — С. 104–111.
187. Тенцова А.И. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств: (введение в биофармацию) / А. И. Тенцова, И. С. Ажгихин. — Москва: Медицина, 1974. — 333 [3] с. : черт.
188. Тищенко В.В. Эффективность дронцита при экспериментальном эхинококкозе, мультицептозе и гидатигенном тениозе собак / В.В. Тищенко, Л.Г. Тищенко // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1983. — Вып. 34. — С. 62–63.
189. Толоконников В.П. Эффективность новых препаратов при вольфартиозе и эстрозе овец / В.П. Толоконников, Л.З. Золотухина, Н.С. Мозуляка // Диагностика,

лечение, профилактика инфекционных и паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. / Ставроп. с.-х. ин-т ; [редкол. : С.Н. Луцук [и др.]]. — Ставрополь, 1989. — С. 40–43.

190. Тищенко Л. Г. Действие фенасала на стробилы и половые элементы аноплоцефалят // Материалы к республиканскому семинару-совещанию по борьбе с паразитарными и незаразными болезнями сельскохозяйственных животных, г. Джамбул 25–27 окт. 1974 г. / М-во сел. хоз-ва Казах. ССР [и др.]. — Алма-Ата : [б. и.], 1974. — С. 238–239.

191. Узаков У.Я. Эффективность ивермектина при саркоптозе свиней / У.Я. Узаков, Ж.Ж. Шаполатов // X Конференция украинского общества паразитологов : материалы конф., Одесса, 01 янв. – 31 дек. 1986 г. В 2 ч. Ч. 2 / Акад. наук Укр. ССР [и др.]. — Киев : Наукова думка, 1986. — С. 274.

192. Уланова И.П. Степень опасности промышленных веществ, видовая чувствительность и коэффициент запаса при установлении ПДК // Принципы и методы установления предельно допустимых концентраций вредных веществ в воздухе производственных помещений : материалы Междунар. семинара ученых соц. стран. 25–29 нояб. 1968 г. / под ред. А.А. Летавета и И.В. Саноцкого ; Акад. мед. наук СССР, Ин-т гигиены труда и проф. заболеваний. — Москва : Медицина, 1970. — С. 65–76.

193. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : учеб. пособие / Федер. служба по надзору в сфере здравоохранения и соц. развития [и др.] ; под общ. ред. Р.У. Хабриева. — Изд. 2-е, перераб. и доп. — Москва : Медицина : Шико, 2005 (ППП Тип. Наука). — 826, [1] с. : ил., табл.

194. Халиков С.С. Механохимия и технология биологически активных препаратов // Узбекский химический журнал. — 1996. — № 3. — С. 67–78.

195. Халиков С.С. Аспекты механохимической технологии модификации биологически активных веществ // Химия и медицина : тез. докл. VIII Всерос. конф. с Междунар. участием, Уфа, 06–08 апр. 2010 г. / [редкол. : М.С. Юнусов [и др.]]. — Уфа : Гилем, 2010. — С. 78.

196. Механохимическая модификация свойств антигельминтных препаратов / С.С. Халиков, М.С. Халиков, Е.С. Метелева [и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. — 2011. — Т. 19, № 6. — С. 699–703.
197. Создание антигельминтных препаратов повышенной эффективности на основе межмолекулярных комплексов действующих веществ с водорастворимыми полимерами, в том числе с полисахаридами / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин [и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. — 2015. — Т. 23, № 5. — С. 567–577.
198. Механохимическая технология для создания антигельминтных бензимидазольных препаратов / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2015. — № 16. — С. 456–459.
199. Способы получения твёрдых дисперсий лекарственных веществ и их свойства / С.С. Халиков, Б.В. Локшин, М.М. Ильин [и др.] // Известия Академии наук. Серия химическая. — 2019. — № 10. — С. 1924–1932.
200. Твёрдые дисперсии бензимидазольных препаратов в паразитологии / С.С. Халиков, Б.Ф. Локшин, М.М. Ильин [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2019. — № 20. — С. 663–670.
201. Механохимическая модификация триклабендазола для получения эффективного противофасцилоидного препарата / М.С. Халиков, М.Б. Мусаев, М.М. Ильин (мл.) [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2020. — № 21. — С. 450–455.
202. Хананов Э.А. Пролонгированные лекарственные формы как способ снижения негативных воздействий на человеческий организм / Э.А. Хананов, П.Г. Мизина, А.А. Симакина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2009. — Т. 11, № 1/6. — С. 1321–1323.
203. Хачатурян М.М. Антигельминтная эффективность ивомека, ринтала и фенкура при протостронгилидозах овец // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1989. — Вып. 52. — С. 94–95.

204. Хачатурян М.М. Эффективность ивомека, ринтала и фенкура присмешанных протостронгилидозах овец в армянской ССР / М.М. Хачатурян, А.М. Сазанов // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1990. — Вып. 54. — С. 110–111.
205. Худошин В.И. Испытание фенасала при мониезиозе и тизаниезиозе ягнят // Ветеринария. — 1969. — № 2. — С. 46.
206. Шамхалов В.М. Дронцит при цестодозах и нематодозах собак / В.М. Шамхалов, А.И. Абасов // Сборник работ Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института / Сев.-Кав. зон. науч.-исслед. вет. ин-т. — Новочеркасск : [б. и.], 1982. — Т. 13. — С. 137–140.
207. Шекаладзе И.А. Действие лечебной дозы препарата «ивомек» на организм овец / И.А. Шекаладзе // Материалы III республиканской научной конференции молодых ученых и специалистов в области животноводства, ветеринарии и экономики сельского хозяйства, Тбилиси, 19–21 нояб. 1985 г. / Гос. агропром. ком. СССР [и др.]. — Тбилиси : Сабчота Сакартвело, 1986.—С. 188–189.
208. Шемшура А.В. Эффективность нового препарата аверсекта комби при паразитарных болезнях крупного рогатого скота и овец : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.02.11 / Шемшура Александр Валерьевич ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 2013. — 24 с.
209. Эффективность ивомека при легочных и кишечных стронгилятозах овец / В.С. Шеховцов, Л.И. Луценко, Т.Е. Мишарова, З.Г. Сумцова // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1988. — Вып. 49. — С. 59–62.
210. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения : учеб. пособие / М.И. Штильман. — Москва : Академкнига, 2006. — 399 с. : ил.
211. Шульц Р.С. Опыт постимагинальной дегельминтизации лошадей при стронгилятозах фенотиразином / Р.С. Шульц, Ж.Н. Намаскулова // Труды Научно-исследовательского ветеринарного института / Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В.И. Ленина, Каз. фил. — 1954. — Т. 6. — С. 553–559.

212. Южелевский Ю.А. Силоксановые полимеры в медицине: проблемы и перспективы / Ю.А. Южелевский, С.В. Соколов // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. — 1985. — Т. 30, № 4. — С. 455–461.
213. Якубовский М.В. Профилактика демодекоза крупного рогатого скота / М.В. Якубовский, М.А. Ананчиков // Ветеринария. — 1989. — № 9. — С. 44–46.
214. Яроцкий Л.С. Шистосомозы / Л.С. Яроцкий. — Москва : Медицина, 1982. — 279 с. : ил.
215. Ястреб В.Б. Гельминтозоозы: эхинококкоз и дирофиляриоз : биоморфологические особенности возбудителей, совершенствование мер борьбы : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.19 / Ястреб Валерий Брониславович; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. — Москва, 2009. — 48 с.
216. Avermectins. Structure determination / G. Albers-Schonberg, B. H. Arison, J. C. Chabala [et al.] // Journal of the American chemical society. — 1981. — Vol. 103, N 8. — P. 4216–4221.
217. Efficacy of ivermectin in oral paste formulation against immature gastrointestinal and pulmonary nematodes in cattle / R. Alva-Valdes, G. W. Benz, D. H. Wallace [et al.] // American journal of veterinary research. — 1984. — Vol. 45, N 4. — P. 685–686.
218. Determination of ivermectin in milk by high performance liquid chromatography / M. Alvinerie, J. F. Sutra, P. Galtier, P. Toutain // Annals of veterinary research. — 1987. — Vol. 18, N 3. — P. 269–274.
219. Andersen F. L. Efficacy of injectable and tablet formulations of praziquantel against mature *Echinococcus granulosus* / F. L. Anderson, G. A. Conder, W. P. Marsland // American journal of veterinary research. — 1978. — Vol. 39, N 11. — P. 1861–1862.
220. Andersen F. L. Efficacy of injectable and tablet formulations of praziquantel against immature *Echinococcus granulosus* / F. L. Andersen, G. A. Conder, W. P. Marcland // American journal of veterinary research. — 1979. — Vol. 40, N 5. — P. 700–701.

221. Anderson D. L. Activity of ivermectin against canine intestinal helminthes / D. L. Anderson, E. L. Roberson // American journal of veterinary research. — 1982. — Vol. 43, N 9. — P. 1681–1683.
222. Andersen F. L. Efficacy of a combined paste formulation of praziquantel/febantel against immature *Echinococcus granulosus* and immature *Echinococcus multilocularis* / F. L. Andersen, J. A. Short, H. D. McCurdy // American journal of veterinary research. — 1985. — Vol. 46, N 1 — P. 253–255.
223. Andrews P. Pharmacokinetic studies with Droncit in animals using a biological assay // Veterinary medical review. — 1976. — N 2. — P. 154–165.
224. Andrews P. Praziquantel – a novel schistosomicide // Parasitology. — 1977. — Vol 5, N 2. — P. 17–18.
225. Andrews P. The effect of praziquantel on *Hymenolepis diminuta* in vitro / P. Andrews, H. Thomas // Tropenmedizin und parasitologie. — 1979. — Vol. 30, N 3. — P. 391–400.
226. Andrews P. The in vitro uptake of ¹⁴C-praziquantel by cestodes, trematodes, and a nematode / P. Andrews, H. Thomas, H. Weber // The journal of parasitology. — 1980. — Vol. 66, N 6. — P. 920–925.
227. Praziquantel / P. Andrews, H. Thomas, R. Pohlke, J. Seubert // Medicinal research reviews. — 1983. — Vol. 3, N 2. — P. 147–200.
228. Andrews P. Chemistry of anticestodal agents / P. Andrews, G. Bonse // Chemotherapy of parasitic diseases / W. C. Campbell, R. S. Rew. — New York ; London : Plenum Press, 1986. — P. 441–456.
229. The efficacy of the supramolecular complexes of niclosamide obtained by mechanochemical technology and targeted delivery against cestode infection of animals / I. A. Arkhipov, A. I. Varlamova, K. M. Sadov [et al.]. — DOI 10.1016/j.vetpar.2017.08.019 // Veterinary parasitology. — 2017. — Vol. 246. — P. 25–29.
230. Armour J. Anthelmintic efficiency of ivermectin against naturally acquired bovine gastrointestinal nematodes / J. Armour, K. Bairden, J. Preston. — DOI 10.1136/vr.107.10.226 // Veterinary record. — 1980. — Vol. 107, N 10. — P. 226–227.

231. The bioavailability of ivermectin in horses when administered in a liquid formulation by nasogastric intubation versus in an oral paste/ R. L. Asquith, T. J. Lane, R. E. Plue, R. L. Seward. — DOI 10.1016/S0737-0806(88)80104-7 // *Journal of equine veterinary science*. — 1987. — Vol. 8, N 1. — P. 28–30.
232. Baldock F. C. Efficiency of praziquantel, a new cesticide, against *Taenia hydatigena* in the dog / F. C. Baldock, W. J. Flucke, T. J. Hopkins // *Research in veterinary science*. — 1977. — Vol. 23, N 2. — P. 237–238.
233. Barth D. Persistent anthelmintic effect of ivermectin in cattle. — DOI 10.1136/vr.113.13.300 // *Veterinary Record*. — 1983. — Vol. 113, N 13. — P. 300.
234. Barth D. Investigations of the efficacy of ivermectin against ectoparasites in cattle / D. Barth, I. A. Sutherland // *Zentr bakteriell, parasitenk, infektionskrankheit hygiene*. — 1980. — Vol. 57. — P. 319–320.
235. Bass P. Prolonged Administration of Atropine or Histamine in a Silicone Rubber Implant / P. Bass, R. A. Purdon, J. N. Wiley // *Nature*. — 1965. — Vol. 208. — N 5010. — P. 591–592.
236. Bauditz R. Droncit injectable: new possibilities of tapeworm control / R. Bauditz, H. Sachs // *Veterinary medical review*. — 1979. — N 2. — P. 129–133.
237. Scanning and transmission electron microscope studies on the efficacy of praziquantel on *Hymenolepis nana* (Cestoda) in vitro / B. Becker, H. Mehlhorn, P. Andrews, H. Thomas.— DOI 10.1007/BF00925459 // *Zeitschrift für parasitenkunde*. — 1980. — Bd. 61, N 2. — S. 121–133.
238. Bello T. R. Critical antiparasitic efficacy of ivermectin against equine parasites / T. R. Bello, C. M. Norfleet // *Journal of equine veterinary science*. — 1981. — Vol. 1, N 1. — P. 14–17.
239. Benz G. W. Anthelmintic efficacy of ivermectin against gastrointestinal nematodes in calves / G. W. Benz, J. V. Ernst, R. R. Crawley // *American journal of veterinary research*. — 1983. — Vol. 44, N 7. — P. 1363–1365.
240. Benz G. W. Anthelmintic activities of ivermectin against immature and adult *Dictyocaulus viviparus* / G. W. Benz, J. V. Ernst, J. R. Egerton // *American journal of veterinary research*. — 1984. — Vol. 45, N 4. — P. 771–772.

241. Benz G. W. Animal health applications of ivermectin // *Southwestern entomologist*. — 1985. — Vol. 10, N 7. — P. 43–50.
242. Pharmacokinetics of a new long acting endectocide formulation containing 2.25% ivermectin and 1.25% abamectin in cattle / F. A. Borges, H. S. Cho, E. Santos [et al.]. — DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00816.x / *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. — 2007. — Vol. 30, N 1. — P. 62–67.
243. Botero D. Treatment of cysticercosis with praziquantel in Colombia / D. Botero, S. Castaño. — DOI 10.4269/ajtmh.1982.31.811 // *The American journal of tropical medicine and hygiene*. — 1982. — Vol. 31, N 4. — P. 811–821.
244. Bremner K. C. Persistence of the anthelmintic activity of ivermectin in calves / K. C. Bremner, D. A. Berrie, I. K. Hotson // *The veterinary record*. — 1983. — Vol. 113, N 24. — P. 569.
245. Efficacy of a long-acting formulation of ivermectin against *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) on cattle / A. A. Bridi, L. A. Carvalho, L. G. Cramer, R. A. Barrick. — DOI 10.1016/s0304-4017(01)00434-4 // *Veterinary parasitology*. — 2001. — Vol. 97, N 4. — P. 277–283.
246. Brodie B. B. Pathways of drug metabolism. — DOI 10.1111/j.2042-7158.1956.tb12123.x // *The journal of pharmacy and pharmacology*. — 1956. — Vol. 8, N 1. — P. 1–17.
247. Borges F. A. Pharmacokinetics of a new long acting endectocide formulation containing 2.25% ivermectin and 1.25% abamectin in cattle / F. A. Borges, H. S. Cho, E. Santos. — DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00816.x // *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. — 2007. — Vol. 30, N 1. — P. 62–67.
248. Bossche H. Chemotherapy of parasitic infections // *Nature*. — 1978. — Vol. 273. — P. 626–630.
249. Metabolism of praziquantel in man / K. U. Bühring, H. W. Diekmann, H. Müller [et al.] // *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. — 1978. — Vol. 3, N 3. — P. 179–190.

250. Buri P. Development biopharmaceutique des formes galeniques solides a action prolongee pour le voie orale. *Biopharmacie et pharmacopee // Schweizerische apotheker zeitung*. — 1972. — Bd. 110. — S. 344–349.
251. Veterinary long-acting injections and implants / S. M. Cady, P. M. Cheifetz, I. Galeska // *Long acting animal health drug products: fundamentals and applications / eds. M. J. Rathbone, A. McDowell*. — New York : Springer, 2013. — P. 271–294. — (Advances in delivery science and technology).
252. Injectable PLA-based in situ forming implants for controlled release of Ivermectin a BCS Class II drug: solvent selection based on physico-chemical characterization / J. A. Camargo, A. Sapin, C. Nouvel [et al.]. — DOI 10.3109/03639045.2012.660952 // *Drug development and industrial pharmacy*. — 2013. — Vol. 39, N 1. — P. 146–155.
253. Ivermectin-loaded microparticles for parenteral sustained release: in vitro characterization and effect of some formulation variables / J. A. Camargo, A. Sapin, D. Daloz, P. Maincent. — DOI 10.3109/02652048.2010.501397 // *Journal of microencapsulation*. — 2010. — Vol. 27, N 7. — P. 609–617.
254. Campbell W. C. Efficacy of the avermectins against filarial parasites : a short rev. — DOI 10.1007/BF02214991 / *Veterinary research communications*. — 1982. — Vol. 5, N 3. — P. 251–262.
255. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent / W. C. Campbell, M. H. Fisher, E. O. Stapley [et al.]. — DOI 10.1126/science.6308762 // *Science*. — 1983. — Vol. 221, N 4613. — P. 823–828.
256. Campbell W. C. Ivermectin : a rev. of efficacy and safety / W. C. Campbell, G. W. Benz. — DOI 10.1111/j.1365-2885.1984.tb00872.x / *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. — 1984. — Vol. 7, N 1. — P. 1–16.
257. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species / A. G. Canga, A. M. S. Prieto, M. J. D. Liébana [et al.]. — DOI10.1016/j.tvjl.2007.07.011 // *Veterinary journal*. — 2009. — Vol. 179, N 1. — P. 25–37.

258. Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent / J. C. Chabala, H. Mrozik, R. L. Tolman [et al.]. — DOI 10.1021/jm00184a014 // *Journal of medicinal chemistry*. — 1980. — Vol. 23, N 10. — P. 1134–1136.
259. Effects of implant diameter, drug loading and end-capping on praziquantel release from PCL implants / C. Li, L. Cheng, Y. Zhang [et al.]. — DOI:10.1016/j.ijpharm.2009.10.046 // *International journal of pharmaceutics*. — 2010. — Vol. 386, N 1/2. — P. 23–29.
260. Chen G. Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials / G. Q. Chen, Q. Wu. — DOI 10.1016/j.biomaterials.2005.04.036 // *Biomaterials*. — 2005. — Vol. 26, N 33. — P. 6565–6578.
261. Cheng L. Characterization and in vitro release of praziquantel from poly (epsilon-caprolactone) implants / L. Cheng, S. Guo, W. Wu. — DOI 10.1016/j.ijpharm.2009.05.007 // *International journal of pharmaceutics*. — 2009. — Vol. 377, N 1/2. — P. 112–119.
262. Cheng L. In vitro and in vivo evaluation of praziquantel loaded implants based on PEG/PCL blends / L. Cheng, L. Lei, S. Guo. — DOI 10.1016/j.ijpharm.2009.12.010 // *International journal of pharmaceutics*. — 2010. — Vol. 387, N 1/2. — P. 129–138.
263. *Schistosoma japonicum*: treatment of different developmental stages in mice with long-acting praziquantel implants / L. Cheng, L. Lei, S. Guo [et al.]. — DOI 10.1016/j.exppara.2011.08.003 // *Experimental parasitology*. — 2011. — Vol. 129, N 3. — P. 254–259.
264. Chevrel B. [Infestation with trematods: therapeutical effect of Praziquantel] // *Médecine et chirurgie digestives*. — 1983. — Vol. 12, N 8. — P. 611–616. — [in French].
265. Controlled drug release from polymeric delivery devices. III: In vitro-in vivo correlation for intravaginal release of ethynodiol diacetate from silicone devices in rabbits / Y. W. Chien, S. E. Mares, J. Berg [et al.]. — DOI 10.1002/jps.2600641108 // *Journal of pharmaceutical sciences*. — 1975. — Vol. 64, N 11. — P. 1776–1781.

266. Chavda H. V. Biopharmaceutics classification system / H. V. Chavda, C. N. Patel, I. S. Anand. — DOI 10.4103/0975-8453.59514 // Systematic reviews in pharmacy. — 2010. — Vol. 1, N 1. — P. 62–69.
267. Determination of ivermectin residue in animal tissues by high-performance liquid chromatography-reverse isotope dilution assay / S. H. L. Chiu, R. P. Buhs, E. Sestokas [et. al.]. — DOI 10.1021/jf00061a029 // Journal of agricultural and food chemistry. — 1985. — Vol. 33, N 1. — P. 99–102.
268. Comparative metabolic disposition of ivermectin in fat tissues of cattle, sheep, and rats / S. H. Chiu, J. R. Carlin, R. Taub [et. al.] // Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. — 1988. — Vol. 16, N 5. — P. 728–736.
269. Metabolic disposition of ivermectin in tissues of cattle, sheep, and rats / S. H. Chiu, E. Sestokas, R. Taub [et. al.] // Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. — 1986. — Vol. 14, N 5. — P. 590–600.
270. Comparative in vivo and in vitro metabolism of ivermectin in steers, sheep, swine, and rat / S. H. Chiu, R. Taub, E. Sestokas [et. al.]. — DOI 10.3109/03602538708998309 // Drug metabolism reviews. — 1987. — Vol. 18, N 2–3. — P. 289–302.
271. Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep, and rat / S. L. Chiu, M. L. Green, F. P. Baylis [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. — 1990. — Vol. 38, N 11. — P. 2072–2078.
272. The metabolism of avermectin-H₂B_{1a} and-H₂B_{1b} by pig liver microsomes / S. H. Chiu, E. Sestokas, R. Taub [et. al.] // Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. — 1984. — Vol. 12, N 4. — P. 464–469.
273. Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep, and rat / S. L. Chiu, M. L. Green, F. P. Baylis [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. — 1990. — Vol. 38, N 11. — P. 2072–2078.
274. Long-term delivery of ivermectin by use of poly (D, L-lactic-co-glycolic) acid microparticles in dogs / S. L. Clark, A. J. Crowley, P. G. Schmidt [et al.]. — DOI 10.2460/ajvr.2004.65.752 // American journal of veterinary research. — 2004. — Vol. 65, N 6. — P. 752–757.

275. Conlon C. P. Praziquantel / C. P. Conlon, C. J. Ellis // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 1985. — Vol. 15, N 1. — P. 1–2.
276. Učinnost noveho antihelmintika Ivomec (ivermectin, MSD) pri ovciach a osipanych / J. Corba, P. Stoffa, J. Legeny, H. Andrasko // *Veterinarstvi*.—1984. — Vol. 34, N 3. —P. 113–114.
277. Patent N 20110039794 United States, Int. Cl. A61K 31/365, A61P 33/14, A61P 33/10. Long acting injectable formulations : N 739300/12 : date of filing 24.10.2008 : date of publ. 17.02.2011 / Corgozinho C. N. C., Lima K. M., Rodriques J. M., O'Neill P. A. — 15 p.
278. Eficacia de Droncit-Bayer (Praziquantel) contra *Echinococcus granulosus* juveniles y adultos, en perros experimentalmente infestados / M. C. del Campillo, J. R. S. T. Martínez, P. D. Baños, F. A. R. Vázquez // *Anales de la facultad de veterinaria de León*. — 1976. — Vol. 22, N 22. — P. 39–46.
279. Courtney C. H. Ivermectin for the control of swine scabies: relative values of pre-farrowing treatment of sows and weaning treatment of pigs / C. H. Courtney, W. L. Ingalls, S. L. Stitzlein // *American journal of veterinary research*. — 1983. — Vol. 44, N 7. — P. 1220–1223.
280. Craig T. M. Controlled evaluation of ivermectin in Shetland ponies / T. M. Craig, J. M. Kunde // *American journal of veterinary research*. — 1981. — Vol. 42, N 8. — P. 1422–1424.
281. Dey-Hazra A. The efficacy of Droncit (praziquantel) against tapeworm infections in dog and cat // *Veterinary medical review*. — 1976. — N 2. — P. 134–141.
282. Effect of different water-soluble additives on the sustained release of sulfanilamide from silicone rubber matrices // G. Di Colo, V. Carelli, E. Nannipieri [et al.] // *Il Farmaco; edizione pratica*. — 1983. — Vol. 37, N 12. — P. 377–389.
283. De Jong W. I. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards / W. H. De Jong, P. J. A Borm // *International journal of nanomedicine*. — 2008. — Vol. 3, N 2. — P. 133–149.

284. Diekmann H. W. The fate of praziquantel in the organism III. Metabolism in rat, beagle dog and rhesus monkey / H. W. Diekmann, K. U. Buhning // *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. — 1976. — Vol. 1, N 2. — P. 107–112.
285. Di Pietro J. A. Clinical trials of the antiparasitic activity of ivermectin in horses : [effective against large and small strongyles] / J. A. DiPietro, T. F. Lock, K. S. Todd // *Veterinary medicine and small animal clinician*. — 1982. — Vol. 77, N 9. — P. 1403–1406.
286. Anthelmintic efficacy of ivermectin given intramuscularly in horses / J. A. Di Pietro, K. S. Todd, T. F. Lock, T. A. McPherron // *American journal of veterinary research*. — 1982. — Vol. 43, N 1. — P. 145–148.
287. Dollery C. Praziquantel // *Therapeutic Drugs. Vol. 2 : I–Z* / ed. by C. Dollery [et al.]. — 2nd ed. — Edinburgh ; New York : Churchill Livingstone, 1999. — P. 184–188.
288. Preliminary investigation on the design of biodegradable microparticles for ivermectin delivery: set up of formulation parameters / R. Dorati, I. Genta, B. Colzani [et al.]. — DOI 10.3109/03639045.2014.935395 // *Drug development and industrial pharmacy*. — 2015. — Vol. 41, N 7. — P. 1182–1192.
289. Essais de prevention des strongyloses le diffuseur paratect / Ph. Dorchies, J. Euzeby, J. P. Le Stahg [et al.] // *American journal of veterinary research*. — 1982. — Vol. 43, N 1. — P. 724–738.
290. Dos J. F. H. Coronamide // *Die pharmazie*. — 1952. — Bd. 7. — S. 416–419.
291. Drummond R. O. Effectiveness of ivermectin for control of arthropod pests of livestock // *Southwestern entomologist. Supplement*. — 1985. — N 7. — P. 34–42.
292. Dushkin A. V. Mechanochemical synthesis of organic compounds and rapidly soluble materials // Sopicka-Lizer M. High-energy ball milling. Mechanochemical processing of nanopowders / M. Sopicka-Lizer. — Oxford : Woodhead, 2010. — P. 249–273.
293. Dushkin A. V. Complexes of polysaccharides and glycyrrhizic acid with drug molecules. Mechanochemical synthesis and pharmacological activity / A. V. Dushkin, T. G. Tolstikova, M. V. Khvostov, G. A. Tolstikov // *The complex world of polysaccharides* / ed. by D. N. Karunaratne. — [s. l.] : InTech, 2012. — P. 573–602.

294. Praziquantel : summ. rep. / the committee for medicinal products for veterinary use // European medicines agency. — London : EMEA, 1996. — N 141. — 3 p.
295. Inhibition and control of estrus and ovulation in ewes with a subcutaneous implant of silicone rubber impregnated with a progestogen / P. J. Dziuk, B. Cook, G. D. Niswender [et al.] // American journal of veterinary research. — 1968. — Vol. 29, N 12. — P. 2415–2417.
296. 22, 23-dihydroavermectin B1, a new broad-spectrum antiparasitic agent / J. R. Egerton, J. Birnbaum, L. S. Blair [et al.] // The British veterinary journal. — 1980. — Vol. 136, N 1. — P. 88–97.
297. The antiparasitic activity of ivermectin in horses / J. R. Egerton, E. S. Brokken, D. Suhayda [et al.] // Veterinary parasitology. — 1981. — Vol. 8, N 1. — P. 83–88.
298. Egerton J. R. The anthelmintic efficacy of ivermectin in experimentally infected cattle / J. R. Egerton, C. H. Eary, D. Suhayda // Veterinary parasitology. — 1981. — Vol. 8, N 1. — P. 59–70.
299. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes / Council of Europe. — Strasbourg, 1986. — 51 p. — (European treaty series, 123).
300. Euzeby J. Musk-rat, a model for multilocular echinococcosis experimental study. Effect of albendazole on echinococcosis process. Preliminary note / J. Euzeby, L. Hugonnet, Ch. Bencheikh-Elfegoun // Revue de medecine veterinaire. — 1982. — Vol. 133, N 8/9. — P. 559–561.
301. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Thirty-sixth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives // FAO food and nutrition paper. — 1991. — Vol. 41, N 3. — P. 1–119.
302. Fetterer P. H. Praziquantel, potassium and 2,4-dinitrophenol: analysis of their action on the musculature of *Schistosoma mansoni* / R. H. Fetterer, R. A. Pax, J. L. Bennett // European journal of pharmacology. — 1980. — Vol. 64, N 1. — P. 31–38.

303. Fink D. Pharmacokinetics of ivermectin in experimentally infected cattle / D. Fink, A. Porras // *Ivermectin and abamectin* / ed. by W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — P. 90–113.
304. Folkman J. The USE of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy / J. Folkman, D. M. Long. — DOI 10.1016/s0022-4804(64)80040-8 // *The journal of surgical research*. — 1964. — Vol. 4, N 3. — P. 139–142.
305. Frohberg H. Toxicological profile of praziquantel, a new drug against cestode and schistosome infections, as compared to some other schistosomicides / H. Frohberg, S. M. Schencking // *Arzneimittel-Forschung*. — 1981. — Vol. 31, N 3 A. — P. 555–565.
306. Frohberg H. Results of toxicological studies on praziquantel // *Arzneimittel-Forschung*. — 1984. — Vol. 34, N 9 B. — P. 1137–1144.
307. Goennert R. [Experimental studies on N-(2'-chloro-4'-nitrophenyl)-5-chlorosalicylamide, a new teniacide. I. Chemotherapeutic experiments] / R. Goennert, E. Schraufstatter // *Arzneimittel-Forschung*. — 1960. — Bd. 10. — S. 881–884. — [in German].
308. Gallie G. J. The efficacy of praziquantel against the cysticerci of *Taenia saginata* in calves / G. J. Gallie, M. M. H. Sewell. — DOI 10.1007/BF02235301 // *Tropical animal health and production*. — 1978. — Vol. 10, N 1. — P. 36–38.
309. Gemmell M. A. The effect of praziquantel on *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis* infections in dogs / M. A. Gemmell, P. D. Johnstone, G. Oudemans // *Research in veterinary science*. — 1977. — Vol. 23, N 1. — P. 121–123.
310. Gemmell M. A. The effect of route of administration on the efficacy of praziquantel against *Echinococcus granulosus* infections in dogs / M. A. Gemmell, P. D. Johnstone, G. Oudemans // *Research in veterinary science*. — 1980. — Vol. 29, N 1. — P. 31–132.
311. Gemmell M. A. The application of a food incorporating praziquantel in the treatment and control of *Echinococcus granulosus* infections in dogs / M. A. Gemmell,

- P. D. Johnstone, G. Oudemans. — DOI 10.1111/j.1751-0813.1982.tb00614.x // Australian veterinary journal. — 1982. — Vol. 58, N 3. — P. 120–121.
312. Gemmell M. A. Efficacy of praziquantel against ovine cysticercosis caused by *Taenia hydatigena* / M. A. Gemmell, P. D. Johnstone // Research in veterinary science. — 1983. — Vol. 34, N 2. — P. 199–204.
313. Gönnert R. Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent / R. Gönnert, P. Andrews // Zeitschrift für Parasitenkunde. — 1977. — Bd. 52, N 2. — S. 129–150.
314. Groll E. Cisticercosis humana y praziquantel: una apreciación panorámica de las primeras experiencias clínicas // Boletín Chileno de parasitología. — 1981. — Vol. 36, N 8. — P. 29–37.
315. Grosso L. S. Worker safety aspects of abamectin use in crop protection / L. S. Grosso, R. A. Dybas, S. F. Rickard // Ivermectin and abamectin / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 14. — P. 201–214.
316. Güldenhaupt H. The use of a morantel sustained release bolus in the seasonal control of parasitic gastroenteritis in second-season cattle / G. Güldenhaupt, H. J. Bürger. — DOI 10.1016/0304-4017(83)90037-7 // Veterinary parasitology. — 1983. — Vol. 12, N 3/4. — P. 313–320.
317. Halley B. A. The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate / B. A. Halley, T. A. Jacob, A. Y. H. Lu // Chemosphere. — 1989. — Vol. 18, N 7. — P. 1543–1563.
318. Halley B. A. Environmental aspects of ivermectin usage in livestock: general considerations / B. A. Halley, R. J. Nessel, A. Y. H. Lu // Ivermectin and abamectin / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 11. — P. 162–172.
319. The environmental safety of ivermectin: an overview / B. A. Halley, R. J. Nessel, A. Y. H. Lu [et al.] // Chemosphere. — 1989. — Vol. 18, N 7. — P. 1565–1572.

320. Halley B. A. Environmental effects of the usage of avermectins in livestock / B. A. Halley, W. J. A. Vanden Heuvel, P. G. Wislocki. — DOI 10.1016/0304-4017(93)90149-h // *Veterinary parasitology*. — 1993. — Vol. 48, N 1. — P. 109–125.
321. Validation of bioanalytical chromatographic methods / C. Hartmann, J. Smeyers-Verbeke, D. L. Massart, R. D. McDowall // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. — 1998. — Vol. 17, N 2. — P. 193–218.
322. Hecht Q. [Experimental studies on N-(2'-chloro-4'-nitrophenyl)-5-chlorosalicylamide, a new teniacide. 2. Toxicological studies] [Toxicological Untersuchungen von jomesan] / Q. Hecht, C. Qloxhuber // *Arzneimittel-Forschung*. — 1960. — Bd. 10. — S. 884–885. — [in German].
323. Herd R. P. Efficacy of ivermectin against *Onchocerca cervicalis* microfilarial dermatitis in horses // *American journal of veterinary research*. — 1983. — Vol. 44, N 6. — P. 1102–1105.
324. Horak J. G. Efficacy linter against monieziosis of sheep // *Journal of the South African veterinary medical association*. — 1964. — Vol. 35, N 2. — P. 161–166.
325. Hotson I. K. The avermectins: a new family of antiparasitic agents // *Journal of the South African veterinary association*. — 1982. — Vol. 53, N 2. — P. 87–90.
326. Jackson H. C. Ivermectin as a systemic insecticide. — DOI 10.1016/0169-4758(89)90079-3 // *Parasitology today*. — 1989. — Vol. 5, N 5. — P. 146–156.
327. The metabolism and tissue residue profiles of ivermectin / T. A. Jacob, R. P. Buhs, J. R. Carlin [et al.] // *Recent developments in the control of animal parasites : proc. of symp. «In association with XXII World veterinary congress», Perth, 25–26 Aug. 1983 / eds. W. M. D. Leaning, O. H. Siegmund, C. M. Fraser*. — Rahway : MSD AGVET, 1983. — P. 56–97.
328. Jones R. M. Current topics in veterinary medicine and animal science // *The commission of the European communities*. — 1981. — Vol. 9. — P. 349–363.
329. Jones R. M. Neue Methode der Wurmbekämpfung bei Rindern // *Rinderwelt*. — 1983. — Bd. 8, N 1. — S. 24–26.
330. Jones R. M. An economic and efficacy comparison between morantel (when administered from an intraruminal bolus) and conventional anthelmintic treatment in

- grazing cattle / R. M. Jones, D. H. Bliss. — DOI 10.1016/0304-4017(83)90035-3 // *Veterinary parasitology*. — 1983. — Vol. 12, N 3/4. — P. 297–306.
331. Pharmacokinetic study of praziquantel administered alone and in combination with cimetidine in a single-day therapeutic regimen / H. Jung, R. Medina, N. Castro [et al.]. — DOI 10.1128/AAC.41.6.1256 // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. — 1997. — Vol. 41, N 6. — P. 1256–1259.
332. Katiyar R. D. Anthelmintic efficacy of yomesan against tapeworms in sheep / R. D. Katiyar, R. K. Garg // *The Indian veterinary journal*. — 1966. — Vol. 43, N 4. — P. 310–314.
333. Khera K. S. Material toxicity – a possible factor in fetal malformations in mice. — DOI 10.1002/tera.1420290312 // *Teratology*. — 1984. — Vol. 29, N 3. — P. 411–416.
334. Klei T. R. Efficacy of ivermectin (22, 23-dihydroavermectin B1) against gastrointestinal parasites in ponies / T. R. Klei, B. J. Torbert // *American journal of veterinary research*. — 1980. — Vol. 41, N 11. — P. 1747–1750.
335. Efficacy of ivermectin in injectable and oral paste formulations against eight-week-old *Strongylus vulgaris* larvae in ponies / T. R. Klei, B. J. Torbert, M. R. Chapman, M. A. Turk // *American journal of veterinary research*. — 1984. — Vol. 45, N 1. — P. 183–185.
336. Kozakiewicz B. Der Einfluss einer wiederholten Massenbehandlung von Hunden mit Droncit (R)-Lösung auf die Häufigkeit der Hydatidose bei Hausschweinen // *Veterinär-medizinische Nachrichten*. — 1985. — Bd. 2. — S. 158–163.
337. Kozakiewicz B. The effect of periodic deworming of farm dogs on the extensity of *Echinococcus granulosus* cysts in pigs // *Taeniasis/cysticercosis & echinococcosis/hydatidosis : proc. of the second intern. symp., Ceske Budejovice, 02–07 Dec. 1985* / ed. J. Prokopič — Ceske Budejovice : Czech academy of sciences, 1986. — P. 42.
338. In vitro and in vivo drug release from a novel in situ forming drug delivery system / H. Kranz, E. Yilmaz, G. A. Brazeau, R. Bodmeier. — DOI 10.1007/s11095-007-9478-y // *Pharmaceutical research*. — 2008. — Vol. 25, N 6. — P. 1347–1354.

339. Krówczyński L. Nowe postacie leków. — Warszawa : Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 1967. — 152 p. : ill. — (Biblioteka lekarza praktyka).
340. Kruger K. The effect of ivermectin on the development and reproduction of the dung-breeding fly *Musca nevillei* Kleynhans (Diptera, Muscidae) / K. Krueger, C. H. Scholtz. — DOI 10.1016/0167-8809(94)00557-U // Agriculture, ecosystems & environment. — 1995. — Vol. 53, N 1. — P. 13–18.
341. Determination of active substances in binary mixture antiparasitic veterinary formulations by HPLC / A. Kulik, A. Szczotkowska, W. Białecka [et al.] // Acta Poloniae pharmaceutica: drug research. — 2011. — Vol. 68, N 4. — P. 467–472.
342. Evaluation of some novel techniques for dissolution enhancement of poorly water soluble drug nimodipine / S. Kumar, P. Kumar, C. Parkash, S. K. Singh // International journal of pharmtech research. — 2010. — Vol. 2, N 1. — P. 950–959.
343. Estimation of absolute oral bioavailability of moxidectin in dogs using a semi-simultaneous method: influence of lipid co-administration / E. Lallemand, A. Lespine, M. Alvinerie [et al.]. — DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00878.x // Journal of veterinary pharmacology and therapeutics. — 2007. — Vol. 30, N 5. — P. 375–380.
344. Lancas G. R. Toxicology / G. R. Lankas, L. R. Gordon // Ivermectin and abamectin / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 6. — P. 89–112.
345. Leaning W. H. D. The efficacy and safety evaluation of ivermectin: a new injectable antiparasitic agent for cattle / W. H. D. Leaning, R. A. Roncalli, E. S. Brokken // Recent developments in the control of animal parasites : proc. of symp. «In association with XXII World veterinary congress», Perth, 25–26 Aug. 1983 / eds. W. M. D. Leaning, O. H. Siegmund, C. M. Fraser. — Rahway : MSD AGVET, 1983. — P. 25.
346. Lee R. P. Efficacy of ivermectin against *Sarcoptes scabiei* in pigs / R. P. Lee, D. J. Dooge, J. M. Preston. — DOI 10.1136/vr.107.22.503 // The veterinary record. — 1980. — Vol. 107, N 22. — P. 503–505.
347. Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition / A. Lifschitz, G. Virkel, F. Imperiale [et al.]. — DOI 10.1046/j.1365-2885.1999.00222.x //

Journal of veterinary pharmacology and therapeutics. — 1999. — Vol. 22, N 4. — P. 266–273.

348. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: absorption pattern and pharmacokinetic considerations / A. Lifschitz, G. Virkel, M. Ballent [et al.]. — DOI 10.1016/j.vetpar.2007.04.009 // Veterinary parasitology. — 2007. — Vol. 147, N 3/4. — P. 303–310.

349. Patent N 4389397 United States, Int. Cl. A61K 31/70. Solubilization of ivermectin in water : N 304124/06 : date of filing 21.09.1981 : date of publ. 21.06.1983 / Lo A. P.-K., Williams J. B. — 5 p.

350. Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation / P. K. Lo, D. W. Fink, J. B. Williams, J. Blodinger. — DOI 10.1007/BF02215150 // Veterinary research communications. — 1985. — Vol. 9, N 4. — P. 251–268.

351. Terapêutica da teníase e da himenolepiase com as doses mais eficazes de praziquantel segundo nossa experiencia / G. Z. Louzada, F. Z. Louzada, T. Z. Louzada [et al.] // Arquivos brasileiros de medicina. — 1987. — Vol. 61, N 2. — P. 143–146.

352. Efficacy of ivermectin in controlling *Strongyloides westeri* infections in foals / K. G. Ludwig, T. M. Craig, J. M. Bowen [et al.] // American journal of veterinary research. — 1983. — Vol. 44, N 2. — P. 314–316.

353. Lyons E. T. Antiparasitic activity of ivermectin in critical tests in equids / E. T. Lyons, J. H. Drudge, S. C. Tolliver // American journal of veterinary research. — 1980. — Vol. 41, N 12. — P. 2069–2072.

354. Ivermectin: controlled test of anthelmintic activity in dairy calves with emphasis on *Dictyocaulus viviparus* / E. T. Lyons, S. C. Tolliver, J. H. Drudge, D. E. LeBore // American journal of veterinary research. — 1981. — Vol. 42, N 7. — P. 1225–1227.

355. Lyons E. T. Ivermectin: activity against larval *Strongylus vulgaris* and adult *Trichostrongylus axei* in experimental infections in ponies / E. T. Lyons, J. H. Drudge, S. C. Tolliver // American journal of veterinary research. — 1982. — Vol. 43, N 8. — P. 1449–1450.

356. Lyons E. T. Verification of ineffectual activity of ivermectin against adult *Onchocerca* spp in the ligamentum nuchae of horses / E. T. Lyons, J. H. Drudge,

- S. C. Tolliver // *American journal of veterinary research*. — 1988. — Vol. 49, N 7. — P. 983–985.
357. Madhu M. Biodegradable injectable implant systems for sustained delivery using poly (lactide-co-glycolide) copolymers / M. Madhu, L. Shaila, B. J. Anwar // *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. — 2009. — Vol. 1, N 1. — P. 103–107.
358. Magnano H. H. Uso de ivermectina en gastroenteritis verminosa y sarna en terneros de tambo // *Gaceta veterinaria*. — 1983. — Vol. 45, N 382. — P. 796–798.
359. Reproductive development and survival of *Lucilia cuprina* Wiedemann when fed sheep dung containing ivermectin / R. J. Mahon, K. G. Wardhaugh, A. C. M. van Gerwen, W. A. Whitby. — DOI 10.1016/0304-4017(93)90155-g // *Veterinary parasitology*. — 1993. — Vol. 48, N 1/4. — P. 193–204.
360. Marriner S. E. The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses / S. E. Marriner, I. McKinnon, J. A. Bogan. — DOI 10.1111/j.1365-2885.1987.tb00097.x // *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. — 1987. — Vol. 10, N 2. — P. 175–179.
361. Marshall I. The activity of drug/silicone rubber mixtures against *Schistosoma mansoni* in laboratory mice. — DOI 10.1080/00034983.1982.11687513 // *Annals of tropical medicine & parasitology*. — 1982. — Vol. 76, N 1. — P. 113–114.
362. Marshall I. The effects of sustained-release praziquantel on the survival of *Hymenolepis nana* in laboratory mice. — DOI 10.1080/00034983.1982.11687514 // *Annals of tropical medicine & parasitology*. — 1982. — Vol. 76, N 1. — P. 115–116.
363. Marshall I. The effects of sustained release praziquantel on the survival of protoscolices of *Echinococcus granulosus equinus* in laboratory mice / I. Marshall, G. T. Edwards. — DOI 10.1080/00034983.1982.11687596 // *Annals of tropical medicine and parasitology*. — 1982. — Vol. 76, N 6. — P. 649–651.
364. May J. Der Sortschritt in der Parasitenbekämpfung nutzen // *Unser Milchvieh*. — 1984. — Bd. 36, N 2. — S. 15–16.

365. McKeand J. The degradation of bovine faecal pats containing ivermectin / J. McKeand, K. Bairden, A. M. Ibarra-Silva. — DOI 10.1136/vr.122.24.587 // *Veterinary record*. — 1988. — Vol. 122, N 24. — P. 587–588.
366. Larvicidal activity of merck MK-933, an avermectin, against the horn fly, stable fly, face fly, and house fly¹² / J. A. Miller, S. E. Kunz, D. D. Oehler, R. W. Miller // *Journal of economic entomology*. — 1981. — Vol. 74, N 5. — P. 608–611.
367. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: isolation and chromatographic properties / T. W. Miller, L. Chalet, D. J. Cole [et al.]. — DOI 10.1128/AAC.15.3.368 // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. — 1979. — Vol. 15, N 3. — P. 368–371.
368. Mirck M. H. The efficacy of ivermectin against *Strongyloides westeri* in foals / M. H. Mirck, G. K. van Meurs. — DOI 10.1080/01652176.1982.9693845 // *The veterinary quarterly*. — 1982. — Vol. 4, N 2. — P. 89–91.
369. The metabolism of avermectins B1a, H2B1a, and H2B1b by liver microsomes / G. T. Miwa, J. S. Walsh, B. Arison [et al.] // *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. — 1982. — Vol. 10, N 3. — P. 268–274.
370. Mürmann P. Zur Verträglichkeit von Droncit: Zusammenfassung der Versuchsergebnisse / P. Mürmann, M. Eberstein, H. Froberg // *Veterinär-medizinische Nachrichten*. — 1976. — Bd. 5. — S. 142–153.
371. Nagaty H. F. A trial of Yomesan in Heterophyes infections / H. F. Nagaty, H. M. Khalil. — DOI 10.1016/S0140-6736(61)91294-6 // *The lancet*. — 1961. — Vol. 278, N 7218. — P. 1458.
372. Nagaty H. F. Clinical trials with «Yomesan» in *Hymenolepis nana* infection / H. F. Nagaty, M. A. Rifaat, S. Salem // *The journal of tropical medicine and hygiene*. — 1962. — Vol. 65. — P. 128–129.
373. Niec R. Acción antihelmíntica de la ivermectina en bovinos / R. Niec, C. Eddi, B. Gomez // *Revista de medicina veterinaria*. — 1982. — Vol. 61. — P. 456–458.
374. Nolan J. Evaluation of the potential of systemic slow release chemical treatments for control of the cattle tick (*Boophilus microplus*) using ivermectin / J. Nolan,

- H. J. Schnitzerling, P. Bird. — DOI 10.1111/j.1751-0813.1981.tb05778.x // Australian veterinary journal. — 1981. — Vol. 57, N 11. — P. 493–497.
375. Nugara D. The efficacy of Yomesan in removing *Moniezia* spp. and *Avitellina* spp. of tapeworms from goats // Ceylon veterinary journal. — 1963. — Vol. 11, N 3. — P. 91–92.
376. Clinical evaluation of ivermectin against migrating worm larvae in horses / J. Nuytten, E. Muylle, C. Hende [et al.]. — DOI 10.1111/j.1439-0450.1983.tb01855.x // Zentralblatt für Veterinärmedizin. — 1983. — Vol. 30, N 5. — P. 349–355.
377. Park J. Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs / J. Park, M. Ye, K. Park. — DOI 10.3390/10010146 // Molecules. — 2005. — Vol. 10, N 1. — P. 146–161.
378. Powers K. G. Use of silicone rubber implants for sustained release of antimalarial and antischistosomal agents // Journal of parasitology. — 1965. — Vol. 51. — P. 53.
379. Pharmacokinetics of ivermectin in sheep following intravenous, intra-abomasal or intraruminal administration / R. K. Prichard, J. W. Steel, E. Lacey, D. R. Hennessy. — DOI 10.1111/j.1365-2885.1985.tb00929.x // Journal of veterinary pharmacology and therapeutics. — 1985. — Vol. 8, N 1. — P. 88–94.
380. Rapić D. Anthelmintic activity of ivermectin against *Trichinella spiralis* larvae in rats and dynamics of ELISA titers in treated animals / D. Rapić, N. Džakula, D. Matić-Piantanida // Veterinarski arhiv. — 1982. — Vol. 52. — P. 131–139.
381. Reinecke R. K. Three new anthelmintics // Journal of the South African veterinary association. — 1962. — Vol. 33, N 2. — P. 245–247.
382. Efficacy of a new long-acting formulation of ivermectin and other injectable avermectins against induced *Psoroptes ovis* infestations in cattle / S. Rehbein, M. Visser, R. Winter, A. Maciel. — DOI 10.1007/s00436-002-0713-5 // Parasitology research. — 2002. — Vol. 88, N 12. — P. 1061–1065.
383. Robin B. Ivermectine: 22, 23 dihydroavermectine B1: un nouvel antiparasitaire a tres large spectre // Revue de medecine veterinaire. — 1983. — Vol. 134, N 8/9. — P. 495–498.

384. Robles-Castillo C. Tratamiento médico de la cisticercosis cerebral // Salud pública de México. — 1981. — Vol. 23, N 5. — P. 443–450.
385. Rommell M. Zur Wirksamkeit von Praziquantel gegen Bandwürmer in experimentell infizierten Hunden und Katzen / M. Rommell, H. Grelck, F. Hörchner // Die Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift. — 1976. — Vol. 89. — P. 255–257.
386. Roncalli R. A. The efficacy of ivermectin against *Oestrus ovis* in sheep // The American association of veterinary parasitologists : proc. 28-th annual meeting, New-York, 17–18 July 1983 / Amer. assoc. of veterinary parasitologists ; ed. K. R. Kazacos. — New-York, 1983. — P. 53.
387. Roncalli R. A. Environmental aspects of use of ivermectin and abamectin in livestock: effects on cattle dung fauna // Ivermectin and abamectin / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 12. — P. 173–181.
388. Roseman T. J. Release of medroxyprogesterone acetate from a silicone polymer / T. J. Roseman, W. I. Higuchi. — DOI 10.1002/jps.2600590317 // Journal of pharmaceutical sciences. — 1970. — Vol. 59, N 3. — P. 353–357.
389. Sakamoto T. Die anthelminthisch Wirkung von Droncit auf adulte Bandwürmer der Arten *Hydatigera taeniaeformis*, *Mesocestoides corti*, *Echinococcus multilocularis*, *Diphyllobothrium erinacei* und *D. latum* // Veterinär-medizinische Nachrichten. — 1977. — Vol 1. — P. 64–74.
390. Formulation and development of in situ implants of cytarabine / J. Santhosh, R. T. Pradeep, B. D. S. Ravindra [et al.] // International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. — 2012. — Vol. 4, Suppl. 5. — P. 412–420.
391. Tratamiento infecciones por *hymenolepis nana* en niños con una dosis oral de praziquantel repetida con tres días de intervalo / H. Schenone, F. Villarroel, V. Subiabre [et al.] // Boletín Chileno de parasitología. — 1980. — Vol. 35, N 1/2. — P. 6–9.
392. Stone D. C. Statistics tutorial – instrumental analysis and calibration // D. C. Stone, J. Ellis // University of Toronto, department of chemistry : [website]. — 2006–2008. —

URL: <http://www.chem.utoronto.ca/coursenotes/analsci/stats/LimDetect.html> (access: 20.10.2021).

393. Studying the safety of praziquantel in dogs / J. A. Shmidl, D. D. Cox, H. D. McCurdy, M. L. Kohlenberg // *Veterinary medicine*. — 1986. — Suppl. 2. — P. 22–25.

394. Schmidt C. D. Activity of an avermectin against selected insects in aging manure // *Environmental entomology*. — 1983. — Vol. 12, N 2. — P. 455–457.

395. Shmidl J. A. Evaluating the safety of a febantel/praziquantel paste combination / J. A. Shmidl, M. L. Kohlenberg, H. D. McCurdy // *Veterinary medicine*. — 1986. — Vol. 9. — P. 13–15.

396. Shrivastava A. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods / A. Shrivastava, V. B. Gupta. — DOI 10.4103/2229-5186.79345 // *Chronicles of young scientists*. — 2011. — Vol. 2, N 1. — P. 21–25.

397. Seubert J. Synthesis and properties of praziquantel, a novel broad spectrum anthelmintic with excellent activity against Schistosomes and Cestodes / J. Seubert, R. Pohlke, F. Loebich. — DOI 10.1007/BF01945954 // *Experientia*. — 1977. — Vol. 33, N 8. — P. 1036–1037.

398. Cestocur (Praziquantel) – ein neues Bandwurmmittel für das Schaf / R. Schuster, E. Grzonka, U. Discher, H. C. Mundt // *Der Praktische Tierarzt*. — 1998. — Vol. 79, N 4. — P. 347–354.

399. Shinde A. J. Solubilization of poorly soluble drugs / A. J. Shinde, R. Tyagi // *Pharmainfo*. — 2007. — Vol. 5, N 6. — P. 36–44.

400. An eprinomectin extended-release injection formulation providing nematode control in cattle for up to 150 days / M. D. Soll, B. N. Kunkle, G. C. Royer [et al.]. — DOI 10.1016/j.vetpar.2012.11.037 // *Veterinary parasitology*. — 2013. — Vol. 192, N 4. — P. 313–320.

401. Patent N 8362086 United States, Int. Cl. A61K 31/63, A61K 31/7048. Long acting injectable formulations : N 207980/11 : date of filing 19.08.2005 : date of publ. 29.01.2013 / Soll M. D., Hanson P., Kumar K., Tejwani-Motwani M. — 36 p.

402. Southworth J. Use of praziquantel for the control of *Moniezia expansa* in lambs / J. Southworth, C. Harvey, S. Larson // *New Zealand veterinary journal*. — 1996. — Vol. 44, N 3. — P. 112–115.
403. Administration of praziquantel in neurocysticercosis / A. Spina-França J. P. Nobrega, J. A. Livramento, L. R. Machado // *Tropenmedizin und Parasitologie*. — 1982. — Vol. 33, N 1. — P. 1–4.
404. Stampa S. Trials with Bayer 2353 and other drugs as cestocides for ruminants / S. Stampa, H. J. J. Terblanche // *Journal of the South African veterinary association*. — 1961. — Vol. 32, N 3. — P. 367–371.
405. Sotelo J. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocysticercosis / J. Sotelo, H. Jung. — DOI 10.2165/00003088-199834060-00006 // *Clinical pharmacokinetics*. — 1998. — Vol. 34, N 6. — P. 503–515.
406. The fate of praziquantel in the organism: pharmacokinetics in animals / K. Steiner, A. Garbe, H. W. Diekmann, H. Nowak. — DOI 10.1007/BF03189262 // *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. — 1976. — Vol. 1, N 2. — P. 85–95.
407. Steiner K. The fate of praziquantel in the organism: distribution in rats / K. Steiner, A. Garbe. — DOI 10.1007/BF03189263 // *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. — 1976. — Vol. 1, N 2. — P. 97–106.
408. Stewart T. B. Efficacy of ivermectin against five genera of swine nematodes and the hog louse, *Haematopinus suis* / T. B. Stewart, O. G. Marti, O. M. Hale // *American journal of veterinary research*. — 1981. — Vol. 42, N 8. — P. 1425–1426.
409. Strong L. Effects of ivermectin and moxidectin on the insects of cattle dung / L. Strong, R. Wall // *Bulletin of entomological research*. — 1994. — Vol. 84, N 3. — P. 403–409.
410. Swan G. E. Persistent anthelmintic effect of ivermectin in cattle / G. E. Swan, R. G. Harvey // *Journal of the South African veterinary association*. — 1983. — Vol. 54, N 4. — P. 249–250.
411. Teichert H. G. Versuche mit dem Bandwurmmittel «Yomesan» bei Schafen // *Die Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. — 1963. — Bd. 50, N 11. — S. 1023–1027.

412. Thakur A. S. Empleo de praziquantel solo y en combinacion con el bromhidrato de arecolina para el tratamiento contra *Echinococcus granulosus* en perros / A. S. Thakur, C. S. Eddi, U. Prezioso // *Revista de medicina veterinaria*. — 1979. — Vol. 60, N 3. — P. 154–157.
413. Tharaldsen J. The effect of the morantel sustained release bolus in young cattle under Norwegian conditions / J. Tharaldsen, O. Helle // *Nordisk veterinærmedicin*. — 1982. — Vol. 34, N 12. — S. 464–470.
414. Thomas H. The efficacy of praziquantel against cestodes in cats, dogs and sheep / H. Thomas, R. Gönnert // *Research in veterinary science*. — 1978. — Vol. 24, N 1. — P. 20–25.
415. Thomas H. The efficacy of praziquantel on cysticercosis // *The fourth International Congress of Parasitology: proc. of the conference of the World Federation of parasitologists, Warszawa, 19–26 Aug. 1978 / Kom. Parazytologiczny ; ed. W. Slusarski. — Warsawa: Organizing Committee of the Congress, 1979. — P. 140.*
416. Thompson R. C. Praziquantel adversely affects protoscoleces of *Echinococcus granulosus* in vitro / R. C. Thompson, J. A. Reynoldson, C. R. Riddler. — DOI 10.1017/s0022149x00008488 // *Journal of helminthology*. — 1986. — Vol. 60, N 4. — P. 279–286.
417. Tinar R. The efficacy of praziquantel (Droncit, Embay 8440) against *Hymenolepis nana* in mice / R. Tinar, A. Burgy // *Ankara üniversitesi veteriner fakültesi dergisi*. — 1978. — Vol. 25, N 3. — P. 366–371.
418. Determination of avermectins in plasma at nanogram levels using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection / J. W Tolan, P. Eskola, D. W. Fink [et al.]. — DOI 10.1016/s0021-9673(00)88241-2 // *Journal of chromatography*. — 1980. — Vol. 190, N 2. — P. 367–376.
419. Torbert B. J. Efficacy of injectable and oral paste formulations of ivermectin against gastrointestinal parasites in ponies / B. J. Torbert, B. S. Kramer, T. R. Klei // *American journal of veterinary research*. — 1982. — Vol. 43, N 8. — P. 1451–1453.

420. Turner M. J. Mode of action of ivermectin / M. J. Turner, J. M. Schaeffer // Ivermectin and abamectin / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 5. — P. 73–88.
421. Tway P. C. Determination of ivermectin in cattle and sheep tissues using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection / T. C. Tway, J. S. Wood, G. V. Downing. — DOI 10.1021/jf00107a041 // Journal of agricultural and food chemistry. — 1981. — Vol. 29, N 5. — P. 1059–1063.
422. Veen T. W. S. Anthelmintic activity of ivermectin in pigs naturally infected with *Ascaris* and *Trichuris* / T. W. S. Veen, C. D. Gibson // American journal of veterinary research. — 1983. — Vol. 44, N 9. — P. 1732–1733.
423. Verster A. Treatment of the larval stage of *Taenia multiceps* with praziquantel / A. Verster, R. C. Tustin // Journal of the South African veterinary association. — 1982. — Vol. 53, N 2. — P. 107–108.
424. Wall R. Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin / R. Wall, L. Strong. — DOI 10.1038/327418a0 // Nature. — 1987. — Vol. 327, N 6121. — P. 418–421.
425. Effects of ivermectin residues in sheep dung on the development and survival of the bushfly, *Musca vetustissima* Walker and a scarabaeine dung beetle, *Euoniticellus fulvus* Goeze / K. G. Wardhaugh, R. J. Mahon, A. Axelsen [et al.]. — DOI 10.1016/0304-4017(93)90151-c // Veterinary parasitology. — 1993. — Vol. 48, N 1/4. — P. 139–157.
426. Weniger B. G. Praziquantel and refugee health / B. G. Weniger, P. M. Schantz // The journal of the American medical association. — 1984. — Vol. 251, N 18. — P. 2391–2392.
427. Efficacy of avermectin B1a for treatment of experimentally induced nematode infections in cattle / R. B. Wescott, C. J. Farrell, A. M. Gallina, W. J. Foreyt // American journal of veterinary research. — 1980. — Vol. 41, N 8. — P. 1326–1328.
428. Wescott R. B. Efficacy of ivermectin against naturally acquired and experimentally induced nematode infections in sheep / R. B. Wescott, B. R. LeaMaster // American journal of veterinary research. — 1982. — Vol. 43, N 3. — P. 531–533.

429. The efficiency of praziquantel against immature stage of *Echinococcus granulosus* in dogs / T. Wikerhauser, J. Brglez, V. Euticic, B. Koželj // *Acta parasitologica Iugoslavica*. — 1976. — Vol. 7. — P. 33–36.
430. Experimental prepatent echinococcosis: parasitological and histological findings in the small intestine of untreated and Droncit-treated dogs / T. Wikerhauser, J. Brglez, B. Maržan, B. Koželj // *Veterinarski arhiv*. — 1982. — Vol. 52. — P. 65–69.
431. Efficacy of an injectable preparation of praziquantel against immature *Echinococcus granulosus* in dogs / T. Wikerhauser, J. Brglez, N. Dzakula, B. Kozelj // *Acta parasitologica Iugoslavica*. — 1979. — Vol. 10, N 1/2. — P. 65–70.
432. Development of PLGA-based injectable delivery systems for hydrophobic fenretinide / C. Wischke, Y. Zhang, S. Mittal, S. P. Schwendeman. — DOI 10.1007/s11095-010-0202-y // *Pharmaceutical research*. — 2010. — Vol. 27, N 10. — P. 2063–2074.
433. Wislocki P. G. Environmental aspects of abamectin use in crop protection / P. G. Wislocki, L. S. Grosso, R. A. Dybas // *Ivermectin and abamectin* / ed. W. C. Campbell. — New York : Springer-Verlag, 1989. — Chap. 13. — P. 182–200.
434. Yapar E. A. Effects of solvent combinations on drug release from injectable phase sensitive liquid implants / E. A. Yapar, T. Baykara // *Turkish journal of pharmaceutical sciences*. — 2010. — Vol. 7, N 1. — P. 49–56.
435. Yapar E. Investigation of in vitro and in vivo performance of injectable in situ implants / E. A. Yapar, T. Baykara, N. Ari // *Turkish journal of pharmaceutical sciences*. — 2010. — Vol. 7, N 1. — P. 9–20.
436. Dissolution behavior and bioavailability of phenytoin from a ground mixture with microcrystalline cellulose / K. Yamamoto, M. Nakano, T. Arita [et al.]. — DOI 10.1002/jps.2600651017 // *Journal of pharmaceutical sciences*. — 1976. — Vol. 65, N 10. — P. 1484–1488.
437. Anthelmintic activities of ivermectin against gastrointestinal nematodes of cattle / T. A. Yazwinski, M. Williams, T. Greenway, W. Tilley // *American journal of veterinary research*. — 1981. — Vol. 42, N 3. — P. 481–482.

438. Effectiveness of ivermectin in the treatment of equine *Parascaris equorum* and *Oxyuris equi* infections / T. A. Yazwinski, D. Hamm, M. Williams [et al.] // *American journal of veterinary research*. — 1982. — Vol. 43, N 6. — P. 1095.
439. Antiparasitic efficacy of ivermectin in naturally parasitized sheep / T. A. Yazwinski, T. Greenway, B. L. Presson [et al.] // *American journal of veterinary research*. — 1983. — Vol. 44, N 11. — P. 2186–2187.
440. Antiparasitic effectiveness of ivermectin in the horse / T. A. Yazwinski, D. Hamm, T. Greenway, W. Tilley // *American journal of veterinary research*. — 1982. — Vol. 43, N 6. — P. 1092–1094.
441. [Efficacy of praziquantel silicone elastomers on animals infected with *Schistosoma japonicum*] / W. J. Yue, J. Q. You, J. Y. Mei, S. H. Xiao // *Zhongguo yao li xue bao*. — 1987. — Vol. 8, N 4. — P. 362–365.
442. Zettl K. Experiment with the tapeworm control material Yomesan in sheep herds of North-Hesse // *Veterinär-medizinische Nachrichten*. — 1962. — Vol. 1. — P. 19–33.
443. Žuković M. Efficacy of Ivermectin (MK 933) against *Metastrongylus* spp., *Ascaris suum* and *Trichuris suis* in pigs / M. Žuković, N. Džakula, D. Rapić // *Veterinarski arhiv*. — 1982. — Vol. 52. — P. 31–35.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2495673

**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПСОРОПТОЗА
ОВЕЦ**

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной
ответственностью "Научно-внедренческий центр
Агроветзащита" (RU)*

Автор(ы): *Енгатшева Екатерина Сергеевна (RU)*

Заявка № 2012143259

Приоритет изобретения **10 октября 2012 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации **20 октября 2013 г.**

Срок действия патента истекает **10 октября 2032 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.Л. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**НА ИЗОБРЕТЕНИЕ
№ 2568906**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ПЛОТОЯДНЫХ
ЖИВОТНЫХ**

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной
ответственностью "Научно-внедренческий центр
Агроветзащита" (RU), Енгашев Сергей Владимирович (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2014152771

Приоритет изобретения **25 декабря 2014 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации **23 октября 2015 г.**

Срок действия патента истекает **25 декабря 2034 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 568 906** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 31/35 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2014152771/15, 25.12.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.12.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2014

(45) Опубликовано: 20.11.2015 Бюл. № 32

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: МУРОМЦЕВ А.Б. И ДР. Эффективный отечественный противопаразитарный препарат монизен в пантовом оленеводстве//Международный вестник ветеринарии, 2012. N3. " с. 17-20. RU 2155052 C1, 27.08.2000. KR 20030090866 A, 01.12.2003.

Адрес для переписки:

129329, Москва, ул. Кольская, 1, стр. 1, ООО
"Научно-внедренческий центр "Агроветзащита",
А.И. Филипповой

(72) Автор(ы):

Енгашев Сергей Владимирович (RU),
Енгашева Екатерина Сергеевна (RU),
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU),
Кузнецова Надежда Викторовна (RU),
Даугалиева Эмма Хасановна (RU),
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),
Мелнис Райтис Иварович (RU),
Акбаев Рамазан Магомедович (RU),
Пашкин Александр Васильевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-внедренческий центр
Агроветзащита" (RU),
Енгашев Сергей Владимирович (RU)

(54) **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ПЛОТЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ**(57) **Формула изобретения**

1. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных, включающий пероральное введение препарата из группы авермектинов, отличающийся тем, что животным задают перорально с водой для поения 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 в дозе 0,01-0,03 мл на кг массы.

2. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что птице и свиньям 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 задают перорально индивидуально или групповым способом в суточной дозе 0,01 мл на 1 кг массы, при этом выпаивают приготовленный лечебный раствор при нематодозах однократно, при арахноэнтомозах - двукратно с интервалом 14 суток.

3. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что при чешуйчатой, ювенильной и генерализованной формах демодекоза, а также при саркоптозе 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 плотоядным животным задают перорально через 1-1,5 часа после еды один раз в день через два дня на третий в количестве 3-10 доз на курс.

4. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что при генерализованной форме демодекоза рецидивирующего типа 4% раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 задают плотоядным животным один раз в день каждый день в течение 30 дней.

5. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что в случае необходимости дополнительно плотоядным животным проводят неспецифическую и иммунокорректирующую терапию.

6. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 5, отличающийся тем, что в качестве неспецифической терапии животным местно на пораженные участки кожи наносят амитразин или смазывают пораженные участки кожи маслом персика с добавлением масла лаванды, кроме того, один раз в неделю купают животных с шампунем на хлоргексидине, а в качестве иммунокорректирующей терапии животным вводят риботан внутримышечно или генферон в форме свечей.

R U 2 5 6 8 9 0 6 C 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2635514

**ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ГЕЛЬМИНТОЗОВ ЖИВОТНЫХ**

Патентообладатель: *Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-внедренческий центр Агроветзащита (ООО "НВЦ
Агроветзащита") (RU)*

Авторы: *Енгашева Екатерина Сергеевна (RU), Халиков Салават
Самадович (RU), Архипов Иван Алексеевич (RU)*

Заявка № 2016140369

Приоритет изобретения **13 октября 2016 г.**

Дата государственной регистрации в

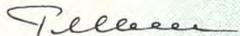
Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **13 ноября 2017 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **13 октября 2036 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2611387

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНОГО
ПРЕПАРАТА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ
ЖИВОТНЫХ**

Патентообладатель: *Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-внедренческий центр Агроветзащита" (ООО "НВЦ
Агроветзащита") (RU)*

Авторы: *Енгашева Екатерина Сергеевна (RU), Кедик
Станислав Анатольевич (RU), Шняк Елизавета
Александровна (RU), Суслов Василий Викторович (RU),
Даугалиева Эмма Хасановна (RU), Енгашева Ирина
Викторовна (RU), Кустарева Ирина Александровна (RU)*

Заявка № 2016114015

Приоритет изобретения 12 апреля 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 21 февраля 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 12 апреля 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2659174

**ПРОТИВОПАЗИТАРНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ
ЗАЩИТЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

Патентообладатель: *Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-внедренческий центр Агроветзащита" (ООО "НВЦ
Агроветзащита") (RU)*

Авторы: *Енгатшева Екатерина Сергеевна (RU), Суслов Василий
Викторович (RU), Кедик Станислав Анатольевич (RU),
Шняк Елизавета Александровна (RU)*

Заявка № 2017130834

Приоритет изобретения 31 августа 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 28 июня 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 31 августа 2037 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2709535

**Способ профилактики и лечения паразитарных болезней
сельскохозяйственных животных и птиц**

Патентообладатели: *Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-внедренческий центр Агроветзащита" (ООО "НВЦ
Агроветзащита") (RU), Енгашев Сергей Владимирович (RU)*

Авторы: *Дорожкин Василий Иванович (RU), Енгашева
Екатерина Сергеевна (RU), Енгашев Сергей Владимирович
(RU)*

Заявка № 2019101619

Приоритет изобретения 22 января 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 18 декабря 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 22 января 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
 Отделение сельскохозяйственных наук
 Всероссийский научно-исследовательский институт
 ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал
 Федерального государственного бюджетного научного учреждения
 «Федеральный научный центр – Всероссийский
 научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
 имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель академика-секретаря
 Отделения сельскохозяйственных наук РАН,
 руководитель Центра зоотехнии и ветеринарии,
 академик РАН
 В.В. Калашников
 «*В.В. Калашников*» 2021 г.



МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

по технологии приготовления супрамолекулярного комплекса Никломек
 для профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота

Москва – 2021

«Методические рекомендации по технологии приготовления супрамолекулярного комплекса Никломек для профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота» разработаны в лаборатории фармакологии и токсикологии Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ВНИИВСГЭ-филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) совместно с лабораторией экспериментальной терапии ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, лабораторией активных фторорганических соединений ФГБУН ИНЭОС РАН.

Авторы: с.н.с., к.в.н. Енгашева Е.С., акад. РАН, д.б.н., проф. В.И. Дорожкин, в.н.с., к.б.н. Павленко Г.И., д.в.н., проф. Архипов И.А., д. тех. н. Халиков С.С.

В документе представлены рекомендации по приготовлению супрамолекулярного комплекса ивермектина и никлозамида с поливинилпирролидоном. Препарат разработан с использованием твердофазной механохимической технологии, позволяющей получать твердые дисперсии веществ, способных повышать растворимость и биодоступность плохо растворимых субстанций в 5-10 раз, а также увеличивать антигельминтную эффективность. Описаны этапы механохимической технологии получения супрамолекулярного комплекса.

Методические рекомендации предназначены для специалистов в области фармацевтической химии, механохимии органических веществ, супрамолекулярной химии, медицины и ветеринарии, а также могут быть использованы при проведении научно-исследовательских работ с целью разработки новых лекарственных средств широкого круга действия.

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
 Отделение сельскохозяйственных наук
 Всероссийский научно-исследовательский институт
 ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал
 Федерального государственного бюджетного научного учреждения
 «Федеральный научный центр – Всероссийский
 научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
 имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель академика-секретаря
 Отделения сельскохозяйственных наук РАН,
 руководитель секции зоотехнии и ветеринарии,
 академик РАН
 В.В. Калашников



2021 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

по применению супрамолекулярного комплекса Никломек для
 профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота

Москва – 2021

«Методические рекомендации по применению супрамолекулярного комплекса Никломек для профилактики и лечения гельминтозов мелкого рогатого скота» разработаны в лаборатории фармакологии и токсикологии Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ВНИИВСГЭ-филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) совместно с лабораторией экспериментальной терапии ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, лабораторией активных фторорганических соединений ФГБУН ИНЭОС РАН.

Авторы: с.н.с., к.в.н. Енгашева Е.С., акад. РАН, д.б.н., проф. В.И. Дорожкин, в.н.с., к.б.н. Павленко Г.И., д.в.н., проф. Архипов И.А.

В документе представлены рекомендации по применению супрамолекулярного комплекса ивермектина и никлозамида с поливинилпирролидоном при гельминтозах овец. Препарат разработан с использованием твердофазной механохимической технологии, позволяющей получать твердые дисперсии веществ, способных повышать растворимость и биодоступность плохо растворимых субстанций в 5-10 раз, а также увеличивать антигельминтную эффективность. Описаны рекомендации по рациональному применению Никломека при нематодозах и цестодозах мелкого рогатого скота.

Методические рекомендации предназначены для специалистов в области фармацевтической химии, медицины и ветеринарии, а также могут быть использованы при проведении научно-исследовательских работ с целью разработки новых лекарственных средств широкого круга действия.

НАУЧНАЯ МЫСЛЬ



Е.С. Енгатшева, И.А. Архипов, С.С. Халиков

ИННОВАЦИОННЫЙ АНТИГЕЛЬМИНТИК —
СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС
НИКЛОМЕК



УДК 615.284.012
ББК 52.817.211.7
Е61

ФЗ № 436-ФЗ	Издание не подлежит маркировке в соответствии с п. 1 ч. 2 ст. 1
----------------	--

Авторы:

Енгашева Е.С. — канд. вет. наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии, токсикологии, Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) (Москва);

Архипов И.А. — доктор вет. наук, профессор, заведующий лабораторией экспериментальной терапии, Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений (филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) (Москва);

Халиков С.С. — доктор техн. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных фторорганических соединений, ФГБНУ Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (Москва)

Рецензенты:

Мовсесян С.О. — доктор биол. наук, член-корреспондент РАН, Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва);

Михайлицын Ф.С. — доктор фарм. наук, профессор, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Москва)

Ответственный редактор:

Лаугалиева Э.Х. — доктор вет. наук, профессор

Енгашева Е.С., Архипов И.А., Халиков С.С.

Е61

Инновационный антигельминтик — супрамолекулярный комплекс никломека : монография / Е.С. Енгашева, И.А. Архипов, С.С. Халиков. — М. : РИОР, 2018. — 156 с. — (Научная мысль). — DOI: <https://doi.org/10.29039/0893-5>

ISBN 978-5-369-00893-5

Монография посвящена созданию нового инновационного антигельминтика на основе супрамолекулярного комплекса ивермектина и никлозамида с поливинилпирролидоном. Препарат разработан с использованием твердофазной механохимической технологии, позволяющей получать твердые дисперсии препаратов, способных повышать растворимость и биодоступность плохо растворимых субстанций в 5–10 раз, а также увеличивать антигельминтную эффективность. Описаны результаты изучения антигельминтной активности супрамолекулярных комплексов никломека на лабораторных моделях трихинеллеза и гименолепидоза, а также данные по их эффективности при лечении сельскохозяйственных животных (овец) против цестод и нематод разных видов.

Адресована специалистам в области фармацевтической химии, механохимии органических веществ, супрамолекулярной химии, медицины и ветеринарии, а также всем интересующимся современными тенденциями в области химии, биологии и медицины.

УДК 615.284.012
ББК 52.817.211.7

© Е.С. Енгашева,
И.А. Архипов,
С.С. Халиков

ISBN 978-5-369-00893-5



Общество с ограниченной
ответственностью
«НВЦ Агроветзащита С-П.»

Россия, 141305,
Московская область,
г. Сергиев Посад,
ул. Центральная, д. 1
Тел./факс (495) 729-41-64

ИНН 5042113943
КПП 504201001
ОГРН 1105042003439

1.02.21. № 134

По месту требования

Справка о внедрении результатов исследований

Общество с ограниченной ответственностью «НВЦ Агроветзащита С – П.» подтверждает, что результаты работы по изучению фармако-токсикологических свойств препаратов ИВЕРСАН® и МОНИЗЕН® форте старшего научного сотрудника лаборатории фармакологии и токсикологии ВНИИВСГЭ - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН кандидата ветеринарных наук Енгашевой Екатерины Сергеевны явились основой для разработки инструкции по их применению и Стандарта организации. «Инструкция по применению лекарственного препарата ИВЕРСАН®», СТО 76069684-0188-2014, «Инструкция по применению лекарственного препарата МОНИЗЕН® форте», СТО 76069684-0246-2017 утверждены Россельхознадзором РФ в установленном порядке. Номер регистрационного удостоверения препарата ИВЕРСАН® 77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238, номер регистрационного удостоверения препарата МОНИЗЕН® форте 77-3-10.19-4509№ПВР-3-10.19/03484. Налажен серийный выпуск данных препаратов на предприятии ООО «АВЗ С-П» (Россия, Московская область, г. Сергиев Посад, ул. Центральная, д. 1). С 2015 года выпущено 292 472 флаконов препарата ИВЕРСАН® для реализации на территории РФ, 1558 флаконов для реализации в странах ближнего зарубежья. С 2019 года выпущено 3956 флаконов препарата МОНИЗЕН® форте для орального применения, 116 897 флаконов МОНИЗЕН® форте для парентерального применения для реализации на территории РФ, 4 200 флаконов МОНИЗЕН® форте для орального применения, 1056 флаконов МОНИЗЕН® форте для инъекций для реализации в странах ближнего зарубежья.

Генеральный директор



Касьянов А.А.

Форма



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ

**Регистрационное удостоверение
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ 003303

Номер регистрационного удостоверения: _____
77-3-12.15-2913 № ПВР-3-12.15/03238

Дата государственной регистрации « 18 » _____ декабря _____ 20 15 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения
лекарственного препарата: ООО "НВЦ Агроветзащита" Россия, 129329, г.
Москва, ул. Кольская, д. 1, стр. 1

Наименование и адрес юридического лица-разработчика лекарственного препарата:
ООО "НВЦ Агроветзащита" Россия, 129329, г. Москва, ул. Кольская, д. 1, стр. 1

Торговое наименование лекарственного препарата: Иверсан

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое
наименование лекарственного препарата: ивермектин

Лекарственная форма: раствор для орального применения

Дозировка: 4000 мг

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно со сроком действия 5 лет
(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя _____ (должность)



Н. А. Власов
(Ф.И.О.)

М. П. 

Общество с ограниченной ответственностью
«Научно-внедренческий центр Агроветзащита»

СТАНДАРТ ООО «НВЦ Агроветзащита»

СТО 76069684-0188-2014

СОГЛАСОВАНО
Заместитель Руководителя
Россельхознадзора



А.А. ЕЛАСОВ

18.12.2015

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «НВЦ Агроветзащита»



С.В. Енгашев

ИВЕРСАН
Технические условия

СОГЛАСОВАНО
Зам. директора ФГБУ «ВГНКИ»,



А.А. Комаров

Москва 2015 г.



ИНСТРУКЦИЯ
 по ветеринарному применению лекарственного препарата ИВЕРСАН®

(Организация-разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита»,
 129329, Россия, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр. 2.)

Номер регистрационного удостоверения 44-3-2.19-4435/17BP-3-12.15/03238

I. Общие сведения

1. Наименование лекарственного препарата для ветеринарного применения:
 торговое наименование - ИВЕРСАН® (IVERSAN®)
 международное непатентованное наименование - ивермектин.
2. Лекарственная форма: раствор для орального применения.
 ИВЕРСАН® в качестве действующего вещества в 1 мл содержит ивермектин – 40 мг и вспомогательные вещества: витамин Е полиэтиленгликоль сукцинат (Kolliphor TPGS) и полиэтиленгликоль-400.
3. По внешнему виду препарат представляет собой прозрачную маслянистую жидкость зеленовато-желтого цвета.
 Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 2 года со дня производства, после первого вскрытия упаковки – 42 дня.
 Запрещается применение лекарственного препарата по истечении срока годности.
4. Выпускают лекарственный препарат расфасованным по 10, 20, 50, 100 и 250 мл в полимерные флаконы и флаконы темного стекла соответствующей вместимости, укупоренные резиновыми пробками и обкатанными алюминиевыми колпачками, или полимерными навинчиваемыми крышками с контролем первого вскрытия; по 0,5 и 1,0 л в полимерные бутылки; по 2,5 и 5,0 л в полимерные канистры соответствующей вместимости, укупоренные навинчиваемыми крышками. Флаконы по 10, 20 и 50 мл индивидуально упаковывают в картонные пачки. Каждую потребительскую упаковку снабжают инструкцией по применению.
5. ИВЕРСАН® хранят в закрытой упаковке производителя в защищённом от прямых солнечных лучей месте, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5 °С до 25°С.
6. ИВЕРСАН® следует хранить в местах, недоступных для детей.
7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.
8. Условия отпуска: без рецепта ветеринарного врача.

II. Фармакологические свойства

9. ИВЕРСАН® относится к противопаразитарным лекарственным препаратам класса макроциклических лактонов.

10. Ивермектин, входящий в состав препарата, активен в отношении личиночных и половозрелых фаз развития нематод желудочно-кишечного тракта и легких, блох, вшей, власоедов, пухопероедов, кровососок, личинок подкожных, носоглоточных, желудочных оводов, саркоптоидных и гамазовых клещей, паразитирующих у свиней, крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, сельскохозяйственных птиц, пушных зверей и собак.

Механизм действия ивермектина, заключается в его влиянии на величину тока ионов хлора через мембраны нервных и мышечных клеток паразита. Основной мишенью являются глутаматчувствительные хлорные каналы, а также рецепторы гамма-аминомасляной кислоты. Изменение тока ионов хлора нарушает проведение нервных импульсов, что приводит к параличу и гибели паразита. После парентерального и перорального введения препарата ивермектин хорошо всасывается, поступает в системный кровоток и распределяется в органах и тканях животных и сельскохозяйственных птиц, обеспечивая длительное противопаразитарное действие.

Из организма ивермектин выводится в основном в неизмененном виде преимущественно с фекалиями и частично с мочой, у лактирующих животных – также с молоком.

ИВЕРСАН® по степени воздействия на организм относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007), в рекомендуемых дозах не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и мутагенного действия; во внешней среде быстро разрушается. Препарат токсичен для пчел, а также рыб и других гидробионтов.

III. Порядок применения

11. ИВЕРСАН® применяют с лечебно-профилактической целью свиньям, крупному и мелкому рогатому скоту, лошадям, сельскохозяйственным птицам (куры, гуси, утки, индейки), собакам и пушным зверям при нематодозах и арахно-энтомозах:

-свиньям при аскаридозе, стронгилоидозе, трихоцефалезе, метастронгилезе, эзофагостомозе, гематопинозе и саркоптозе;

-крупному рогатому скоту при стронгилятозах (гемонхозе, остертагиозе, буностомозе, хабертиозе, эзофагостомозе, нематодирозе, трихостронгилезе, коопериозе), неоаскаридозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, диктиокаулезе, мюллерииозе, цистикаулезе, протостронгилидозах, бовиколезе, сифункулятозе, саркоптозе, псороптозе, хориоптозе, гиподерматозе;

-овцам и козам при стронгилятозах (гемонхозе, остертагиозе, нематодирозе, коопериозе, эзофагостомозе, хабертиозе, трихостронгилезе, буностомозе), трихоцефалезе, неоаскаридозе, стронгилоидозе, диктиокаулезе, протостронгилезе, мюллерииозе, малофагозе, эстроле, псороптозе;

-лошадям при делафондиозе, альфортиозе, трихонематозах, параскаридозе, оксиурозе, стронгилезе, стронгилоидозе, парафиляриозе, сетариозе, габронематозе, драйшиозе, гастрофилезе.

-сельскохозяйственным птицам (курам, гусям, уткам, индейкам) при аскаридозе, гетеракидозе, капилляриозе, энтомозах, вызванных *Aphaniptera* spp., *Menacanthus stramineus*, *Ceratophyllus gallinae*, *Menopon gallinae*, акарозах, вызванных *Dermanyssus gallinae*, *Knemidocoptes mutans*, *Dermatoryktes mutans*.

-собакам и пушным зверям при токсокарозе, токсаскариозе, унцинариозе, анкилостомозе, трихоцефалезе, отодектозе, ногоэдрозе, саркоптозе, демодекозе, афаниптерозе, линогнатозе, триходектозе, хейлетиеллезе.

12. Противопоказанием для применения препарата является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам лекарственного препарата, в том числе в анамнезе. Не допускается применение препарата больным инфекционными

болезнями и истощенным животным. Запрещается применение препарата курам-несушкам, ремонтному молодняку кур менее чем за 14 суток до начала яйцекладки, в связи с накоплением ивермектина в яйцах.

Применение препарата собакам породы колли, бобтейл, шелти и их помесям, в связи с повышенной чувствительностью этих пород к макроциклическим лактонам, проводят под контролем ветеринарного врача.

13. При работе с лекарственным препаратом ИВЕРСАН® необходимо соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. По окончании работы следует тщательно вымыть с мылом руки. При случайном попадании препарата на кожу или слизистые оболочки его необходимо смыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с препаратом ИВЕРСАН®. В случае появления аллергических реакций или случайном попадании лекарственного препарата внутрь следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

14. Не рекомендуется применять ИВЕРСАН® беременным и лактирующим животным, а также собакам и пушным зверям моложе 2-месячного возраста.

15. ИВЕРСАН® применяют в следующих дозах:

- свиньям групповым способом с водой для поения в суточной дозе 1 мл на 100 кг массы животного (400 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- крупному рогатому скоту индивидуально с водой в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- мелкому рогатому скоту индивидуально с водой или групповым способом с кормом или водой в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- лошадям индивидуально с водой или кормом в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- собакам и пушным зверям индивидуально с небольшим количеством корма или водой для поения в разовой дозе 0,05 мл на 10 кг массы животного (соответствует 200 мкг ивермектина на 1 кг массы). Для этого 0,5 мл препарата ИВЕРСАН® разводят в 4,5 мл теплой кипяченой воды, полученный раствор дозируют из расчета 0,5 мл на 10 кг массы животного. Приготовленный водный раствор препарата ИВЕРСАН® хранению не подлежит;

- птицам групповым способом с водой для поения в суточной дозе 10 мл на 100 л воды.

Схема применения препарата в зависимости от паразитарного заболевания указана в таблице:

Вид животных	Заболевание	Схема применения препарата
Свиньи, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, сельскохозяйственные птицы (куры, гуси, утки, индейки)	нематодозы	однократно
	арахно-энтомозы (кроме эстроза, гиподерматоза, гастрофилеза)	двукратно с интервалом 14 суток
Крупный и мелкий рогатый скот, лошади	эстроз, гиподерматоз, гастрофилез	однократно
Собаки, пушные звери	нематодозы	однократно
	отодектоз, нотоэдроз, саркоптоз, демодектоз	1 раз в 3 дня в течение 21 суток
	афаниптероз, линогнатоз, триходектоз, хейлетиеллез	двукратно с интервалом 14 суток

При групповом способе применения для приготовления лечебного раствора ИВЕРСАН® в дозе, рассчитанной на обрабатываемое поголовье, разводят в ¼ части суточной нормы воды, потребляемой птицей, или в 1/3 части суточной нормы воды, потребляемой свиньями, мелким рогатым скотом. Лечебный раствор препарата готовят ежедневно.

Порядок приготовления кормолекарственной смеси
с лекарственным препаратом ИВЕРСАН®
для группового способа применения мелкому рогатому скоту и лошадям

- 1) определение общей массы группы животных;
- 2) определение количества ИВЕРСАН® на группу исходя из дозы 0,005 мл/кг (200 мкг ивермектина / кг) – 0,005 мл x общую массу группы животных;
- 3) определение разовой массы зерна на группу животных: норма зерна в г на голову x количество голов;
- 4) определение объема воды для приготовления рабочего раствора ИВЕРСАН® – ½ от массы зерна;
- 5) приготовление рабочего раствора ИВЕРСАН® – смешать отмеренный объем ИВЕРСАН® (см. п.2) с отмеренным объемом воды (см. п.4);
- 6) приготовление кормолекарственной смеси – насыпать отмеренное количество зерна (см. п.3) в емкость, добавить рабочий раствор (см. п.5) в соотношении 2 : 1, тщательно перемешать, оставить до полного впитывания зерном рабочего раствора;
- 7) насыпать полученную кормолекарственную смесь в кормушки, обеспечивающие свободный доступ всех животных группы и подпустить животных.

Обработку при нематодозах проводят осенью перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выводом на пастбище, против оводовых инвазий – сразу после окончания лета оводов, против возбудителей арахно-энтомозов – по показаниям.

Каждую серию препарата предварительно испытывают на небольшой группе (7-10 голов) животных. При отсутствии осложнений в течение 3 дней приступают к обработке всего поголовья.

16. Побочных явлений и осложнений при применении препарата в соответствии с настоящей инструкцией, как правило, не наблюдается. При повышенной индивидуальной чувствительности к компонентам препарата и появлении аллергических реакций использование лекарственного препарата ИВЕРСАН® прекращают и проводят десенсибилизирующую терапию.

17. При передозировке препарата у животных может наблюдаться учащение дефекации и мочеиспускания, снижение аппетита.

18. ИВЕРСАН® не следует применять одновременно с другими препаратами, содержащими макроциклические лактоны. Сведения о несовместимости препарата с лекарственными средствами других фармакологических групп и кормовыми добавками отсутствуют.

19. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не выявлено.

20. Следует избегать нарушений схемы применения препарата, так как это может привести к снижению терапевтической эффективности.

21. Убой свиней на мясо разрешается не ранее чем через 21 сутки, крупного и мелкого рогатого скота – 28 суток, сельскохозяйственных птиц – 9 суток после последнего применения лекарственного препарата ИВЕРСАН®. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанных сроков, может быть использовано в корм пушным зверям.



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ

**Регистрационное удостоверение
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ **005215**

Номер регистрационного удостоверения:

77-3-10.19-4509 № ПВР-3-10.19/03484

Дата государственной регистрации: « 01 » июля 2019 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения

лекарственного препарата: ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва,

Игарский проезд, д. 4, стр.2

Наименование и адрес юридического лица - разработчика лекарственного препарата:

ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр.2

Торговое наименование лекарственного препарата: **МОНИЗЕН® форте**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое

наименование лекарственного препарата: **ивермектин, празиквантел**

Лекарственная форма: **раствор для инъекций и орального применения**

Дозировка: **5 мг; 60 мг**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет

(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя

(должность)

(подпись)

Н.А. Власов

(Ф.И.О.)



М.П.

Общество с ограниченной ответственностью
«Научно-внедренческий центр Агроветзащита»

СТАНДАРТ ООО «НВЦ Агроветзащита»

СТО 76069684-0246-2017

СОГЛАСОВАНО
Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и фитосанитарному
надзору



Н. А. ВЛАСОВ
01.07.2019

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «НВЦ Агроветзащита»
С.В. Енгашев



01.07.2019

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

МОНИЗЕН® форте

ивермектин, празиквантел

СТО 76069684-0246-2017

СОГЛАСОВАНО

Заместитель Руководителя
Россельхознадзора

Н.А. ВЛАСОВ

1.07.2019

ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению лекарственного препарата
МОНИЗЕН® форте(организация - разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита», Россия,
129329, г. Москва, Игарский проезд, д.4, стр. 2)Номер регистрационного удостоверения 42-3-10.19-4509N/7BP-3-10.19/03424

I. Общие сведения

1. Наименование лекарственного препарата для ветеринарного применения:
торговое наименование лекарственного препарата - МОНИЗЕН® форте
(MONISEN® forte)

международное непатентованное наименование действующих веществ -
ивермектин, празиквантел.

2. Лекарственная форма: раствор для инъекций и орального применения.
МОНИЗЕН® форте содержит в 1 мл в качестве действующих веществ
ивермектин - 5 мг и празиквантел - 60 мг, а в качестве вспомогательных веществ:
спирт бензиловый, метилпирролидон и пропиленгликоль.

3. По внешнему виду лекарственный препарат представляет собой
прозрачную жидкость от бесцветного до розового цвета.

4. Срок годности МОНИЗЕН® форте при соблюдении условий хранения
в закрытой упаковке производителя - 2 года со дня производства, после первого
вскрытия флакона - 30 суток.

Запрещается применение препарата по истечению срока годности.

4. Выпускают МОНИЗЕН® форте раствор для инъекций расфасованным по
10, 20, 25, 50, 100, 250 и 500 мл в полимерные флаконы и флаконы темного стекла
соответствующей вместимости, укупоренные резиновыми пробками и обкатанные
алюминиевыми колпачками. Флаконы по 10, 20, 25, 50 и 100 мл помещают в
индивидуальные картонные пачки вместе с инструкцией по применению. Фасовка
стеклянных и полимерных флаконов по 100, 250 и 500 мл допускается без
помещения в картонную пачку.

МОНИЗЕН® форте для орального применения фасуют по 10, 20, 25, 50, 100
мл в полимерные флаконы и флаконы темного стекла соответствующей
вместимости, укупоренные резиновыми пробками и обкатанные алюминиевыми
колпачками, или полимерными навинчиваемыми крышками с контролем первого
вскрытия, по 1,0 л в полимерные бутылки, по 2,5 и 5,0 л в полимерные канистры
соответствующей вместимости, укупоренные навинчиваемыми крышками с

контролем первого вскрытия. Каждая потребительская упаковка снабжена инструкцией по применению. Допускается фасовка стеклянных и полимерных флаконов по 10, 20, 25, 50, 100 мл в индивидуальные картонные пачки вместе с инструкцией по применению.

5. Хранят лекарственный препарат в закрытой упаковке производителя, в защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от продуктов питания и кормов при температуре от 2°C до 30°C.

6. МОНИЗЕН® форте следует хранить в недоступном для детей месте.

7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

8. Условия отпуска: без рецепта ветеринарного врача.

II. Фармакологические свойства

9. МОНИЗЕН® форте относится к группе комбинированных противопаразитарных лекарственных препаратов.

10. Входящие в состав МОНИЗЕН® форте празиквантел и ивермектин обеспечивают широкий спектр противопаразитарного действия препарата. МОНИЗЕН® форте активен в отношении имагинальных и личиночных фаз развития нематод желудочно-кишечного тракта и легких, цестод, трематод, личинок оводов, саркоптоидных, гамазидных и иксодовых клещей, кровососок, малофаг (власоедов, пухоедов, пероедов) млекопитающих и птиц.

Ивермектин - синтетическое производное авермектина, продуцентом которого является актиномицет *Streptomyces avermitilis*, относится к группе макроциклических лактонов. Механизм действия ивермектина заключается в его воздействии на проникновение ионов хлора через мембраны нервных и мышечных клеток экто- и эндопаразитов. Основной мишенью являются глутаматчувствительные хлорные каналы, а также рецепторы гамма-аминомасляной кислоты. Изменение процесса проникновения ионов хлора нарушает проведение импульсов, что приводит к параличу и гибели паразита.

Празиквантел – синтетическое производное пиазинизохинолина. Механизм действия празиквантела основан на деполяризации нейромышечных ганглиоблокаторов, нарушении транспорта глюкозы и микротубулярной функции цестод, что вызывает нарушение мышечной иннервации, паралич и гибель гельминтов.

После парентерального и перорального введения препарата празиквантел и ивермектин хорошо всасываются, поступают в системный кровоток и распределяются в органах и тканях животных и сельскохозяйственных птиц, обеспечивая длительное противопаразитарное действие.

Выводится МОНИЗЕН® форте из организма в основном с мочой и желчью, у лактирующих животных также с молоком, у птиц с пометом.

По степени воздействия на организм МОНИЗЕН® форте относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76). В рекомендуемых дозах не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и сенсибилизирующего действия. Токсичен для рыб и пчел.

III. Порядок применения

11 МОНИЗЕН® форте применяют с профилактической и лечебной целью крупному и мелкому рогатому скоту, оленям и сельскохозяйственным птицам при

пестодозах, нематодозах легких и желудочно-кишечного тракта, трематодозах, эстрозе, псороптозе, хориоптозе, саркоптозе, иксодидозе, сифункулятозах, мелофагозе, бовиколезе, гиподерматозе, а также при арахно-энтомозах сельскохозяйственных птиц.

12. Противопоказанием к применению является индивидуальная повышенная чувствительность животного к компонентам препарата, в том числе в анамнезе. Не допускается применение МОНИЗЕН® форте курам-несушкам, яйца которых используют в пищевых целях, ремонтному молодняку кур менее чем за 2 недели до начала яйцекладки, в связи с накоплением препарата в яйцах, а также истощенным, больным инфекционными болезнями и выздоравливающим животным.

13. При проведении лечебных мероприятий с использованием препарата МОНИЗЕН® форте следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаз, их необходимо промыть большим количеством проточной воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с МОНИЗЕН® форте. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

14. Не допускается применение МОНИЗЕН® форте дойным и беременным животным менее, чем за 28 дней до родов, в связи с выделением препарата с молоком.

15. Дегельминтизацию животных проводят перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выгоном на пастбище, а также в иные сроки по показаниям; обработку против оводовых инвазий проводят сразу после окончания лета оводов; обработку при псороптозе, хориоптозе, саркоптозе, иксодидозе, сифункулятозах, мелофагозе, бовиколезе, арахно-энтомозах птиц – по показаниям.

Специальной диеты и применения слабительных средств перед дегельминтизацией или после нее не требуется.

МОНИЗЕН® форте раствор для инъекций применяют крупному рогатому скоту и оленям внутримышечно, мелкому рогатому скоту подкожно однократно при гельминтозах и оводовых инвазиях и двукратно с интервалом 10-14 дней при других арахно-энтомозах.

В случае, если объем вводимого раствора составляет более 10 мл, его следует вводить животному в несколько мест.

МОНИЗЕН® форте для орального применения назначают овцам и козам орально (внутри) индивидуально или групповым способом в смеси с зерном, концентрированным кормом или водой однократно при гельминтозах и оводовых инвазиях, и двукратно при других арахно-энтомозах, сельскохозяйственным птицам орально групповым способом с питьевой водой однократно при гельминтозах и двукратно при арахно-энтомозах.

МОНИЗЕН® форте раствор для инъекций и орального применения назначают в следующих дозах:

Вид животного	Способ введения, доза МОНИЗЕН® форте мл/кг массы животного
Крупный рогатый скот, олени	Внутримышечно При нематодозах -1 мл/20 кг При трематодозах – 1мл/15 кг При цестодозах -1 мл/20 кг При арахно-энтомозах – 1 мл/20 кг
Овцы	Подкожно, орально При нематодозах -1 мл/20 кг При трематодозах – 1мл/15 кг При цестодозах -1 мл/20 кг При арахно-энтомозах – 1 мл/20 кг
Козы	Подкожно, орально При нематодозах -1 мл/15кг При трематодозах – 1мл/15 кг При цестодозах -1 мл/15 кг При арахно-энтомозах – 1 мл/20 кг
Сельскохозяйственная птица (цыплята-бройлеры, ремонтный молодняк кур, индейки, гуси, утки)	Орально При нематодозах – 1 мл/20 кг При трематодозах – 1 мл/20 кг При цестодозах – 1 мл /20 кг При арахно-энтомозах – 1 мл/20 кг

- крупному рогатому скоту, овцам, оленям при нематодозах желудочно-кишечного тракта (гемонхоз, буностомоз, эзофагостомоз, нематодироз, хабертиоз, коопериоз, остертагиоз, стронгилоидоз, трихостронгилез, трихоцефалез, неоаскаридоз) - 1 мл на 20 кг массы животного;

- крупному и мелкому рогатому скоту, оленям при нематодозах легких (диктиокаулез, мюллериоз, цистокаулез, протостронгилидозы) и цестодозах (мониезиоз, авителлиноз, тизаниезиоз) - 1 мл на 20 кг массы животного;

-крупному рогатому скоту, оленям, овцам при трематодозах (фасциолез, дикроцелиоз) - 1 мл на 15 кг массы животного;

-козам при нематодозах (гемонхоз, буностомоз, эзофагостомоз, нематодироз, хабертиоз, коопериоз, остертагиоз, стронгилоидоз, трихостронгилез, трихоцефалез, неоаскаридоз), цестодозах (мониезиоз, авителлиноз), трематодозах (фасциолез, дикроцелиоз) – 1 мл на 15 кг массы животного;

- овцам при эстрозе однократно, индивидуально подкожно - 1 мл на 20 кг массы животного или групповым способом - 1 мл на 20 кг массы животного в смеси с половиной разовой нормы зерна или концентрированного корма из кормушек обеспечивающих свободный доступ животных;

- крупному рогатому скоту при гиподерматозе однократно, индивидуально внутримышечно - 1 мл на 20 кг массы животного

- крупному рогатому скоту, мелкому рогатому скоту, оленям при псороптозе, саркоптозе, хориоптозе, мелофагозе, бовиколезе обработку проводят двукратно (2 раза) с интервалом 10-14 дней, при иксодидозе – однократно, в дозе 1 мл на 20 кг массы животного;

- цыплятам-бройлерам, ремонтному молодняку кур, индейкам, гусям и уткам

при нематодозах (амидостомоз, гангулетеракидоз, аскаридиоз, гетеракидоз, сингамоз, томинксоз, капилляриоз), цестодозах (дрепанидотениоз, гименолепидоз, райллиетиноз, давениоз) и трематодозах (простогонимоз, эхиностоматидоз) в дозе 1 мл на 20 кг живой массы однократно групповым способом с водой; для борьбы с энтомозами, вызванными пухопероедами (*Aphaniptera* spp., *Menacanthus stramineus*, *Ceratophyllus gallinae*, *Menopon gallinae*), акарозами, вызванными *Dermanyssus gallinae*, *Knemidocoptes mutans*, *Dermatoryktes mutans* – обработку проводят двукратно (2 раза) с интервалом 10-14 дней в указанной дозе.

При пероральном способе применения с водой для поения рассчитанную необходимую дозу препарата предварительно разводят в небольшом количестве теплой (25-30)⁰С воды.

Для обеспечения равномерного распределения препарата для перорального применения его вводят в корм или воду при тщательном перемешивании, используя ступенчатое смешивание.

Перед каждой выпойкой используют свежеприготовленный раствор препарата.

Птиц после дегельминтизации в течение 2-3 часов не кормят и не допускают к водоемам, поение не ограничивают.

Перед массовыми обработками каждую серию МОНИЗЕН[®] форте испытывают на небольшой группе животных (5-7 голов) разного возраста и массы. При отсутствии в течение 3 дней осложнений приступают к обработке всего поголовья.

Групповой способ применения препарата и порядок приготовления кормолекарственной смеси с МОНИЗЕН[®] форте для овец

- 1) определить общую массу группы овец;
- 2) определить количество МОНИЗЕН[®] форте на группу овец исходя из показаний к применению и дозы 1 мл на 15 кг или 1 мл на 20 кг массы животных;
- 3) определить разовую массу зерна на группу овец исходя из нормы 200-300 г на голову – 200-300 г х количество голов;
- 4) определить объем воды для приготовления рабочего раствора МОНИЗЕН[®] форте – ½ от массы зерна;
- 5) приготовить рабочий раствор МОНИЗЕН[®] форте – смешать отмеренный объем МОНИЗЕН[®] форте (см. п.2) с отмеренным объемом воды (см. п.4);
- 6) приготовить кормолекарственную смесь – насыпать отмеренное количество зерна (см. п.3) в емкость, добавить рабочий раствор (см. п.5) в соотношении 2 : 1, тщательно перемешать, оставить до полного впитывания зерном рабочего раствора, после чего рассыпать смесь тонким слоем для просушки;
- 7) равномерно насыпать полученную кормолекарственную смесь в кормушки, обеспечивающие свободный доступ всех овец группы и подпустить овец.

16. При применении МОНИЗЕН[®] форте в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений как правило, не наблюдается. У сельскохозяйственных птиц возможно небольшое кратковременное возбуждение сразу после приема препарата, которое самопроизвольно проходит после отхождения гельминтов. При повышенной чувствительности животного к компонентам лекарственного препарата и появлении аллергических реакций

применение препарата прекращают и назначают антигистаминные препараты и средства симптоматической терапии.

17. Симптомы передозировки у животных могут проявляться угнетением, нарушениями функций желудочно-кишечного тракта, отечностью в месте введения. Специфические средства детоксикации отсутствуют, применяют энтеросорбенты и средства симптоматической терапии.

18. МОНИЗЕН® форте не следует применять одновременно с другими противопаразитарными препаратами.

19. Особенности действия лекарственного препарата при первом применении и отмене не установлено.

20. Следует избегать нарушений рекомендуемых сроков и кратности применения препарата, так как это может привести к снижению его терапевтической эффективности. В случае пропуска очередной обработки лекарственный препарат необходимо ввести как можно скорее в указанной дозе.

21. Убой на мясо крупного рогатого скота, мелкого рогатого скота и оленей разрешается не ранее, чем через 35 суток, гусей и уток не ранее, чем через 20 суток, кур и индеек не ранее, чем через 15 суток после последнего применения МОНИЗЕН® форте. В случае вынужденного убоя животных и сельскохозяйственных птиц ранее установленных сроков мясо может быть использовано в корм пушным зверям.

Наименование и адрес производственной площадки производителя лекарственного препарата для ветеринарного применения	ООО «АВЗ С-П», Россия, 141305, Московская область, г. Сергиев-Посад, ул. Центральная, д.1
--	---

Наименование и адрес организации, уполномоченной владельцем или держателем регистрационного удостоверения лекарственного препарата на принятие претензий от потребителя	ООО «АВЗ С-П», Россия, 141305, Московская область, г. Сергиев-Посад, ул. Центральная, д.1
---	---