

Варламова Анастасия Ивановна

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ, ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И БИОТРАНСФОРМАЦИИ
СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ФЕНБЕНДАЗОЛА,
ПОЛУЧЕННОГО ПО МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ С
АДРЕСНОЙ ДОСТАВКОЙ**

1.5.17. Паразитология

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской Академии Наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

Научный консультант:

доктор ветеринарных наук, профессор РАН

Арисов Михаил Владимирович

Официальные оппоненты:

Новак Михаил Дмитриевич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России);

Бибик Оксана Ивановна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии с основами генетики и паразитологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России);

Бондаренко Владимир Олегович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией контроля качества лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»);

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова»

Защита состоится «__»_____ 2022 г. в _____ ч. на заседании диссертационного совета Д 24.1.249.02, созданного на базе 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» (Москва ЦФО)

Адрес: 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и на сайте <http://viev.ru/>.

Автореферат разослан «__»_____ 2022 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Емельянова
Надежда Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Интенсификация отраслей животноводства и наращивание темпов производства пищевой продукции являются результатами достижений в нескольких областях науки, таких как биотехнология, генетика, фармакология, разведение, кормление и, в частности, воздействия на физиологические параметры животных. Однако паразитарные болезни животных являются причиной снижения их продуктивности и достаточно широко распространены, так около 40-90% овец и крупного рогатого скота в некоторых регионах нашей страны заражены гельминтами (И.А. Архипов, 2009; А.В. Родионов и И.А. Архипов, 2010). В связи с этим использование противопаразитарных препаратов также возрастает. Гельминтозы причиняют огромный экономический ущерб вследствие значительного снижения роста и развития молодняка, а также снижения качества и количества продукции. Установлено, что прирост массы тела телят, зараженных *Dictyocaulus viviparus* и желудочно-кишечными стронгилятами, снижается, в среднем, на 34-35 кг в год (Р.Т. Сафиуллин, 1997; Р.Т. Сафиуллин и К.А. Хромов, 2009).

Для предотвращения огромных потерь животноводческой продукции и сохранения здоровья животных необходимо проведение терапии и профилактики гельминтозов с применением высокоэффективных и безопасных антигельминтиков.

Одним из основных препаратов, применяемых при гельминтозах животных, является препарат из класса бензимидазол карбаматов – фенбендазол, который обладает широким спектром действия (И.А. Архипов, 2009; W.C. Campbell and R.S. Rew, 1986). Он эффективен в дозе 7,5-10 мг/кг против нематод, в дозе 15 мг/кг против протостронгилид и в дозе 100 мг/кг против фасциол и дикроцелий у овец (J.E. Riviere and M.G. Papich, 2009; S.R. Trambo et al., 2017). Подобно другим бензимидазолам, фенбендазол вызывает дегенерацию микротубул гельминтов и блокирует поступление глюкозы у паразитов. Снижение поступления глюкозы вызывает истощение запасов энергии и в последующем – гибель гельминта. Фенбендазол безопасен для животных, но имелись случаи диареи и рвоты (W.C. Campbell and R.S. Rew, 1986). Известно, что фенбендазол согласно биофармацевтической классификации FDA относится к IV классу препаратов с низкой проницаемостью и растворимостью, т.е. имеет низкую биодоступность. Следовательно, данный антигельминтик нуждается в технологиях повышения его растворимости и эффективности.

Для повышения растворимости лекарственных препаратов используют различные физико-химические методы: уменьшение размеров частиц, модификация структуры кристаллической решетки, получение твердых дисперсий препаратов с полимерами и др. (P. Kaplana et al., 2010; Y.S. Krishnaiah, 2010; Y. Yanghuan et al., 2014).

Управление солюбилизационными характеристиками лекарственных веществ является одним из основных направлений в разработке современных систем доставки лекарств Drug Delivery System (А.В. Душкин и др., 2013; А.А. Шинде, 2007).

Степень разработанности темы. В настоящее время исследования посвящены повышению эффективности имеющихся препаратов методами нанотехнологии и адресной доставки лекарственных средств. Повышенный фармакологический эффект таких структур достигается за счет повышения мембранной проницаемости и улучшенной доставки молекул лекарств к активным центрам соответствующих рецепторов организма. Свойства таких систем доставки во многом определяются составом комплексов (композиций) и технологиями их получения.

В ближайшие годы, согласно прогнозу на будущее, нанотехнологические/супрамолекулярные системы доставки лекарственных веществ займут 90% рынка инновационных лекарств. Использование технологий Drug Delivery

System обеспечивает повышение эффективности и безопасности препаратов путем высвобождения действующего вещества и последующей его транспортировки через биологические мембраны к месту действия. Учитывая то, что около 45% лекарственных веществ обладают недостаточной растворимостью, а 80% лекарств применяются перорально, становится понятна важность управления солюбилизационными характеристиками этих лекарственных средств. Для повышения растворимости лекарственных веществ применяют такие физико-химические методы, как воздействие на кристаллическую решетку, уменьшение размеров частиц, образование твердых дисперсий лекарственных веществ с наполнителями и т.д. Ранее разработана оригинальная твердофазная механохимическая технология получения твердых фармацевтических дисперсных систем, позволяющая изменять растворимость практически нерастворимых субстанций за счет образования супрамолекулярных комплексов со вспомогательными компонентами после ударно-истирающих воздействий в специальных мельницах. В результате данной технологии образуются твердые дисперсии, в которых лекарственное вещество диспергировано в молекулярной форме или находится в аморфном состоянии; образуются водорастворимые соли или образуются водорастворимые комплексы включения с полисахаридами типа «гость – хозяин», где «гость» - молекулы лекарственных веществ, а «хозяин» - частица носитель – полисахариды, липосомы, мицеллы или наноразмерные неорганические частицы (А.В. Душкин, 2004; А.В. Душкин и С.А. Гуськов, 2006; А.В. Душкин и др., 2013).

Для повышения терапевтического эффекта и разработки форм применения нерастворимых препаратов широко используют нанолечебные технологии. Иммунизация противопаразитарных препаратов на наночастицах или в них является эффективным способом повышения эффективности и снижения побочных эффектов лекарственных веществ за счет улучшения параметров их биодоступности, замедленного высвобождения и показателей внутриклеточной проницаемости. В настоящее время для противопаразитарных препаратов созданы такие средства адресной доставки, как: липосомы (для празиквантела (S.C. Mourao et al., 2005), альбендазола (E. Dvoroznakova et al., 2004), ивермектина (Y.X. She et al., 2010) и др.), твердые липидные наночастицы (для альбендазола (G. Marslin et al., 2017; P.E. Pensel et al., 2015) и др.), наносuspensions (для ивермектина (W.J. Starkloff et al., 2016), альбендазола (V. Fulop et al., 2018), празиквантела (L.D. Silva et al., 2017) и др.) и пр. Исследования, проводимые в нашей стране, в том числе с нашим участием, подтвердили эффективность механохимической технологии для получения твердых дисперсий некоторых антигельминтных препаратов (никлозамида, альбендазола, фенбендазола, триклабендазола, празиквантела и др.) со вспомогательными веществами (арабиногалактаном, поливинилпирролидоном, глицирризиновой кислотой и пр.) (Е.В. Лагерева и др., 2019; I.A. Arkhipov et al., 2017, 2019; Y.S. Chistyachenko et al., 2015). Другие носители имеют меньший интерес из-за физической нестабильности, плохой воспроизводимости и потенциальной токсичности. Имеется сообщение о приготовлении нанокристаллов антигельминтика никлозамида в форме инъекций (Y. Yanghuan et al., 2014).

В нашей стране в г. Иваново Г.Л. Перловичем и др. (2009) разрабатываются нанокристаллы лекарственных препаратов с включением молекул растворителей. Однако перечисленные авторы используют технологию создания препаратов в жидкой среде, которая более трудоемкая и требует больших затрат.

Все это предопределило цель и задачи наших исследований.

Цель и задачи исследований. Цель – изучить антигельминтные, токсические свойства, особенности фармакокинетики и биотрансформации супрамолекулярного комплекса фенбендазола (СМКФ), полученного по механохимической технологии с использованием адресной доставки.

Для реализации указанной цели были поставлены следующие основные задачи:

1. Оценить физико-химические свойства СМКФ с различными компонентами, полученными по механохимической технологии.
2. Изучить токсические свойства СМКФ.
3. Изучить биологическую активность СМКФ с различными компонентами в качестве средств адресной доставки на лабораторных моделях.
4. Определить эффективность СМКФ при основных гельминтозах овец.
5. Изучить эффективность СМКФ при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота.
6. Изучить влияние СМКФ на организм овец и крупного рогатого скота.
7. Изучить особенности фармакокинетики и биотрансформации фенбендазола в организме овец после введения СМКФ.
8. Провести комиссионные и производственные испытания СМКФ при смешанной инвазии овец и молодняка крупного рогатого скота.

Научная новизна. Разработка инновационного антигельминтного препарата – супрамолекулярного комплекса фенбендазола осуществлялась на основе механохимической технологии и наноразмерных систем доставки, обеспечивающих повышение в несколько раз эффективности и снижение токсичности. Получение препарата происходит в одну стадию путем твердофазного процесса механохимической обработки фенбендазола и водорастворимых полимеров или других вспомогательных компонентов. В результате субстанция препарата равномерно распределяется в порах и на поверхности полимерного носителя, что существенно изменяет свойства препарата – повышает растворимость, проницаемость и эффективность. При этом получение СМКФ происходит в одну стадию без участия жидкой фазы, при отсутствии сушки материалов и отходов производства, что позволяет уменьшить расход субстанции, снизить объемы его импорта и добиться более эффективного и безопасного лечения животных при нематодозах. Эта технология имеет ряд преимуществ перед известными методами – полное исключение из процесса растворителей, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования и гибкость технологии.

Физико-химическими методами установлено повышение в 24 раза растворимости СМКФ, уменьшение размера частиц препарата и изменение структуры частиц.

Предварительные испытания СМКФ на лабораторной модели *Trichinella spiralis* показали значительное повышение его антигельминтной активности по сравнению с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола. Повышение в 2,5-3,0 раза эффективности СМКФ установлено при нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта, диктиокаулезе, трихоцефалезе и мониезиозе овец и молодняка крупного рогатого скота.

СМКФ безопасен для организма животных. ЛД₅₀ препарата при введении белым мышам в желудок составила более 20000 мг/кг. Он не обладает раздражающим, кумулятивным, эмбриотоксическим, тератогенным и иммунотоксическим действием. Препарат в терапевтической и в 5 раз повышенной дозах не оказывает отрицательного влияния на клинические, гематологические и биохимические показатели овец и молодняка крупного рогатого скота.

Биотрансформация фенбендазола в организме овец после введения СМКФ осуществляется более интенсивно и быстрее по сравнению с субстанцией препарата. Фенбендазол и его метаболиты: фенбендазола сульфен и фенбендазола сульфоксид после введения СМКФ обнаруживаются в органах и тканях овец в большем количестве по сравнению с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола.

Научная новизна работы подтверждена 4 Патентами на изобретение: № 2558922 от 10 апреля 2015 г., № 2560516 от 20.08.2015 г., № 2588368 от 27.06.2016 г. и № 27090119 от 13.12.2019 г.

Теоретическая и практическая значимость работы. Доказана возможность управления солюбилизационным процессом и биологической активностью супрамолекулярных комплексов, используя различные полимеры и другие компоненты для адресной доставки препаратов за счет процесса комплексообразования с полимерами при твердофазной механохимической обработке в измельчителях-активаторах. Повышение растворимости и фармакологической эффективности достигается тем, что в процессе обработки молекулы действующего вещества распределяются в порах и на поверхности частиц/макромолекул носителей. При этом обеспечивается улучшенная всасываемость препарата в пищеварительном тракте при пероральном введении за счет ускоренного высвобождения действующего вещества и транспортировки его через биологические мембраны.

Инновационная технология получения СМКФ может быть широко использована для модификации плохо или нерастворимых в воде препаратов, предназначенных для пероральной дачи животным. Так, практически нерастворимый фенбендазол при включении в комплексы с арабиногалактаном или поливинилпирролидоном позволяет многократно увеличить водорастворимость и эффективность при отсутствии токсичности. Полученные результаты открывают перспективу ускоренного создания широкого круга лекарственных средств, обладающих повышенной эффективностью.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный препарат – СМКФ, обладает повышенной в 2,5-3 раза антигельминтной эффективностью, что позволило снизить терапевтическую дозу до 2,0 мг/кг по ДВ. Разработана Методика по применению СМКФ при гельминтозах овец и крупного рогатого скота, одобренная ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (протокол № 4 от 2 сентября 2021 г.). По результатам испытания СМКФ на лабораторных моделях оформлены «Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели», одобренные на секции Методической комиссии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, протокол № 3 от 29 мая 2019 г. Также предложены Методические рекомендации по определению фенбендазола и его метаболитов в молоке коров, одобренные на секции «Инвазионные болезни животных РАСХН, протокол № 2 от 21 сентября 2015 г., Методика количественного определения фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях животных методом высокоэффективной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, одобренная научно-методической комиссией ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 21 мая 2021 г. протокол № 2 и ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 2 сентября 2021 г., протокол № 4.

Методология и методы исследования. Методологическую основу исследования составили «Международное руководство по оценке эффективности антигельминтиков» (1995), Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2005), Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012), Правила надлежащей лабораторной практики (2016), руководства и монографии W.C. Campbell, R.S. Rew (1986), J.E. Riviere, M.G. Rapich (2009), И.А. Архипова (2009) и др.

При выполнении работы были использованы теоретические и общепризнанные современные методы исследований и анализа, а также гельминтологические, клинические, гематологические, биохимические, токсикологические и статистические методы.

Объектом исследования были лабораторные животные: белые мыши, белые крысы, кролики. Экспериментальные исследования проведены и апробированы на овцах и крупном рогатом скоте в хозяйствах Самарской, Нижегородской и Московской областей.

Предмет исследования – СМКФ, оценка его активности на лабораторных моделях *Trichinella spiralis* и *Hymenolepis nana*, испытание и оценка эффективности на овцах и крупном рогатом скоте, спонтанно зараженных нематодирусами и другими видами желудочно-кишечных стронгилят, диктиокаулами, трихоцефалами, оценка токсических свойств и особенностей фармакокинетики и биотрансформации СМКФ в организме овец.

Степень достоверности и апробация результатов. Результаты исследований обработаны статистически с использованием прикладных программ «Microsoft Excel», «Биостат» с определением средних величин и их ошибки, уровня достоверности полученных результатов и выводов, сделанных на их основе. Тема, направления, методические данные и результаты исследований доложены и обсуждены на заседаниях Ученого совета ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (2014-2021 гг.), Всероссийской конференции с Международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (г. Барнаул, 2014), VII научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации» (г. Иваново, 2014), XII научной конференции по паразитологии в Грузии (г. Тбилиси, 2014), Международной конференции «Актуальные проблемы развития ветеринарной науки» (г. Самара, 2014), Международной конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии» (Москва, 2014), научной конференции по медицинской химии (Новосибирск, 2015), 25-th International conference of the World Association from the Advancement of Veterinary Parasitology (Liverpool, 2015), V Международной конференции «Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий» (г. Горно-Алтайск, 2015), 12-th European Multicolloquium of Parasitology (Turku, Finland, 2016), IX Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации» (г. Иваново, 2016), XVI International Scientific conference with elements of school of young scientists (Moscow, 2016), International conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (Kuala-Lumpur, Malaysia, 2017), International veterinary congress (Paris, 2017), VII Всероссийской конференции с Международным участием (г. Барнаул, 2017), 7-th Conference of Scandinavian-Baltic Society for Parasitology (Riga, 2017), Научно-практической конференции «Сельское хозяйство Горного Алтая» (г. Горно-Алтайск, 2017), 12-th International Symposium on the Chemistry of Natural compounds (Tashkent, 2017), VIII Международной Межвузовской конференции по клинической ветеринарии (Москва, 2018), III Всероссийской конференции с Международным участием «Горячие точки химии твердого тела» (г. Новосибирск, 2019), Международной научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (Москва, 2014-2020).

Личный вклад соискателя. Изучение токсических свойств СМКФ и влияние его на организм овец и крупного рогатого скота проведены автором самостоятельно. Физико-химические свойства изучены совместно с д.т.н. С.С. Халиковым. Антигельминтная эффективность СМКФ установлена с участием д.в.н. И.А. Архипова и д.в.н. К.М. Садова. Особенности биотрансформации, фармакокинетики и остаточные количества фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях животных после введения СМКФ изучали совместно с П.П. Кочетковым, д.в.н. В.Е. Абрамовым. Комиссионные и производственные испытания препарата при гельминтозах овец и крупного рогатого скота проведены лично автором с участием ветеринарных специалистов хозяйств. 80% работы выполнено диссертантом.

Основные положения, выносимые на защиту:

Физико-химические свойства СМКФ с различными компонентами.

Токсические свойства СМКФ: острая, субхроническая токсичность, раздражающие свойства, кумулятивное действие, иммунотоксические, эмбриотоксические, тератогенные свойства.

Биологическая (антигельминтная) активность СМКФ с различными компонентами на лабораторных моделях.

Эффективность СМКФ при основных гельминтозах овец и молодняка крупного рогатого скота.

Влияние повышенных доз СМКФ на клинические, гематологические и биохимические показатели овец и крупного рогатого скота.

Особенности биотрансформации и фармакокинетики фенбендазола и его метаболитов в организме овец после введения СМКФ.

Результаты комиссионных и производственных испытаний СМКФ при смешанной инвазии овец и молодняка крупного рогатого скота.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 76 работ, в которых отражены основные положения и заключения по теме диссертации, в том числе 26 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 9 в изданиях системы Web of Science и 3 в Scopus. Получено 4 патента на изобретения. В соавторстве опубликована монография.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 260 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: общая характеристика работы, литературный обзор, собственные исследования, заключение, практические предложения, список использованной литературы, который включает 314 источников, в т.ч. 190 иностранных, и приложение. Иллюстрированный материал диссертации включает 33 рисунка и 74 таблицы.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Представлен анализ отечественной и иностранной литературы по эффективности фенбендазола и его лекарственных форм при гельминтозах животных, токсическим свойствам фенбендазола, фармакокинетики и остаточным количествам препарата в организме животных, а также средствам адресной доставки лекарственных препаратов и способам повышения растворимости и эффективности.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Научные исследования проводили в 2014-2022 гг. в лаборатории экспериментальной терапии, виварии и Подольском отделе ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и в хозяйствах Московской, Самарской и Нижегородской областей. Проведен 31 научно-производственный эксперимент. Выполнено 960 физико-химических, 588 общих клинических, 80 гематологических, 80 биохимических, 2262 гельминтологических исследований и гистологическое изучение 280 образцов внутренних органов и плодов крыс.

Получение твердых дисперсий фенбендазола с поливинилпирролидоном (ПВП), арабиногалактаном (АГ), динатриевой солью глицирризиновой кислоты ($\text{Na}_2\text{ГК}$), натрием диоктилсульфосукцинатом (НДОСС), экстрактом солодки (ЭС) и гидроксизтилкрахмалом (ГЭК) проводили совместно с д.т.н. С.С. Халиковым по механохимической технологии в металлическом барабане при совместной механообработке компонентов (весовое соотношение фенбендазол:полимер – 1:10; 1:5, кроме НДОСС) и вращения валков мельницы LE-101 со скоростью 60 об/мин с металлическими шарами диаметром 23 мм при различном времени активации от 1 до 24 ч. Полученные образцы представляют собой твердые дисперсии (ТД) порошков, которые в воде образуют супрамолекулярные

комплексы. Эти образцы ТД для подтверждения образования межмолекулярных комплексов исследовали на растворимость методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100 с ультрафиолетовым детектированием. ИК-спектральные исследования образцов проводили на спектрофотометре Shimadzu-2600 (Япония). Электронные микрофотографии выполнены на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM-1000 (Япония). Для определения степени кристалличности образцов использовали метод W. Ruland (1961). Рентгенофазовый анализ полученных продуктов осуществляли на дифрактометре Brucker D8 (Германия). Термический анализ исследуемых образцов проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии на приборе DSC-550 (США). Гранулометрический состав образцов тестировали с помощью лазерного анализатора размера частиц Microsizer-201a (Россия).

Изучение токсических свойств СМКФ с ПВП и с другими компонентами проводили в лаборатории экспериментальной терапии и виварии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН на белых мышах и белых крысах, содержащихся в соответствии с правилами лабораторной практики и Приказом МЗ СССР №1179 от 10.10.1983 г.

Доклинические исследования проводили в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Р.У. Хабриев, 2005) и Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (А.Н. Миронов и др., 2012).

При изучении острой токсичности СМКФ использовали различные компоненты на основе фармакопейного (1:10) и Алтайского АГ (1:10), ПВП (1:10), Na₂ГК (1:10), НДОСС (0,05 %), ЭС (1:10) и ГЭК (1:10).

Мышам и крысам препараты вводили однократно с помощью желудочного зонда в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг по массе препарата. При исследовании острой токсичности на каждую дозу препарата брали по 6 белых беспородных крыс массой 160–180 г и 10 белых беспородных мышей массой 18–20 г. Контрольным группам животных вводили 1%-ный крахмальный клейстер. В течение 14 суток наблюдали за общим состоянием и поведением животных, приемом корма и воды, проявлением симптомов интоксикации и возможной гибелью.

Параметры острой токсичности супрамолекулярных комплексов планировали рассчитать методом пробит-анализа по Литчфильду и Уилкоксону (М.Д. Беленький, 1963), но за счет низкой токсичности это не потребовалось, а оценку степени опасности препаратов проводили по системе классификации ГОСТ 12.1.007-76.

В связи с тем, что СМКФ с ПВП оказался наиболее эффективным и безопасным, дальнейшие исследования проводили с этим комплексом.

Раздражающее действие СМКФ с ПВП на кожу и слизистые оболочки оценивали в дозах 10000 и 20000 мг/кг в соответствии с Методическими указаниями от 11 августа 1980 г.

Кумулятивные свойства изучали по методу R.K. Lim et al. (1961) на 20 белых крысах живой массой 160–180 г. СМКФ вводили ежедневно внутрижелудочно в течение 28 суток, в первый день в дозе 2000 мг/кг – 1/10 от ЛД₅₀, затем дозу увеличивали в 1,5 раза через каждые четверо суток. Накопление эффекта при повторном введении СМКФ определяли с помощью коэффициента кумуляции, который определяется как отношение ЛД₅₀ при многократном введении к ЛД₅₀ препарата при однократном введении. В опытный период вели наблюдение за общим состоянием животных, степенью их активности.

Субхроническую токсичность изучали на 40 белых крысах-самцах массой тела 220–240 г, которых разделили на 4 равноценные группы. Препарат вводили крысам 1, 2 и 3-й опытных групп в дозах соответственно 1/5 (4000 мг/кг), 1/10 (2000 мг/кг) и 1/20 (1000 мг/кг) от установленной ранее ЛД₅₀ (20000 мг/кг) в течение семи суток внутрижелудочно с помощью зонда. Длительность введения испытуемого препарата – 7 суток определяется

предполагаемой кратностью введения препарата в ветеринарной практике. Контрольная группа получала 1%-ный крахмальный клейстер в соответствующих объемах. В течение опыта проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, учитывали привесы массы тела животных на 1, 3, 5 и 7-е сутки опыта, используя весы ВР 0,5 МС-3/0,5-БР (РФ). После окончания введения препаратов животных подвергали эвтаназии декапитацией. Отбирали пробы крови для определения основных гематологических и биохимических показателей; после вскрытия отбирали образцы внутренних органов (печени, сердца, легких, почек, селезенки) для подсчета массовых коэффициентов, микро- и макроскопических исследований. Пробы фиксировали в 10% растворе формалина, гистологические срезы готовили на микротоме Leica RM2145 (USA) и окрашивали гематоксилин-эозином. Исследования гистологических срезов проводили на микроскопе Primo Stars Zeiss (Швейцария). Данные исследования проводили на базе ГБУЗ МО «Ивантеевская ЦГБ». Гематологические показатели крыс определяли в ветеринарной лаборатории на автоматическом анализаторе «Hema Screen Vet», биохимические показатели крови крыс исследовали на автоматическом анализаторе «BioSystems».

Эмбриотропные свойства СМКФ изучали в соответствии с Методическими рекомендациями по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств № 98/304, а также вышеуказанными Руководствами (Р.У. Хабриев, 2005; А.Н. Миронов и др., 2012).

В опытах было использовано 40 белых беспородных крыс самок массой 200–220 г и 20 самцов, которых содержали отдельно. Белым беспородным беременным крысам СМКФ вводили перорально многократно на 1–6-е сутки эмбриогенеза (1 группа); на 7–14-е сутки (2 группа) и на 15–19-е сутки (3 группа) в трехкратной терапевтической дозе 6 мг/кг. Контрольная группа животных была сформирована по принципу аналогов и получала физиологический раствор.

Животных убивали на 20-е сутки беременности декапитацией. После лапаротомии извлекали матку и зародышей из плодовместилищ и регистрировали количество желтых тел беременности в обоих яичниках, мест имплантации, число живых, мертвых, уродливых и резорбированных плодов. Эмбрионы тщательно осматривали, взвешивали, определяли кранио-каудальные размеры, определяли массу и диаметр плаценты, вычисляли уровни общей эмбриональной, предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов.

Плоды исследовали на наличие аномалий внутренних органов и изменений со стороны костной системы по методам J.G. Wilson (1965) и A.B. Dawson (1926), модифицированных в отделе эмбриологии ИЭМ АМН СССР (А.П. Дыбан и др., 1986).

Иммунотоксические свойства СМКФ изучали в двух опытах на 60 мышах-самцах линии СВА × С57BL/6 массой 16–18 г, в ходе которых было установлено влияние препарата на гуморальный и клеточный иммунный ответ в реакциях прямой гемагглютинации и гиперчувствительности замедленного типа согласно вышеуказанным Руководствам (Р.У. Хабриев, 2005; А.Н. Миронов и др., 2012).

Биологическую активность СМКФ, полученного по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки, изучали на лабораторных моделях трихинеллеза и гименолепидоза. Изучение нематодоцидной активности каждого из заявляемых препаратов проводили на 80 белых мышах, экспериментально инвазированных *T. spiralis* в дозе 200 личинок на мышь, внутрижелудочно. На третьи сутки после заражения мышам шести подопытных групп (по 10 голов в каждой) вводили перорально однократно СМКФ, полученные с различными компонентами, т.е. с ПВП, АГ, Na₂ГК, НДОСС, ЭС и ГЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ, т.е. по фенбендазолу. Мыши седьмой группы получали базовый препарат – субстанцию фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали. Животных убивали декапитацией

на вторые сутки после введения препаратов. Тонкий кишечник мышей разрезали ножницами по всей длине и помещали в аппарат Бермана в физиологическом растворе. Пробы ставили в термостат на 2 ч при 37-39°C, после чего осадок исследовали под бинокулярной лупой и подсчитывали число обнаруженных *T. spiralis*.

Испытание цестодоцидного действия СМКФ с различными компонентами проводили на 48 белых мышах (на каждый препарат), экспериментально инвазированных *Hymenolepis nana* в дозе 200 яиц на животное. На 13-е сутки после заражения в желудок мышей разных групп по 6 особей в каждой однократно вводили тестируемые препараты. Животным 1-6-й групп вводили СМКФ в крахмальном геле перорально в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. Животные седьмой группы получали базовый препарат – фенбендазол в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали. На 4-е сутки после назначения опытных образцов мышей подвергали декапитации. Эффективность антигельминтиков определяли по данным вскрытия тонкого кишечника, учитывая среднее число обнаруженных цестод и рассчитывая ИЭ (И.А. Архипов, А.И. Варламова и др., 2019; Б.А. Астафьев и др., 1989).

Антигельминтную активность СМКФ с АГ изучали в овцеводческих хозяйствах Московской и Самарской областей на 290 головах молодняка овец разных пород массой тела 15-35 кг, в том числе спонтанно инвазированных диктиокаулами 50 гол., нематодирусами 48 гол., другими видами желудочно-кишечных стронгилят 52 гол., стронгилоидами 42 гол., трихоцефалами 44 гол. и мониезиями 54 гол. При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 6 равноценных групп по 7-10 овец в каждой. Животным первой, второй и третьей групп вводили СМКФ в форме 10%-ного порошка с водой однократно перорально в дозах соответственно 1,0; 2,0 и 3,0 мг/кг по ДВ. Овцы четвертой и пятой групп получали базовый препарат – фенбендазол (субстанцию) в дозах соответственно 1,0 и 5,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали.

Эффективность препаратов учитывали по результатам ларвоскопических исследований фекалий методом Бермана при диктиокаулезе, методом флотации при других гельминтозах до и через 15-18 суток после дегельминтизации (Г.А. Котельников, 1974; МАФФ, 1986). Учет активности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных личинок/яиц гельминтов (J. Wood et al., 1995).

Антигельминтную эффективность СМКФ с ПВП изучали в ООО «Агроресурс» Пестравского района Самарской области в августе-сентябре 2016 г. на 180 баранчиках массой тела 19-37 кг, в том числе спонтанно инвазированных нематодирусами 60 гол., другими видами желудочно-кишечных стронгилят 60 гол. и мониезиями 60 гол. При каждом гельминтозе овец разделяли на 6 равноценных групп по 10 голов в каждой. Испытание СМКФ с ПВП и учет эффективности проводили аналогично, как и с АГ.

Антигельминтную активность СМКФ с ПВП и НДОСС изучали в овцеводческих хозяйствах Московской и Самарской областей на 158 головах молодняка овец, в том числе спонтанно инвазированных нематодирусами 48 гол., другими видами желудочно-кишечных стронгилят 56 гол. и мониезиями 54 гол. При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 6 равноценных групп по 7–9 овец в каждой. Испытание и учет эффективности проводили аналогично, как и с АГ.

Антигельминтную активность СМКФ с Na₂GК изучали на овцах в ООО «Агроресурс» Пестравского района Самарской области, включая 50 естественно зараженных *Nematodirus* spp., 52 – другими желудочно-кишечными нематодами подотряда *Strongylata*, 39 – цестодами *Moniezia expansa*. Распределение животных на группы, испытание и учет эффективности проводили, как и при испытании АГ.

Влияние механохимической технологии на антигельминтную эффективность СМКФ с ЭС изучали в овцеводческом хозяйстве ООО «Измайлов» Красноармейского района

Самарской области в августе-сентябре 2019 г. на 127 головах молодняка овец, спонтанно зараженных нематодирусами (66 гол.) и другими видами желудочно-кишечных стронгилят (61 гол.). Испытание и учет эффективности проводили аналогично, как и с АГ.

Антигельминтную эффективность СМКФ с ЭС и НДОСС изучали также в овцеводческой ферме в Самарской области (ООО «Измайлов») на 284 головы молодняка овец различных пород массой тела 16-37 кг, в том числе 60 овцах, спонтанно зараженных *Nematodirus* spp. и 55 - другими видами желудочно-кишечных стронгилят. Испытание и учет эффективности проводили аналогично, как и с АГ.

Сравнительную активность СМКФ, полученных по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки, изучали в овцеводческих хозяйствах Самарской области на молодняке овец, в том числе 73 – спонтанно инвазированных нематодирусами и 72 гол. – другими видами желудочно-кишечных стронгилят. При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 8 равноценных групп по 8-10 овец в каждой. Животным 1-6-й групп вводили СМКФ в форме суспензии однократно перорально в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. Овцы седьмой группы получали базовый препарат – фенбендазол (субстанцию) в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность препаратов учитывали аналогично, как и с АГ.

Эффективность СМКФ против половозрелых и личинок стронгилят сычуга овец изучали в Подольском отделе ВНИИП им. К.И. Скрябина на 10 валухах, разделенных на две группы по 5 голов в каждой. Валухам первой группы вводили однократно перорально СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Животным второй группы препарат не применяли, и они служили контролем.

Эффективность препарата оценивали по результатам гельминтологического вскрытия пищеварительного тракта валухов через 6 суток после дегельминтизации. Личиночные стадии нематод обнаруживали при компрессорном исследовании соскобов слизистой оболочки сычуга. Обнаруженных гельминтов идентифицировали по определителю паразитических нематод (К.И. Скрябин, 1952). Личинок нематод идентифицировали до рода по критериям, описанным В.Н. Трач (1982). Расчет эффективности препарата проводили отдельно против личинок и взрослых нематод.

Действие СМКФ на яйца мониезий изучали по методу Ф.А. Волкова (1993) на основании изучения морфологии и структуры яиц [30], а также по методу А.Х. Цолоева (2002).

Эффективность СМКФ при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота оценивали в Самарской области на телках, из которых 50 голов были спонтанно инвазированы нематодирусами и другими видами желудочно-кишечных стронгилят, 50 – *Dictyocaulus filaria*, 24 – *Strongyloides papillosus* и 24 – *Trichocephalus ovis*. Животных, зараженных стронгилятами кишечника и диктиокаулюсами, разделили на пять групп по 10 голов в каждой. Молодняку 1, 2 и 3-й групп вводили СМКФ перорально в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ; четвертой – субстанцию фенбендазола (базовый препарат) в дозе 7,5 мг/кг. Особи пятой группы препарат не получали и служили контролем. При стронгилоидозе молодняку первой группы назначали СМКФ с ПВП в дозе 3,0 мг/кг по ДВ; второй – субстанцию фенбендазола в дозе 10 мг/кг, при трихоцефалезе опытным животным СМКФ вводили в дозе 4 мг/кг. Животных третьей группы считали контролем и им препарат не применяли. Эффективность препаратов определяли аналогично, как и при испытании с АГ на овцах.

Влияние повышенных доз СМКФ на организм овец изучали в Подольском отделе ВНИИП им. К.И. Скрябина на 20 помесных овцах в возрасте 1-2-х лет, разделенных на 4 группы по 5 гол. в каждой.

Животным 1, 2 и 3-й групп вводили однократно перорально СМКФ в дозе соответственно 2, 6 и 10 мг/кг по ДВ, т.е. в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах. Животные четвертой группы препарат не получали и служили контролем. Изучение клинического состояния животных проводили по общепринятым методам, а именно, определение температуры тела, пульса, частоты дыхательных движений в минуту и числа сокращений рубца за 2 мин (И.П. Кондрахин, 2004). Кровь для исследования брали из яремной вены утром до кормления животных. Биохимические исследования крови овец после введения СМКФ в разных дозах проводили на автоматическом анализаторе «BioSystems». Гематологические показатели крови крыс определяли на автоматическом анализаторе «Hema Screen Vet». Отбор крови у 20 овец проводили до и через 3 и 5 суток после введения препарата в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах.

Влияние повышенных доз СМКФ на организм крупного рогатого скота изучали в ОАО «Тепелево» Дальнеконстантиновского района Нижегородской области на 20 телках в возрасте 13-16 мес. черно-пестрой породы. Животных разделили по принципу аналогов на 4 группы по 5 голов в каждой. Влияние СМКФ на клинические, гематологические и биохимические показатели крови изучали по схеме аналогично, как и на овцах.

Изучение метаболизма и фармакокинетики СМКФ в организме овец проводили на 60 баранчиках в возрасте 7-8 месяцев, массой тела 31,2-37,4 кг. После нумерации индивидуально ушными бирками животных разделили на две равноценные группы по 6 гол. в каждой для изучения параметров фармакокинетики. Животным первой группы задавали перорально однократно СМКФ в форме 10%-ного порошка с водой в дозе 20 мг/кг, что соответствует 2,0 мг/кг по ДВ. Овцам второй группы назначали перорально однократно базовый препарат - субстанцию фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг. Пробы крови брали из яремной вены животных в пробирки до и через 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 33, 48, 72, 144, 288 и 360 ч после введения препаратов. Пробы крови центрифугировали в течение 15 мин при 700 об/мин и сыворотку крови переносили в пластмассовые пробирки Эппендорфа.

Определение остаточных количеств фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях овец проводили на 48 баранчиках, которых разделили на две равноценные группы по 24 головы в каждой. Животные первой группы получали перорально однократно СМКФ в форме 10%-ного порошка с водой в дозе 20 мг/кг, что соответствует 2,0 мг/кг по ДВ. Овцам второй группы назначали перорально однократно базовый препарат - субстанцию фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг. На 1, 3, 6, 11, 16 и 21 сутки после введения препаратов проводили убой животных – по 4 головы из каждой группы на каждый срок. После убоя отбирали образцы мышечной ткани, сердца, легких, почек, печени и подкожного жира. Пробы органов и тканей до исследования хранили в холодильнике при $t -18-20^{\circ}\text{C}$.

Установление параметров фармакокинетики, определение содержания фенбендазола и его метаболитов: сульфона и сульфоксида в органах и тканях овец проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-MS/MS) совместно с П.П. Кочетковым и д.в.н. В.Е. Абрамовым на основании методик, описанных ранее (П.П. Кочетков и др., 2016; D. Chen et al., 2011; M. Danaher et al., 2007; G. Dowling et al., 2005; S.S. Enouri et al., 2019; D. García-Gómez et al., 2012; M. Gili et al., 2014 и др.). Для этого использовали жидкостной хроматограф высокого давления Agilent 1290 (Agilent Technologies, США) с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (QQQ), управляемый с помощью программы «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition Triple Quadrupole Version B.06.00B.06.00». Оптимальные параметры хроматографирования были достигнуты при следующих условиях: градиентный режим подачи подвижной фазы (компонент элюента А – 5 мМ формиата аммония в воде; компонент элюента В – 5 мМ муравьиной кислоты в ацетонитриле); скорость подачи элюента – 0.3 мл/мин; колонка – Kromasil Eternity XT 2,5-

С18, 2,1 × 100 мм (диаметр сорбента – 2,5 мкм), предколонка – Kromasil Eternity 2,1 × 10 мм; объём вводимой пробы – 5 мкл; температура термостата колонки: 30°C. Детектирование аналитов и внутреннего стандарта осуществлялось в режиме записи сигналов выбранных ионных реакций (MRM) при работе электросперей в отрицательном режиме (ESI-), температуре ионизации 350°C, потоке газа – 10 л/мин, давлении небулайзера 40 psi и напряжении +/- 5000 В.

Валидацию методики количественного определения фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона выполняли в соответствии с руководствами (Guideline on validation of bioanalytical methods, 2009; Bioanalytical Method Validation, 2018) по показателям: линейность, степень извлечения, специфичность, прецизионность, правильность (точность), пределы количественного и качественного определения (P. Chiap et al., 2003; J. Ermer, J.H.McB. Miller, 2006; C. Hartmann, 1998; B.K. Matuszewski et al., 2003; M. Sargent, 2013; L.M. Schechtman, 2008). Для количественного определения фенбендазола сульфоксида, фенбендазола сульфона и фенбендазола методом MRM было проведено исследование распада ионов под действием бомбардирующего потока молекул азота с последующим разрешением продуктов распада (методика MS/MS). Метрологические характеристики методики оценивали в соответствии с (X.3. Сеньюва, Дж. Гилберт, 2011; Н.А. Эпштейн, 2004; R.J. Carroll, D. Ruppert, 1988; P. Chiap et al., 2003; Guideline on validation of bioanalytical methods, 2009; J. Ermer, J.H.McB. Miller, 2006; C. Hartmann et al., 1998; L.M. Schechtman, 2008 и др.) по содержанию аналитов в контрольных образцах биоматриц овец.

Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения супрамолекулярного комплекса фенбендазола с различными компонентами для адресной доставки изучали методом ВЭЖХ-МС/МС. Для опыта использовали 7 групп белых мышей по 10 гол. в каждой, которым задавали СМКФ с ПВП, АГ, Na₂ГК, НДОСС, ЭС или ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Мыши седьмой группы получали субстанцию фенбендазола в этой же дозе. Контрольная группа животных препарат не получала. На вторые сутки после введения препаратов животных подвергали эвтаназии, и тонкий кишечник изолировали и использовали для определения фенбендазола и его метаболитов по методике и на оборудовании, описанном ранее.

Комиссионные испытания СМКФ при нематодозах овец и молодняка крупного рогатого скота проводили в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области в августе-сентябре 2021 г.

СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ задавали 20 овцам в возрасте 5-7 мес. с массой тела от 27,3 кг до 37,3 кг и в дозе 3 мг/кг по ДВ назначали 20 телкам черно-пестрой породы в возрасте 14-17 мес., спонтанно зараженным нематодирусами и другими видами стронгилят пищеварительного тракта. Субстанцию фенбендазола использовали в качестве базового препарата в рекомендуемой терапевтической дозе 5,0 мг/кг на 20 инвазированных овцах и в дозе 7,5 мг/кг на 20 телках. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопических исследований до и через 15 суток после дегельминтизации. Учет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных яиц нематод (I. Wood et al., 1995).

Производственное испытание препарата при стронгилятозах пищеварительного тракта овец и молодняка крупного рогатого скота проводили в этом же хозяйстве на 484 валухах и 124 телках. СМКФ назначали овцам однократно в дозе 2,0 мг/кг по ДВ в смеси с 0,3 кг овсяной дерти (на голову) путем групповой дачи, а телкам в дозе 3,0 мг/кг по ДВ. На основании результатов копроовоскопических исследований проб фекалий до и через 15 суток после дегельминтизации дана оценка эффективности препарата в опыте типа «критический тест» (I. Wood et al., 1995).

Данные всех опытов обрабатывали статистически по методу Стьюдента-Фишера с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2007. Обсчеты полученных фармакокинетических кривых проводили с использованием однокамерной модели на ПО Microsoft Excel PKSolver 2.0.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1. Физико-химические свойства супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с использованием для адресной доставки различных компонентов

Исследование растворимости образцов твердых дисперсий фенбендазола и полимеров (АГ и ПВП) методом ВЭЖХ анализа показало, что этот показатель зависит как от природы полимеров, так и условий механообработки. Так, в случае твердых дисперсий, полученных из фенбендазола и АГ, получили следующие результаты: при увеличении времени механообработки до 5 ч идет заметное повышение растворимости в случае обоих полимеров, а с увеличением времени обработки более 5 ч показатели растворимости падают до 4-5 раз.

В пересчете на концентрации лекарственных веществ (ЛВ) в водных растворах были выбраны композиции с массовым соотношением компонентов 1:10, поскольку увеличение доли ЛВ ведет к понижению растворимости, а вспомогательного компонента — «перегружает» массу лекарственной формы, предназначенной для перорального приема (E.S. Meteleva et al., 2019).

При изучении растворимости образцов твердых дисперсий фенбендазола с ПВП, физической смеси и базового препарата, установлено, что максимальный показатель повышения растворимости характерен для ТДФ с ПВП, подвергшейся 4-часовой механообработке.

Также нами в сравнительном аспекте изучена растворимость твердых дисперсий фенбендазола с другими компонентами: Na₂ГК, ЭС, ГЭК, НДОСС в различных соотношениях после 4 ч механообработки (таблица 1).

Таблица 1 – Растворимость фенбендазола и его твердых дисперсий в воде после 4 ч механообработки

Название образца, соотношение компонентов	Растворимость	
	абсолютная, мг/л	увеличение, раз
Фенбендазол (ФБЗ) исходный	0,33	—
ФС* ФБЗ:ПВП=1:10	1,7	5,2
ФБЗ:ПВП =1:10	7,9	24,0
ФБЗ:АГ =1:10	7,0	21,0
ФБЗ:Na ₂ ГК =1:5	12,1	36,70
ФБЗ:Na ₂ ГК =1:10	17,4	52,70
ФБЗ:Na ₂ ГК =1:20	34,5	104,5
ФБЗ:ЭС:НДОСС =10:89,9:0,10	25,3	76,7
ФБЗ:ЭС =1:10	3,2	9,7
ФБЗ:ГЭК=1:10	2,4	7,3
ФБЗ:НДОСС=1:10	9,3	28,2
ФБЗ:ПВП:НДОСС =10:88,85:0,15	7,9	24,0
ФБЗ:ПВП:НДОСС =10:89,9:0,10	7,0	21,2
ФБЗ:ПВП:НДОСС =10:89,95:0,05	3,8	11,5
ФБЗ:ПВП:НДОСС (10:89,0:1,0)*	1,5	4,5

Примечание: *физическая смесь.

Было установлено, что для систем ФБЗ:Na₂ГК растворимость ФБЗ может увеличиваться в 100 раз, для систем ФБЗ:ЭС:НДОСС – в 76,7 раза, для ФБЗ:НДОСС – в 28,2 раза. Наибольшая растворимость твердой дисперсии фенбендазола с ПВП и НДОСС – в 24,0 раза отмечена после механохимической обработки в соотношении 10:88,85:0,15.

После механохимической обработки смеси ФБЗ в ИК-спектрах уменьшается соотношение интенсивностей полос фенбендазола относительно спектра АГ, что может говорить об образовании комплексов включения. Это согласуется с данными по значительно более сильному росту растворимости для ТДФ, полученных методом растворения (таблица 1). При механохимической обработке ФБЗ с ПВП в ИК-спектрах (рисунок 1) наблюдаются аналогичные закономерности относительно соотношения интенсивностей полос ФБЗ и ПВП. На основании анализа ИК-спектров (рисунок 2) было выявлено, что в процессе совместной механообработки субстанции ФБЗ с ЭС и НДОСС не происходит деструктивных изменений лекарственного вещества. В твердой дисперсии содержатся частоты поглощения исходного ФБЗ с незначительным смещением в область повышения частот на 1–7 см⁻¹. Полосы 3310 и 1092 см⁻¹, характерные для исходного ФБЗ смещаются в область снижения частот до 8 см⁻¹. Результаты анализа ИК-спектров свидетельствуют об образовании межмолекулярных комплексов ФБЗ с компонентами твердой дисперсии.

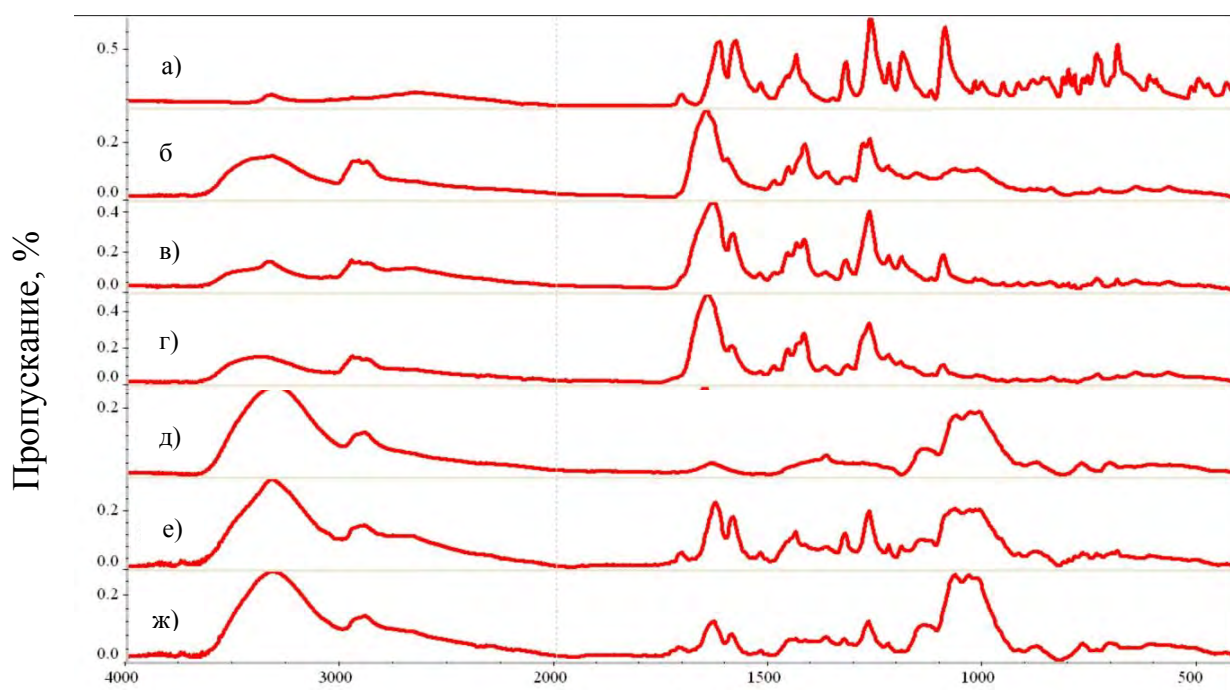


Рисунок 1 – ИК-спектры исходного фенбендазола (а); поливинилпирролидона (б); физической смеси ФБЗ:ПВП (в); ТДФ с ПВП (16 ч м/о) (г); арабиногалактана (д); физической смеси ФБЗ:АГ (е); ТДФ с АГ (24 ч м/о) (ж)

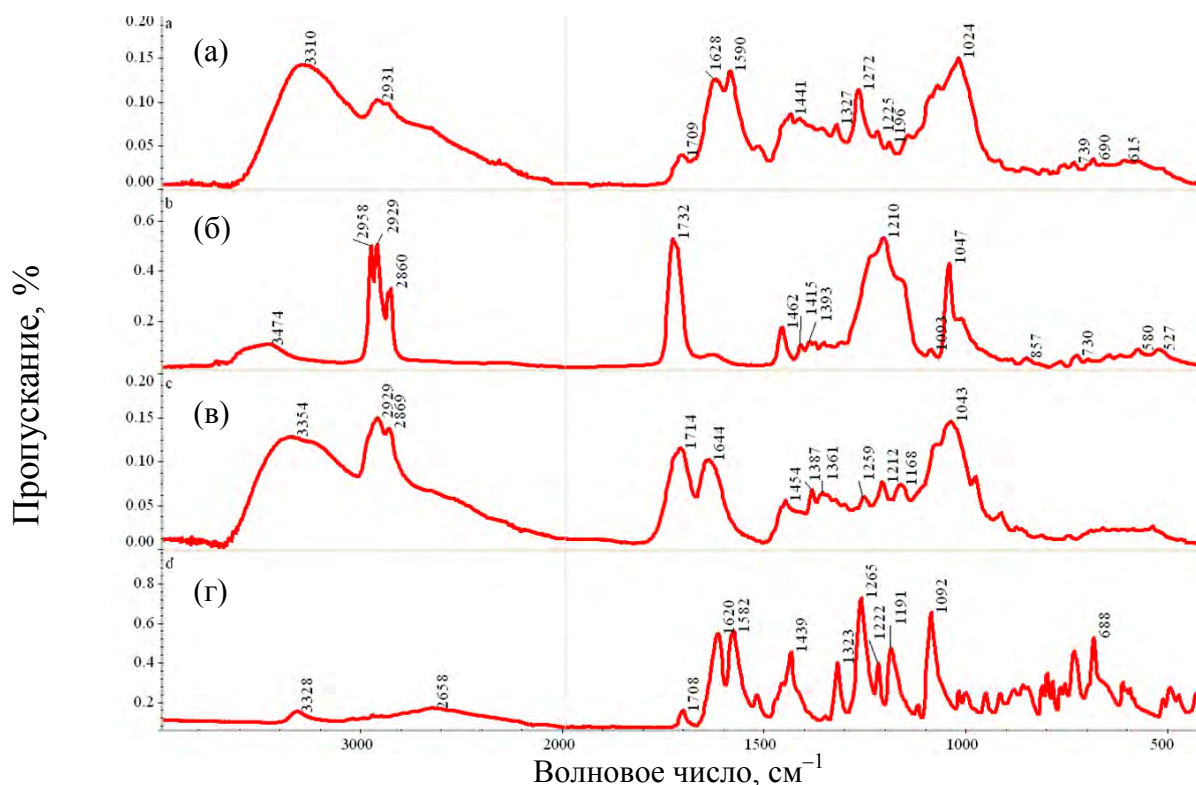


Рисунок 2 – ИК-спектры твердой дисперсии фенбендазола с экстрактом солодки и натрия диоктилсульфосукцинатом (а), ИК-спектры натрия диоктилсульфосукцината (б), экстракта солодки (в) и исходного фенбендазола (г)

Значительная разница получена при рентгенофазовом анализе образцов ТД ФБЗ с ПВП в сравнении с отдельными компонентами ФБЗ и ПВП. Интенсивность кристаллической фазы ТД ФБЗ значительно снижалась, и отсутствовали ее пики в сравнении с интенсивностью ФБЗ (рисунок 3).

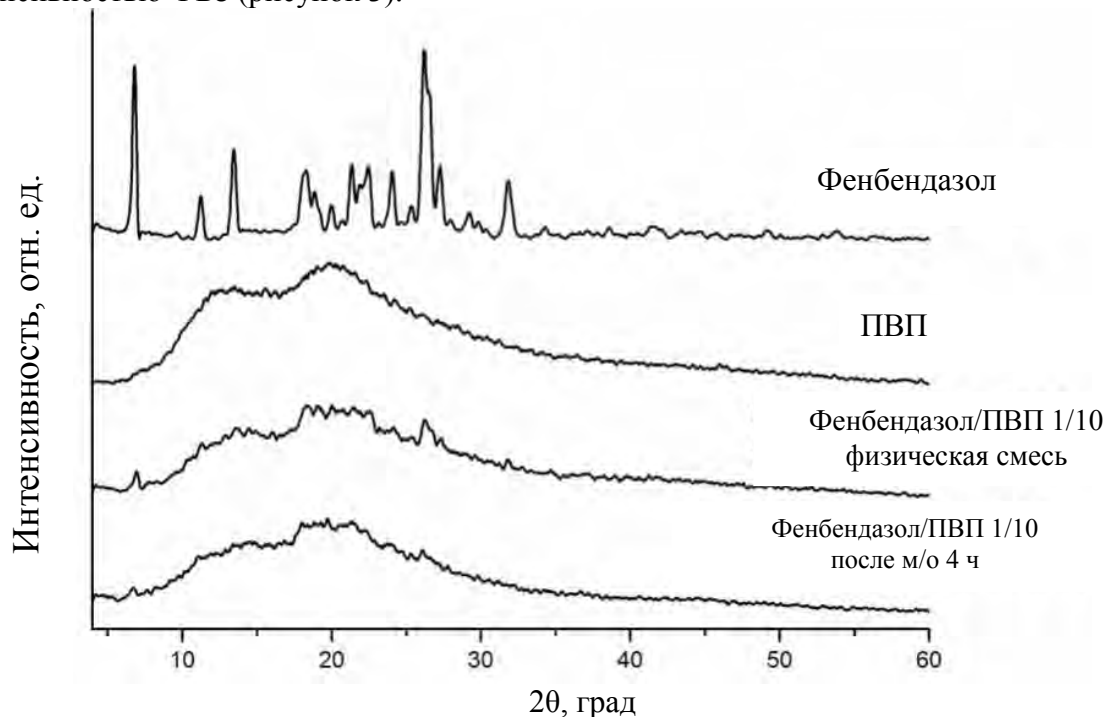


Рисунок 3 – Дифрактограмма рентгенофазового анализа ФБЗ и ПВП, их механической смеси и механохимической композиции

Микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии, показала, что ПВП состоит из сферических частиц размером 10–100 μm (рисунок 4 а). ФБЗ состоит из частиц размером 5–30 μm (рисунок 4 б).

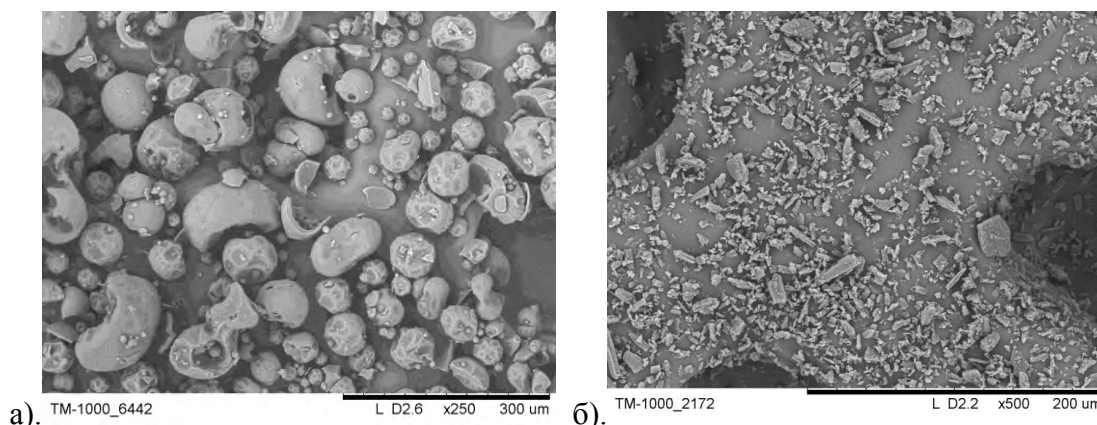


Рисунок 4 – Электронная микрограмма исходной субстанции ПВП (а) и исходной субстанции ФБЗ (б)

После механохимического процесса частицы исходного ФБЗ и сферические частицы ПВП образовывали полидисперсный порошок, состоящий из частиц размером 5–10 мкм и их агрегатов (рисунок 5).

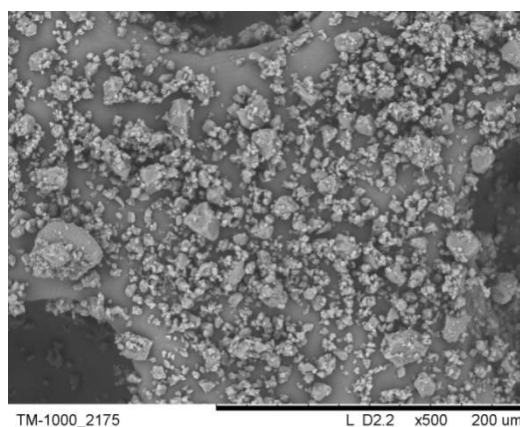


Рисунок 5 – Электронная микрограмма композиции ФБЗ и ПВП, полученной по механохимической технологии (1/10, 4 ч)

В результате гранулометрический анализа водной суспензии ФБЗ и его композиции с ПВП установлено повышение по массе и объему мелких частиц размером < 10 , < 5 , < 1 мкм. Таким образом, в процессе механохимической обработки субстанции ФБЗ с полимером происходит значительное снижение размеров нерастворенных частиц (рисунок 6).

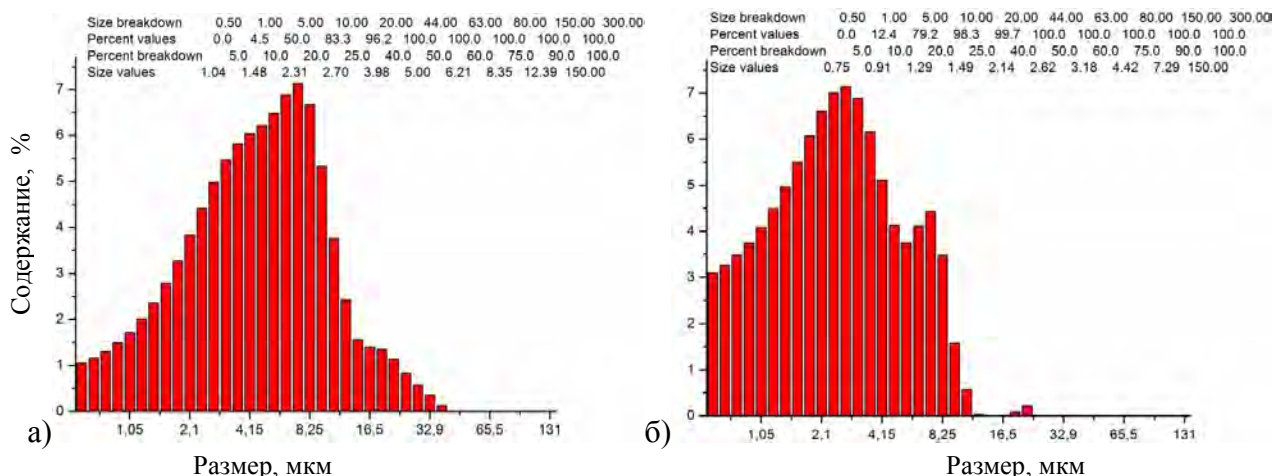


Рисунок 6 – Гранулометрический анализ исходной субстанции фенбендазола (а) и ТДФ с ПВП, полученной по механохимической технологии (1/10) (б)

При термическом анализе на термограмме регистрировали только низкотемпературные эндотермические пики, вероятно соответствующие трансформации ПВП и не было пиков точки плавления ФБЗ, что свидетельствует о том, что точка плавления ФБЗ значительно выше точки плавления ПВП.

2.2.2. Токсические свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола

2.2.2.1. Острая токсичность препарата при введении белым мышам и крысам

Результаты сравнительного изучения острой токсичности супрамолекулярных комплексов фенбендазола при введении в желудок белым мышам приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели острой токсичности препаратов при введении в желудок белым мышам

Препарат	Пало/выжило от дозы (мг/кг)			
	7000	10000	15000	20000
СМКФ с ПВП	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с АГ (фармакоп.)	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с АГ (Алтайский)	0/10	0/10	3/7	5/5
СМКФ с Na ₂ ГК	0/10	0/10	1/9	2/8
СМКФ с НДОСС	0/10	0/10	3/7	5/5
СМКФ с ЭС	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с ГЭК	0/10	0/10	0/10	0/10
Фенбендазол базовый	0/10	0/10	0/10	0/10

Наиболее токсичными оказались СМКФ с НДОСС и СМКФ с АГ Алтайского производства. После их введения в желудок в дозе 15000 мг/кг отмечали гибель трех из 10 мышей, а после дозы 20000 мг/кг пало по 5 из 10 мышей. Более токсичным также оказался СМКФ с Na₂ГК. От этого препарата в дозах 15000 и 20000 мг/кг пали соответственно одна и две мыши из 10. В связи с низкой токсичностью препарата, условно за ЛД₅₀ приняли максимальную дозу для перорального введения – 20000 мг/кг. ЛД₅₀ СМКФ с ПВП, СМКФ с АГ (фармакопейным), СМКФ с ЭС и СМКФ с ГЭК рассчитать также было невозможно в связи с тем, что от максимально вводимой дозы препаратов – 20000 мг/кг, не отмечали падежа животных. В связи с этим, максимально переносимой дозой СМКФ с ПВП, АГ

(фармакопейным), ЭС и ГЭК можно считать дозу более 20000 мг/кг, не вызывающую падежа и признаков интоксикации организма. Не токсичным был также базовый препарат – фенбендазол, после введения которого в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг не отмечали падежа мышей.

При клиническом наблюдении за животными установлено, что при введении в желудок СМКФ с НДОСС, СМКФ с Na₂ГК и СМКФ с АГ (Алтайского производства) в токсических дозах (15000-20000 мг/кг), у мышей в первые часы отмечали одышку, возбуждение, тремор, постепенно переходящие в судороги, которые заканчивались гибелью животных или постепенным восстановлением жизненных функций организма.

При патологоанатомическом вскрытии павших животных отмечали гиперемии стенок желудка, двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника; в предсердиях обнаружили темную несвернувшуюся кровь, на поверхности печени и почек точечные кровоизлияния; капсула с почек легко снималась.

С учетом установленных значений ЛД₅₀ согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76), СМКФ с ПВП, ЭС, ГЭК, АГ (фарм.) и базовый препарат – фенбендазол по степени воздействия на организм белых мышей относятся к 4 классу опасности – вещества малоопасные. Таким образом, СМКФ с НДОСС, Na₂ГК и АГ (Алт.) оказались более токсичными для организма теплокровных по сравнению с субстанцией фенбендазола и другими супрамолекулярными комплексами. Более высокая токсичность СМКФ с Na₂ГК, НДОСС и АГ (Алт.) может объясняться повышенной токсичностью и всасываемостью перечисленных средств доставки по сравнению с базовым препаратом – фенбендазолом и комплексами с ПВП, ЭС и ГЭК.

Результаты изучения параметров острой токсичности СМКФ с ПВП при введении в желудок белым крысам в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг не выявили токсичности препарата.

Не установлено выраженной видовой чувствительности СМКФ с ПВП. ЛД₅₀ при введении в желудок белым крысам и мышам составила более 20000 мг/кг.

2.2.2.2. Раздражающее действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола на кожу и слизистые глаза

В результате изучения раздражающего действия СМКФ на кожу не установлено отрицательного воздействия на неповрежденную кожу крыс.

При введении 1%-й суспензии СМКФ в конъюнктивный мешок глаза кроликов отмечали кратковременную физиологическую реакцию на внесение инородного тела; иных признаков раздражающего действия не наблюдали в течение всего периода наблюдений. Следовательно, можно говорить об отсутствии раздражающего действия СМКФ на кожу и слизистые глаза.

2.2.2.3. Кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола

При оценке кумулятивных свойств при введении СМКФ в дозе 1/10 от ЛД₅₀, суммарная доза вводимого препарата за этот период составила 257368 мг/кг. В связи с тем, что случаи падежа животных отсутствовали, и признаков интоксикации у крыс отмечено не было, то значение коэффициента кумуляции определить не удалось. В соответствии с принятой классификацией СМКФ относится к группе веществ, не обладающих кумулятивными свойствами.

2.2.2.4. Субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Установлено, что при введении СМКФ в трех тестируемых дозах в течение 7 суток общее состояние и поведение животных соответствовало физиологическим нормам; признаков интоксикации зарегистрировано не было.

Таблица 3 демонстрирует динамику прироста массы тела крыс трех опытных и контрольной групп. По проценту прироста к исходной массе тела можно сделать вывод о том, что СМКФ критически не влияет на данный показатель.

Таблица 3 – Динамика прироста массы тела крыс, получавших СМКФ в разных дозах в течение 7 суток

Срок исследования, сутки	Масса тела крыс (г), получавших препарат в дозе			Контроль
	1/5 от ЛД ₅₀ (4000 мг/кг)	1/10 от ЛД ₅₀ (2000 мг/кг)	1/20 от ЛД ₅₀ (1000 мг/кг)	
1	224,32±7,66	230,41±6,43	233,18±9,24	229,37±7,02
3	235,17±11,24	242,27±12,01	245,07±10,38	240,15±9,36
5	249,08±10,13	256,89±11,65	259,14±9,53	251,60±8,78
7	262,40±8,46	270,34±10,12	272,62±8,49	263,51±10,05
% к исходной массе	116,97±8,32	117,33±9,18	116,91±8,57	114,88±8,23

При макроскопическом обследовании внутренних органов опытных животных патологических отклонений и видимых изменений не установлено. Массовые коэффициенты внутренних органов у крыс опытных и контрольной группы достоверно не отличались друг от друга.

При микроскопическом исследовании внутренних органов крыс, получавших СМКФ в дозе 4000 мг/кг, отмечали следующее.

Печень. При гистологическом исследовании образцов гистосрезов печени крыс, получавших СМКФ, не отмечали патоморфологических нарушений. Паренхима дольчатая, дольки имеют вид усеченной многогранной призмы. В центре каждой дольки проходит центральная вена, от которой радиально отходят печеночные балки. Гепатоциты многогранной формы с одним или несколькими ядрами. Между гепатоцитами внутри печеночных балок располагаются желчные капилляры (рисунок 7).

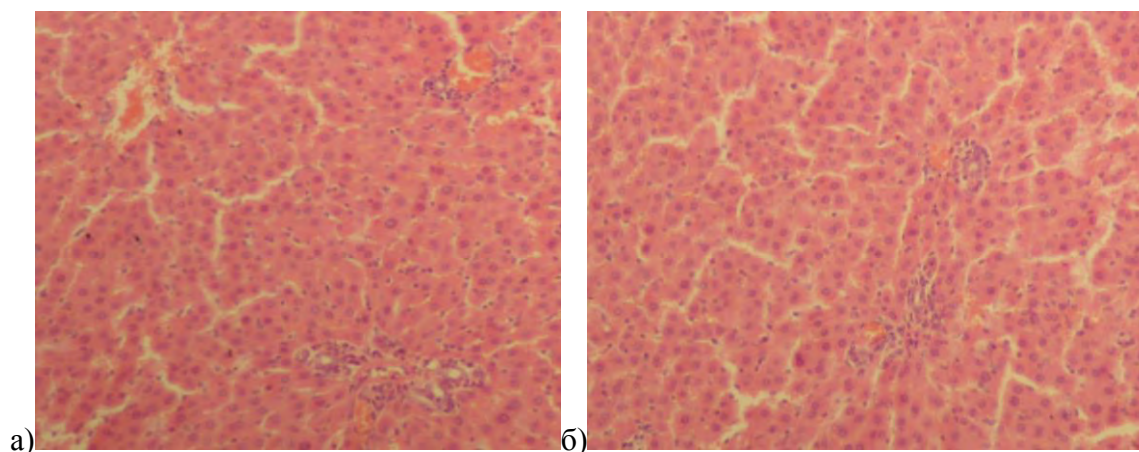


Рисунок 7 – Микрофотография гистологических срезов печени контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40 x 10

Легкие. На микроскопических препаратах отчетливо видны альвеолы с альвеолярными мешками и бронхи со свободным просветом. Паренхима представлена однослойным плоским эпителием с прослойками рыхлой соединительной ткани с сосудами, нервами, макрофагами и лимфоцитами. Кровенаполнение сосудов равномерное. Гистологическая картина однотипна с контрольной группой животных (рисунок 8).

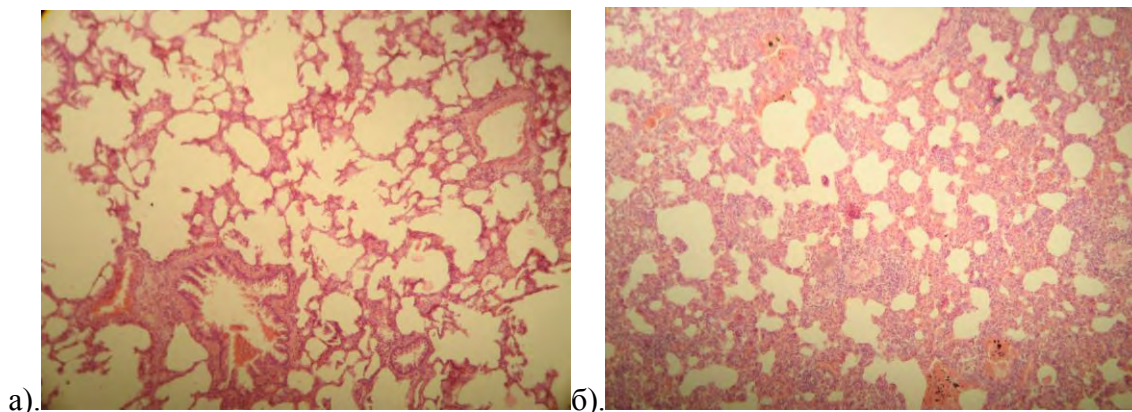


Рисунок 8 – Микрофотография гистологических срезов легких контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40 x 10

На микропрепаратах селезенки, сердечной мышцы и почек патологических изменений не обнаруживали.

Можно сделать вывод о том, что введение модифицированного фенбендазола в дозе 1/5 от ЛД₅₀ не оказало влияния на морфологию тканей внутренних органов белых крыс.

У опытных и контрольных животных гематологические показатели, активность ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ, а также уровни общего белка, глюкозы, общего и прямого билирубина в сыворотке крови опытных и контрольных групп статистически не различались. Не установлено значимых различий в содержании мочевины и уровне креатинина после введения СМКФ в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀ в сыворотке крови крыс опытных и контрольных групп. Таким образом, введение испытуемого препарата в течение семи суток не оказало нефротоксического действия.

Данные результаты свидетельствуют об отсутствии токсического влияния препарата на морфологический состав и функциональное состояние периферической крови экспериментальных животных.

2.2.2.5. Эмбриотоксическое и тератогенное действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола

При введении СМКФ с 1–6-е сутки эмбриогенеза было отмечено, что общее состояние крыс, двигательная активность, потребление корма и воды, привесы массы тела соответствовали показателям контрольной группы животных. Уровни предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности были равны соответственно 9,27%, 2,34% и 12,72% против 9,30%, 2,09% и 10,04% в контроле ($P \geq 0,05$). При введении СМКФ с 7–14-е сутки и с 15–19-е сутки данные показатели составили соответственно 10,24%; 2,13%; 11,16% и 9,70%; 1,34% и 10,78%. Статистического достоверного изменения массы и размеров плодов на данном и на других сроках беременности отмечено не было. Так, размер плодов в опытной группе при введении СМКФ в первый период эмбриогенеза составил $2,90 \pm 0,08$, в контроле $2,94 \pm 0,06$ см. Масса плодов была равна $2,67 \pm 0,31$, в контроле $2,69 \pm 0,23$ г ($P \geq 0,05$). Размер и масса

плаценты не значительно отличались в опытных и контрольных группах. Аналогичные результаты были получены по данным показателям на 7–14-е сутки и 15–19-е сутки эмбриогенеза. Соотношение самцов и самок было примерно одинаковым в потомстве от крыс в опытных и контрольных группах.

При исследовании тератогенного эффекта препарата, характеризующегося различными аномалиями со стороны внутренних органов плодов (метод Вильсона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР) показано, что выраженных внешних и внутренних аномалий развития у плодов не зарегистрировано. Состояние костной системы было без изменений, о чем свидетельствуют данные, полученные по методу Даусона. Размеры зачатков плечевой, лопаточной, локтевой, лучевой, а также бедренной, большой и малой берцовых костей у опытных и контрольных плодов находились в пределах нормы.

2.2.2.6. Оценка иммунотоксического действия супрамолекулярного комплекса фенбендазола

При исследовании сывороток крови контрольных животных в реакции прямой гемагглютинации значения титров антител установлены на уровне $7,67 \pm 1,53$ ($\log_2$). При пероральном однократном введении испытуемого препарата в терапевтической и десятикратно увеличенной дозах имела место тенденция к снижению титра агглютининов в сыворотке крови животных, и она составила соответственно $6,50 \pm 1,42$; $6,17 \pm 1,50$ ($\log_2$). Введение базового препарата в десятикратной дозе не привело к достоверному изменению титров агглютининов в сыворотке и составило $7,75 \pm 1,72$ ($\log_2$). При этом все индексы реакции – 0,85; 0,80 и 1,01 укладывались в рамки оценки препарата, как не оказывающего отрицательного воздействия на выработку агглютининов.

Результаты исследования показали, что СМКФ, введенный мышам перорально однократно в терапевтической (20 мг/кг) и десятикратно увеличенной дозах (200 мг/кг), не оказывал влияния на клеточное звено иммунитета и сдвиги индекса реакции воспаления у животных составили соответственно $9,05 \pm 3,47$ и $10,05 \pm 2,25\%$, т.е. интенсивность воспалительной реакции была на уровне контрольной группы или незначительно выше.

По результатам проведенных исследований можно говорить об отсутствии у СМКФ иммунотоксичности в диапазоне испытанных доз и кратности введения.

2.2.3. Антигельминтная эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии на лабораторной модели

2.2.3.1. Испытание на модели *Trichinella spiralis*

Результаты испытания СМКФ с разными компонентами при экспериментальном трихинеллезе белых мышей приведены в таблице 4.

СМКФ с ПВП и в сочетании с НДООС (10:89,9:0,1) в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал 100%-ную эффективность против *T. spiralis*. СМКФ с АГ, Na₂ГК, ЭС и ГЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ проявили соответственно 94,9; 93,6; 86,0 и 81,0%-ную активность при экспериментальном трихинеллезе. Исходная субстанция фенбендазола в этой дозе оказала 24,3%-ный эффект. У животных контрольной группы, не подвергавшихся лечению, обнаружили в кишечнике, в среднем, по $87,6 \pm 6,7$ экз. *T. spiralis*.

Эффективность СМКФ с ПВП и в комбинации НДООС по сравнению с базовым препаратом повысилась в 4,1 раза.

Таблица 4 – Нематодоцидная эффективность СМКФ с различными компонентами при трихинеллезе белых мышей в дозе 2,0 мг/кг по ДВ

Группа животных	Антигельминтное средство, его состав	Число животных	Обнаружено трихинелл при вскрытии, экз./гол.	ИЭ, %	Повышение эффекта, раз
Опытная	ФБЗ:ПВП 1:10	10	0	100	4,1
Опытная	ФБЗ:Na ₂ ГК 1:10	10	5,6±0,9	93,6	3,8
Опытная	ФБЗ:ПВП:НДОС С 10:89,9:0,1	10	0	100	4,1
Опытная	ФБЗ:ЭС 1:10	10	12,3±1,0	86,0	3,5
Опытная	ФБЗ:ГЭК 1:10	10	16,6±1,0	81,0	3,3
Опытная	ФБЗ:АГ 1:10	10	4,5±0,8	94,9	3,9
Опытная	ФБЗ исходный	10	66,3±5,2	24,3	0
Контрольная	–	10	87,6±6,7	–	–

2.2.3.2. Испытание на модели *Hymenolepis nana*

Полученные результаты испытания СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ свидетельствуют о недостаточной эффективности большинства из испытанных препаратов, особенно ФБЗ с ГЭК и ФБЗ с ЭС. Эффективность СМКФ с ПВП и СМКФ с Na₂ГК составила 85%, а с НДОС – 100%. При этом их эффективность была в 3,4–4,1 раза выше активности исходного фенбендазола.

2.2.4. Эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола при основных гельминтозах овец

2.2.4.1. Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с арабиногалактаном

Полученные результаты изучения антигельминтного действия СМКФ с АГ свидетельствуют о различной степени эффективности СМКФ в разных дозах при различных гельминтозах.

Нематодироз. СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 97,57 и 94,94%-ную эффективность по результатам исследований проб фекалий методом флотации. Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола составила в дозе 5,0 мг/кг 95,28 и в дозе 1,0 мг/кг 8,62%. Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

Другие желудочно-кишечные стронгилятозы. СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 97,66 и 94,83%-ную эффективность. Субстанция фенбендазола в дозах 5,0 и 1,0 мг/кг показала соответственно 95,26 и 9,12%-ную активность. Таким образом, эффективность СМКФ оказалась в 2,5–3,75 раза выше активности субстанции.

Диктиокаулез. Получена 100; 96,73 и 85,61%-ная эффективность СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ соответственно. Субстанция фенбендазола в дозах 5,0 и 1,0 мг/кг проявила соответственно 96,32 и 13,82%-ную эффективность.

Стронгилоидоз. Результаты испытания СМКФ при стронгилоидозе ягнят свидетельствуют о 100%-ной эффективности комплекса фенбендазола в дозе 3,0 мг/кг по

ДВ. СМКФ в дозах 2,0 и 1,0 мг/кг показал соответственно 71,98 и 33,98%-ный эффект. Базовый препарат – субстанция фенбендазола – проявил в дозе 5,0 и 1,0 мг/кг соответственно 95,36 и 16,99%-ный эффект.

Трихоцефалез. Испытания препаратов при трихоцефалезе овец показали недостаточную эффективность СМКФ в дозах 1,0 и 2,0 мг/кг по ДВ. При повышении дозы СМКФ до 3,0 мг/кг эффективность составила 97,18%. Базовый препарат – субстанция фенбендазола в дозах 5,0 и 1,0 мг/кг – проявил соответственно 88,71 и 15,0%-ный эффект.

Мониезиоз. При испытании СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ ни одно животное полностью не освободилось от мониезий. Максимальной оказалась эффективность СМКФ в дозе 3,0 мг/кг. Препарат в этой дозе показал 98,28%-ный эффект. Эффективность субстанции фенбендазола в дозах 7,5 и 1,0 мг/кг составила соответственно 90,42 и 15,15%.

2.2.4.2. Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном

Полученные результаты испытания СМКФ с ПВП представлены в таблице 5 и свидетельствуют о повышении эффективности комплекса против гельминтов у овец, в сравнении с базовым препаратом.

Таблица 5. – Эффективность СМКФ с ПВП в соотношении 1:10 при гельминтозах овец (n = 10)

Препарат	Доза, мг/кг, по ДВ	Осво-боди-лось от инвази и, гол.	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц гельмин-тов в фе-калиях, %
			до опыта	после лечения	
Нематодироз					
СМКФ	3,0	10	131,4±5,3	0	100
СМКФ	2,0	8	132,3±5,2	3,0	97,81
СМКФ	1,0	6	129,4±5,0	6,6±1,2	95,18
ФБЗ субст.	2,0	0	130,6±5,1	120,0±5,2	12,22
Мех. смесь ФБЗ:ПВП	2,0	0	131,7±5,3	113,4±5,0	17,05
Контроль	—	0	130,4±5,2	136,7±5,4	—
Другие желудочно-кишечные стронгилятозы					
СМКФ	3,0	10	149,5±6,2	0	100
СМКФ	2,0	9	150,6±6,3	2,0	98,72
СМКФ	1,0	5	148,0±6,1	8,9±1,5	94,30
ФБЗ субст.	2,0	0	152,1±6,5	132,3±5,6	15,20
Мех. смесь ФБЗ:ПВП	2,0	0	152,3±6,3	125,0±5,2	19,88
Контроль	—	0	151,6±6,4	156,0±6,5	—
Мониезиоз					
СМКФ	3,0	0	179,3±7,5	0	100
СМКФ	2,0	6	181,2±7,4	4,3±0,9	97,65
СМКФ	1,0	3	178,7±6,9	10,6±2,1	94,19
ФБЗсубст.	2,0	0	180,2±7,0	157,3±7,2	13,72
Мех. смесь ФБЗ:ПВП	2,0	0	181,0±7,3	149,6±7,1	17,94
Контроль	—	0	178,6±7,7	182,3±7,6	—

Нематодироз. СМКФ с ПВП в дозе 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100, 97,81 и 95,18%-ную эффективность по результатам копроовоскопических исследований. Инвазированность животных контрольной группы в период опыта существенно не изменялась ($P \geq 0,05$).

Другие желудочно-кишечные стронгилятозы. СМКФ с ПВП в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 98,72 и 94,30%-ную эффективность (таблица 5). Субстанция фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг показала 15,0%-ную активность, а механическая смесь фенбендазола и ПВП в дозе 2 мг/кг по ДВ проявила 15,20%-ную эффективность. Число яиц стронгилят в г фекалий овец контрольной группы составило в начале и конце опыта соответственно $151,6 \pm 6,4$ и $156,0 \pm 6,5$ экз. ($P \geq 0,05$). Таким образом, эффективность СМКФ оказалась в 6,5 раза выше активности исходной субстанции.

Мониезхоз. При испытании СМКФ с ПВП в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ получена соответственно 100; 97,65 и 94,19%-ная эффективность. Исходная субстанция фенбендазола и его механическая смесь с ПВП в дозе 2,0 мг/кг оказались слабо активными. Таким образом, отмечено значительное повышение эффективности СМКФ по сравнению с субстанцией фенбендазола.

2.2.4.3. Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном и диоктилсульфосукцинатом натрия

Полученные результаты испытания СМКФ с ПВП и НДОС в соотношении 10:89,9:0,1 на овцах свидетельствуют о различной степени эффективности препарата в разных дозах при различных гельминтозах.

Нематодироз. СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 99,19 и 95,15%-ную эффективность по результатам исследований проб фекалий методом флотации. На основании полученных результатов терапевтической дозой СМКФ при нематодирозе овец рекомендуем считать дозу 2,0 мг/кг по ДВ.

Другие желудочно-кишечные стронгилятозы. СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 97,75 и 94,70%-ную эффективность. Субстанция фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг показала 26,38%-ную активность.

Таким образом, эффективность СМКФ оказалась в 2,5–4 раза выше активности субстанции.

Мониезхоз. При испытании СМКФ в дозах 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ ни одно животное полностью не освободилось от мониезий. Максимальной оказалась эффективность СМКФ в дозе 3,0 мг/кг. Препарат в этой дозе показал 100%-ный эффект. Эффективность субстанции фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг по ДВ составила 25,42%.

2.2.4.4. Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с динатриевой солью глицирризиновой кислоты

Установлено значительное повышение эффективности СМКФ с $\text{Na}_2\text{ГК}$ по сравнению с субстанцией ФБЗ. Так, СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал 2,8-; 2,4- и 5,2-кратное повышение эффективности против нематодирозов, других желудочно-кишечных стронгилят и мониезий по сравнению с субстанцией фенбендазола в той же дозе. В дозе 3,0 мг/кг препарат имел самую высокую антигельминтную активность. Субстанция ФБЗ показала слабое антигельминтное действие.

2.2.4.5. Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки

СМКФ с ЭС в соотношении 1:10 и 1:5 в форме порошка показал соответственно 89,96 и 85,56%-ную эффективность против *Nematodirus* spp. по результатам копроовоскопии. СМКФ с ЭС в соотношении 1:10 и 1:5 в форме 2,4 и 4,5%-ной суспензии проявил соответственно 83,61 и 84,53%-ный эффект при нематодирозе овец.

При других стронгилятозах пищеварительного тракта овец СМКФ с ЭС в соотношении 1:10 и 1:5 в форме 10 и 17%-ных порошков показал соответственно 88,73 и 72,43%-ную эффективность, а этот же комплекс в форме 2,4 и 4,5%-ной суспензии, проявил соответственно 86,40 и 87,75%-ную активность. Механическая смесь фенбендазола и ЭС в соотношении 1:10 показала в этой же дозе 28,44%-ную эффективность. Субстанция фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг проявила только 21,94%-ный эффект. Число яиц стронгилят в 1 г фекалий в начале и конце опыта существенно не изменилось и составило соответственно $76,8 \pm 5,8$ и $81,6 \pm 7,0$ экз.

Нами не установлено значительной разницы в повышении эффективности СМКФ с ЭС в форме суспензии и порошка, так как последний назначали овцам перорально также в форме суспензии с водой.

2.2.4.6. Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки и диоктилсульфосукцинатом натрия

Полученные результаты испытания СМКФ с ЭС и НДОСС при гельминтозах овец показали различную степень эффективности использования препарата в разных дозах. Так, в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ СМКФ продемонстрировал соответственно 100; 98,22 и 95,64%-ную эффективность против *Nematodirus* spp. по результатам копроовоскопии. Субстанция ФБЗ показала 16,22%-ное антигельминтное действие.

СМКФ показал 100, 97,94 и 95,47%-ную эффективность против других желудочно-кишечных стронгилят овец в дозах соответственно 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ. Субстанция ФБЗ в дозах 5 и 1 мг/кг по ДВ проявила 95,67 и 20,25%-ную антигельминтную активность при обнаружении в 1 г фекалий овец контрольной группы $192,6 \pm 7,3$ и $198,6 \pm 7,4$ экз. до и в конце опыта. Следовательно, эффективность введения СФБЗ была в 4,7–5,8 раза выше эффективности субстанции ФБЗ.

Повышение антигельминтной эффективности комплекса, по нашему мнению, обусловлено ролью механохимической обработки и применением для адресной доставки НДОСС и ЭС, что позволило увеличить растворимость препарата в воде.

2.2.4.7. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против половозрелых и личинок сычуга овец

Результаты изучения активности СМКФ с ПВП против половозрелых и личинок стронгилят сычуга овец свидетельствуют о высокой эффективности. У животных контрольной группы обнаруживали, в среднем, $76,2 \pm 9,4$ экз. половозрелых *Ostertagia ostertagi*, $79,8 \pm 9,2$ экз. половозрелых *Haemonchus contortus* и $16,4 \pm 3,1$ экз. половозрелых *Trichostrongylus colubriformis*, а также $36,5 \pm 5,2$ экз. личинок 4-й стадии остертагий, $24,4 \pm 5,6$ экз. личинок гемонхусов и $3,6 \pm 1,0$ экз. личинок трихостронгилюсов.

После введения препарата в дозе 2,0 мг/кг по ДВ в сычуге овец обнаружили, в среднем, 0,2 экз. половозрелых *O. ostertagi* и 0,3 экз. личинок остертагий. Половозрелых и личинок гемонхусов и трихостронгилюсов у леченых животных не находили.

Таким образом, препарат в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал 99,7–100%-ную эффективность против половозрелых особей и 99,1–100%-ную эффективность против личинок стронгилят сычуга овец.

2.2.4.8. Действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола на яйца *Moniezia expansa*

Результаты изучения действия препарата СМКФ с ПВП на яйца мониезий свидетельствуют о значительном повышении числа нежизнеспособных яиц мониезий после дегельминтизации овец.

СМКФ оказал губительное действие на имагинальные мониезии и на их яйца. На первые сутки после дегельминтизации овец СМКФ в дозе 2,0 мг/кг нежизнеспособными оказались 37,79%. В последующие сроки после дегельминтизации процент нежизнеспособных яиц мониезий в фекалиях овец повысился до 78,52% на вторые сутки и до 80,93% на третьи сутки после введения препарата. При лечении овец базовым препаратом – фенбендазолом в дозе 5,0 мг/кг также отмечали овоцидные свойства.

Овоцидное действие препаратов в большей степени отмечали на 3-и сутки после их применения. Учитывая полученные нами результаты о неполной гибели всех выделяющихся с фекалиями яиц цестод после дегельминтизации, целесообразно первые трое суток после лечения животных не выпасать на пастбище во избежание его контаминации инвазионными элементами.

2.2.4.9. Сравнительная активность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с различными компонентами для адресной доставки

Полученные результаты испытания на овцах СМКФ, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки свидетельствуют о разной степени эффективности СМКФ с разными компонентами при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец.

При нематодирозе овец СМКФ с ПВП, Na₂ГК, НДОСС, ЭС, ГЭК и АГ в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 99,15; 98,12; 98,29; 90,06; 88,98 и 96,23%-ную эффективность по результатам исследований проб фекалий методом флотации. После дегельминтизации животных в фекалиях отдельных овец находили единичные экземпляры яиц *Nematodirus*.

Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола составила в дозе 2,0 мг/кг 23,78%. Следовательно, эффективность СМКФ с компонентами для адресной доставки была выше в 3,7–4,1 раза по сравнению с базовым препаратом.

При других желудочно-кишечных стронгилятозах овец эффективность СМКФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ составила 98,67%, с Na₂ГК 98,15%, с НДОСС 98,31%, с ЭС 89,01%, с ГЭК 85,98% и с АГ 94,56%.

2.2.5. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота

Сведения об эффективности СМКФ при желудочно-кишечных стронгилятозах и диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота свидетельствуют о том, что комплекс в дозе 3,0 мг/кг по ДВ способствовал их полному освобождению от стронгилят (100%). Во II-й группе, телятам которой препарат вводили в дозе 2,0 мг/кг, получена 96,05%-ная эффективность. После использования СМКФ в дозе 1,0 мг/кг по ДВ эффективность составила 79,71%.

При диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота препарат в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100; 96,76 и 85,01%-ную эффективность. Субстанция фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг проявила 96,36%-ную активность. Инвазированность животных контрольной группы *D. filaria* за период наблюдений повысилась незначительно. Число личинок данной нематоды в 1 г фекалий варьировало в пределах $117,0 \pm 6,8$ – $123,4 \pm 6,9$ экз.

Таким образом, терапевтической дозой СМКФ при стронгилятозах пищеварительного тракта и диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота рекомендуем считать 3,0 мг/кг по ДВ.

При стронгилоидозе телят эффективность СМКФ в дозе 3,0 мг/кг по ДВ была 100%-ной. Базовый препарат – субстанция фенбендазола в дозе 10,0 мг/кг при данной инвазии проявил 95,47%-ный эффект. Инвазированность животных контрольной группы в период опыта была в пределах $106,8 \pm 6,5$ – $110,2 \pm 6,3$ экз. в 1 г фекалий ($P > 0,05$).

При трихоцефалезе молодняка крупного рогатого скота СМКФ в дозе 4,0 мг/кг проявил 97,42%-ную активность. Эффективность базового препарата в дозе 10,0 мг/кг была 93,80%-ной. Зараженность животных контрольной группы за период наблюдений существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

Таким образом, доза СМКФ – 3,0 мг/кг по ДВ, оптимальная для лечения молодняка крупного рогатого скота при основных нематодозах и 4 мг/кг по ДВ – при трихоцефалезе.

2.2.6. Влияние супрамолекулярного комплекса фенбендазола на организм сельскохозяйственных животных

2.2.6.1. Влияние повышенных доз препарата на организм овец

Результаты оценки клинических показателей овец свидетельствуют о том, что после дачи СМКФ в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах не отмечали негативного влияния препарата на организм овец. Температура тела ($38,9$ – $39,7^{\circ}\text{C}$), число дыхательных движений ($20,6$ – $27,2$), пульс ($71,7$ – $79,0$) и сокращения рубца ($3,7$ – $5,0$) находились в пределах физиологической нормы и не отличались от показаний овец контрольной группы.

СМКФ в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах не оказывал отрицательного влияния на морфологические показатели крови овец. Не установлено существенной разницы в показателях крови овец опытных и контрольной групп ($P \geq 0,05$).

Результаты биохимических исследований крови овец после введения СМКФ в терапевтической дозе (2 мг/кг по ДВ), в 3 и 5 раз повышенных дозах свидетельствуют об отсутствии изменений исследуемых показателей. При биохимическом исследовании крови овец опытной группы, получавших дозу 10 мг/кг по ДВ, на 1, 3 и 5-е сутки показатели активности амилазы были сравнимы с контрольной группой: $252,2 \pm 5,8$; $252,6 \pm 5,6$ и $254,7 \pm 6,2$ Ед/л к $253,8 \pm 6,3$; $253,2 \pm 5,6$ и $253,6 \pm 5,9$ Ед/л. Показатели активности щелочной фосфатазы животных подопытной группы, получавших препарат в дозе 10 мг/кг по ДВ, на 1, 3 и 5-е сутки были также сравнимы с показателями контрольной группы животных ($P \geq 0,05$). Показатели общего билирубина, креатинина, мочевины, глюкозы у всех подопытных групп соответствовали физиологическим нормам. Исходя из этого, можно сделать вывод, что СМКФ в терапевтической и увеличенных дозах не оказывал токсического влияния на функцию печени, почек, поджелудочной железы и работу других внутренних органов овец.

2.2.6.2. Влияние повышенных доз препарата на организм крупного рогатого скота

После введения СМКФ в терапевтической и в повышенных дозах (трех- и пятикратных) не отмечено отрицательного влияния препарата на организм животных. Температура тела (37,8–38,2°C), число дыхательных движений (17,7–18,1), пульс (52,9–66,7) и число сокращений рубца (4,6–4,8) находились в пределах нормы и не отличались от показаний животных контрольной группы ($P \geq 0,05$). При изучении влияния СМКФ на гематологические и биохимические показатели крови крупного рогатого скота установлено, что препарат в терапевтической и в повышенных дозах (3, 9 и 15 мг/по ДВ) не оказывал на них патологического воздействия.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют об отсутствии токсических свойств и хорошей переносимости препарата животными.

2.2.7. Биотрансформация фенбендазола в организме овец после введения супрамолекулярного комплекса фенбендазола

2.2.7.1. Метаболизм и особенности фармакокинетики супрамолекулярного фенбендазола в организме овец

Для проведения анализа по определению содержания фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови и органах и тканях овец методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) была проведена валидация методики. Методика имела линейную зависимость ($R > 0,99$) в диапазоне 5 – 1000 нг/г и показала хорошую воспроизводимость и правильность. Метод позволяет идентифицировать фенбендазол и его метаболиты в модельных пробах и образцах биологических матриц овец.

Полученные результаты изучения особенностей метаболизма СМКФ в организме овец методом ВЭЖХ-МС/МС свидетельствуют о его существенной разнице в сравнении с базовым препаратом при введении овцам в одинаковой дозе – 2 мг/кг по ДВ. Так фенбендазол начали обнаруживать через 2 ч в сыворотке крови овец после однократного перорального введения СМКФ с ПВП и только через 4-6 ч после применения базового препарата. Содержание ФБЗ и его метаболитов было в 2,6-5,0 раз выше в сыворотке крови овец после введения СМКФ с ПВП. Максимальную концентрацию ФБЗ и его метаболитов обнаруживали в сыворотке крови овец через 33 ч после введения СМКФ и составила 57,5; 63,3 и 53,1 нг/мл соответственно фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона, а после введения базовой субстанции фенбендазола обнаружено 22,3; 18,7 и 16,2 нг/мл соответственно. В последующие сроки исследований концентрация фенбендазола и его метаболитов снижалась и через 144 ч базовый препарат не обнаруживали в образцах сыворотки крови, СМКФ не определяли спустя 360 ч (таблица 6).

Фармакокинетические параметры фенбендазола и его метаболитов свидетельствуют о значительном повышении в 2,3 раза скорости абсорбции и поступления фенбендазола в кровь после введения СМКФ по сравнению с показателем базового препарата (таблица 7). Время всасывания в кровь половины введенной дозы СМКФ составило 14,01 ч, а базового фенбендазола 26,88 ч. Существенная разница в 4,7 раза получена по показателю клиренса. Также отмечено повышение в 2,6; 2,4 и 2,6 раза максимальной концентрации соответственно фенбендазола, сульфона и сульфоксида фенбендазола в крови овец после применения СМКФ. Установлено повышение в 2,7; 2,5 и 2,7 раза значения показателя площади под кривой концентрация-время после назначения СМКФ по сравнению с базовым препаратом; значения АУМС фенбендазола, сульфоксида и сульфона были превышены в 7,1; 3,9 и 4,8 раза соответственно в сравнении с показателями базового

препарата. Среднее время удержания в системном кровотоке после введения СМКФ для фенбендазола составило 378,57 ч, для фенбендазола сульфоксида – 68,01 ч и 82,19 ч для сульфона фенбендазола по сравнению с показателями животных, получавших базовый препарат, соответственно: 62,17; 55,55 и 57,52 ч (рисунок 9).

Таблица 6. – Содержание фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения базового фенбендазола (ФБЗ) и супрамолекулярного комплекса фенбендазола СМКФ в дозе 2 мг/кг по ДВ (нг/мл)

Время после введения, ч	Фенбендазол		Сульфоксид		Сульфон	
	М	RSD, %	М	RSD, %	М	RSD, %
Базовый ФБЗ						
0	–	–	–	–	–	–
1	–	–	–	–	–	–
2	–	–	–	–	–	–
4	6.6	3.2	–	–	–	–
6	6.8	11.4	6.4	4.5	5.8	4.9
8	6.8	8.0	8.6	8.4	8.7	8.5
12	8.5	23.7	12.7	2.8	13.3	7.1
24	16.3	6.4	19.6	2.0	20.6	4.9
33	22.3	8.3	16.2	5.2	18.7	3.0
48	23.1	7.6	12.6	4.6	15.9	4.1
72	12.6	12.3	9.0	11.4	8.1	10.4
96	3.4	4.6	2.4	3.6	2.3	3.1
144	–	–	–	–	–	–
288	–	–	–	–	–	–
360	–	–	–	–	–	–
СМКФ						
0	–	–	–	–	–	–
1	–	–	–	–	–	–
2	10.0	10.2	6.6	6.3	8.0	10.3
4	12.7	11.6	16.7	19.1	8.3	8.7
6	20.2	22.3	15.6	15.0	13.1	14.0
8	26.8	25.5	17.7	19.2	20.3	18.0
12	34.1	31.9	27.1	26.7	22.0	23.9
24	40.8	38.5	31.1	31.8	31.3	28.6
33	57.5	56.6	63.3	66.2	53.1	49.0
48	50.3	43.0	38.0	43.0	43.4	45.6
72	45.5	44.0	25.5	23.7	31.9	27.6
96	27.6	25.8	8.7	7.2	12.3	11.8
144	13.3	12.7	–	–	–	–
288	6.5	5.4	–	–	–	–
360	–	–	–	–	–	–

Примечание: * RSD – относительное стандартное отклонение, %.

Таблица 7. – Фармакокинетические параметры фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения СМКФ в дозе 2 мг/кг по ДВ

Показатель	Фенбендазол		Сульфоксид		Сульфон	
	М	RSD	М	RSD	М	RSD
k_a , ч ⁻¹	0.0603	45.2	0.0309	2.0	0.0255	4.8
k_{10} , ч ⁻¹	0.0097	114.4	0.0281	3.7	0.0233	3.8
$t_{1/2ka}$, ч	14.01	55.3	22.42	1.9	27.24	4.9
$t_{1/2k10}$, ч	248.4	104.8	24.72	3.8	29.73	3.8
V , л/кг	28.17	37.8	17.64	5.0	17.84	4.9
CL , л/ч	0.19	79.1	0.5	5.7	0.42	8.3
T_{max} , ч	43.93	12.6	33.95	2.6	41.04	4.3
C_{max} , нг/мл	51.81	4.7	43.82	4.3	43.14	5.0
AUC_{0-t} , нг/мл·ч	3121.15	3.8	2529.77	4.4	2518.14	4.9
AUC_{0-inf} , нг/мл·ч	20829.96	86.3	4048.9	5.4	4823.22	8.7
$AUMC$, нг/мл·ч ²	1282390.8	138.6	275544	7.4	397412	12.8
MRT , ч	378.57	96.9	68.01	2.7	82.19	4.3

Примечание: M – средняя величина, RSD – относительное стандартное отклонение, %; k_a – константа скорости абсорбции; k_{10} – константа элиминации; $t_{1/2ka}$ – время всасывания в кровь $1/2$ введенной дозы; $t_{1/2k10}$ – время исчезновения из организма лекарства путём биотрансформации и экскреции $1/2$ введенной или поступившей и всосавшейся дозы; V – объем распределения; CL – клиренс; C_{max} – максимальная концентрация; T_{max} – время достижения максимальной концентрации; AUC_{0-t} – площадь под кривой «концентрация–время»; AUC_{0-inf} – площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до ∞ ; $AUMC$ – площадь под кривой «произведение времени на концентрацию препарата, tC », MRT – среднее время удержания вещества в системном кровотоке

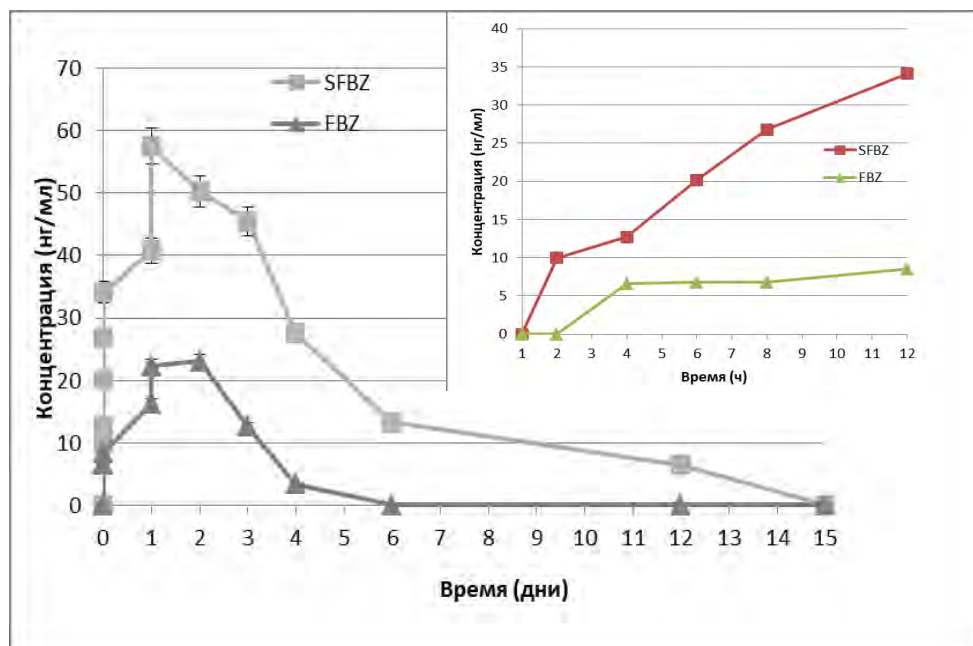


Рисунок 9 – Динамика изменения концентрации фенбендазола (FBZ) в сыворотке крови овец после введения СМКФ и базового фенбендазола в дозе 2 мг/кг по ДВ (на рисунке внутри – динамика в течение первых 12 ч)

2.2.7.2. Остаточные количества фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях овец после введения супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Результаты изучения динамики выведения ФБЗ и его метаболитов из органов и тканей овец после применения СМКФ и базового препарата – субстанции ФБЗ в дозе 2 мг/кг по ДВ, свидетельствуют о значительной разнице в концентрации ФБЗ, сульфоксида и сульфона ФБЗ в органах и тканях овец и динамике выведения из организма животных. Максимальная концентрация ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после применения СМКФ установлена на 3 сутки. Содержание ФБЗ, а также сульфоксида и сульфона фенбендазола было максимальным в печени овец на 3 сутки после введения СМКФ и составило соответственно $4878 \pm 312,0$; $18682,4 \pm 546,7$ и $2483,5 \pm 156,2$ нг/г. В последующие сроки исследований концентрация ФБЗ и его метаболитов значительно снизилась, а на 11-е и 16-е сутки в печени обнаруживали только сульфоксид фенбендазола. В почках овец после применения СМКФ в максимальной концентрации ФБЗ обнаруживали на 1 и 3-и сутки, сульфон ФБЗ – на 3 сутки и сульфоксид ФБЗ – на 3 и 6 сутки. В мышцах и сердце овец, получавших СМКФ, ФБЗ и его метаболиты находили только в первые 3-е суток, а в образцах жира в течение 6 суток. ФБЗ обнаруживали в легочной ткани на 1 и 3 сутки после введения СМКФ, а сульфоксид определяли на 1, 3, 6 и 11-е сутки. ФБЗ выделяется с фекалиями овец в течение 11 суток после применения СМКФ с максимумом на 1 и 3-и сутки. Сульфон обнаруживали в фекалиях в течение 6 суток, а сульфоксид ФБЗ – в течение 16 суток. В связи с тем, что обнаруживаемые концентрации фенбендазола сульфоксида в печени на 16-е сутки ниже допустимого остаточного уровня, а в мышечной ткани фенбендазол и его метаболиты на эти сроки не были детектированы, то убой животных на мясо рекомендуется проводить через 15 суток после введения СМКФ с ПВП.

ФБЗ и его метаболиты в органах и тканях овец после введения базового ФБЗ в дозе 2 мг/кг в органах и тканях овец были в десятки раз в меньшей концентрации. ФБЗ обнаруживали в органах и тканях (кроме фекалий) только на 1 и 3-и сутки после обработки овец базовым препаратом и в печени на 6 сутки в незначительном количестве, а сульфон ФБЗ находили в органах и тканях овец в течение 6 суток с максимумом на 3 сутки. Сульфоксид ФБЗ находился в органах и тканях в течение 6 суток, а в печени и фекалиях на 11-е сутки. ФБЗ и его метаболиты обнаруживали в фекалиях овец с 3 по 11-е сутки после применения препарата. Полученные результаты указывают на значительное повышение концентрации ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после введения СМКФ за счет более быстрой абсорбции и поступления ФБЗ в органы и ткани животных.

2.2.7.3. Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения супрамолекулярного комплекса

Для доказательства адресной доставки СМКФ был проведен опыт на 70 мышах, по 10 голов в группе, которые получали СМКФ с ПВП, $\text{Na}_2\text{ГК}$, НДОСС, АГ и ГЭК и субстанцию ФБЗ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. На 2-е сутки после введения препаратов животных убивали методом декапитации и тонкий отдел кишечника исследовали методом ВЭЖХ–МС/МС.

Установлено, что максимальная концентрация фенбендазола и его метаболитов: сульфоксида и сульфона в тонком кишечнике животных отмечается после введения СМКФ с НДОСС, что говорит о его лучших свойствах для адресной доставки препарата. Высокое содержание фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике мышей обнаружили также после введения СМКФ с ПВП и СМКФ с АГ, что коррелирует с их высокой нематодоцидной активностью, а также может, вероятно, свидетельствовать об их

высокой концентрации в тканях гельминтов. СМКФ с ЭС и СМКФ с ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показали наименьшую антигельминтную эффективность, что можно объяснить более низкой концентрацией фенбендазола в кишечнике животных после введения этих композиций (таблица 8).

Таблица 8 – Содержание фенбендазола и его метаболитов в тонком отделе кишечника мышей на вторые сутки

СМКФ с	Концентрация, нг/г		
	фенбендазола	метаболитов	
		сульфона	сульфоксида
ПВП	2966,8	599,8	2704,3
Na ₂ ГК	2541,0	511,6	2411,6
НДОСС	3117,8	614,6	2998,6
АГ	2754,9	576,3	2651,9
ГЭК	1634,2	256,4	1316,7
Фенбендазол (субстанция)	< LOQ*	< LOQ	< LOQ
Контроль	< LOQ	< LOQ	< LOQ

Примечание: *LOQ – предел количественного определения вещества

Таким образом, наиболее приемлемыми и перспективными компонентами для адресной доставки фенбендазола являются НДОСС, Na₂ГК и ПВП, концентрация фенбендазола после введения, которых в местах локализации нематод оказалась высокой.

2.2.8. Комиссионные испытания супрамолекулярного фенбендазола при нематодозах овец и молодняка крупного рогатого скота

Результаты комиссионного испытания СМКФ указывают на высокую эффективность при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец и молодняка крупного рогатого скота.

При нематодирозе овец число яиц нематодирусов в фекалиях после дегельминтизации СМКФ в дозе 2,0 мг/кг снизилось на 98,7%, а 17 из 20 овец полностью освободились от нематодирусов. Эффективность СМКФ в этой же дозе при других стронгилятозах пищеварительного тракта составила 99,2%. Полностью освободились от стронгилят 16 из 20 леченых овец.

При нематодирозе крупного рогатого скота число яиц нематодирусов в фекалиях после введения СМКФ в дозе 3,0 мг/кг по ДВ снизилось на 98,4%, а 16 из 20 телок полностью освободились от нематодирусов. Эффективность СМКФ в этой же дозе при других стронгилятозах пищеварительного тракта составила 99,3%. Полностью освободились от стронгилят 17 из 20 леченых телок.

Базовый препарат – субстанция фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг проявил при нематодирозе 95,6%-ную эффективность, а при других стронгилятозах пищеварительного тракта – 95,2%-ную.

Инвазированность животных контрольных групп в течение опыта существенно не менялась ($P \geq 0,05$). Животные опытных групп хорошо переносили препараты и побочного действия не установлено.

2.2.9. Производственные испытания супрамолекулярного фенбендазола при стронгилятозах пищеварительного тракта овец и молодняка крупного рогатого скота

Результаты производственных испытаний СМКФ при стронгилятозах пищеварительного тракта овец, проведенных в этом же хозяйстве на 484 овцах, указывают на высокую эффективность препарата в рекомендованной дозе 2,0 мг/кг по ДВ.

Экстенсинвазированность (ЭИ, %) нематодирусами до опыта составила 55,3% и другими видами стронгилят пищеварительного тракта 56,4% по результатам копроовоскопических исследований. Через 15 суток после дегельминтизации СМКФ у большинства овец полностью отсутствовали инвазионные элементы в фекалиях. ЭИ овец нематодирусами после лечения составила 0,41% и другими видами желудочно-кишечных стронгилят 0,62%.

При нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта овец эффективность СМКФ составила 99,26% и 98,9% соответственно в дозе 2,0 мг/кг. Препарат в данной дозе хорошо переносился овцами и не вызывал побочного действия.

Результаты производственных испытаний СМКФ при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота, проведенных в этом же хозяйстве на 124 телках, указывают на высокую эффективность препарата в рекомендованной дозе 3,0 мг/кг по ДВ.

При нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота эффективность СМКФ в дозе 3,0 мг/кг составила 99,2 и 98,3% соответственно. Препарат в испытанной дозе хорошо переносился животными и не вызывал побочного действия.

ОБСУЖДЕНИЕ

Дано обсуждение результатов собственных исследований и данных литературы по разработке инновационных препаратов на основе механохимической технологии с использованием различных полимеров для адресной доставки. Представлены данные по изучению токсических свойств, фармакокинетики и биотрансформации, антигельминтной активности фенбендазола при использовании СМКФ в сравнении с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для повышения растворимости и эффективности фенбендазола совместно с Институтом элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова РАН и Институтом химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН созданы на основе механохимической технологии с использованием для адресной доставки поливинилпирролидона и других компонентов твердые дисперсии, которые в воде образуют супрамолекулярные комплексы фенбендазола.

Получение препарата происходит в одну стадию твердофазного процесса механохимической обработки фенбендазола и вспомогательного компонента (ПВП, АГ, ЭС, НДООС, ЭС или Na₂ГК) в различных соотношениях в металлическом барабане мельницы LE-101.

Результаты физико-химических исследований: рентгенофазовый анализ, сканирующая электронная микроскопия, анализ растворимости методом ВЭЖХ, гранулометрический анализ свидетельствовали об образовании супрамолекулярного комплекса фенбендазола. При этом происходит снижение кристалличности субстанции, повышение растворимости,

уменьшение размеров частиц фенбендазола, образование полидисперсного порошка с размером частиц 5-10 мкм и частичное формирование агрегатов неправильной формы, что способствует взаимодействию ФБЗ и ПВП.

При изучении биологической активности СМКФ с различными компонентами на лабораторной модели *Trichinella spiralis* установлена 100%-ная активность СМКФ с ПВП в соотношении 1:10 в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. СМКФ с НДОСС, АГ, Na₂ГК, ЭС и ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показали соответственно 95,1; 94,9; 93,6; 86,0 и 81,0%-ную активность против *T. spiralis* в сравнении с 24,3%-ным эффектом исходной субстанции ФБЗ в этой же дозе.

Несколько ниже оказалась цестодоцидная активность СМКФ с различными компонентами на модели гименолепидоза белых мышей. СМКФ с ПВП, Na₂ГК, НДОСС, ЭС, ГЭК и АГ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 85,0; 85,0; 82,0; 65,0; 48,0 и 77,0%-ную активность против *H. nana*, что в 3,4–3,5 раза выше эффективности базового ФБЗ.

При изучении острой токсичности СМКФ с разными компонентами наиболее токсичными оказались СМКФ с НДОСС и с АГ Алтайского производства. От дозы 15000 мг/кг пали 3 мыши, а от дозы 20000 мг/кг отмечали гибель 5 из 10 мышей. СМКФ с ПВП, с АГ (фармакопейным), с ЭС и с ГЭК не вызывали падежа животных в дозе 20000 мг/кг. В связи с низкой токсичностью препарата, условно за ЛД₅₀ приняли максимальную дозу для перорального введения – 20000 мг/кг. Базовый ФБЗ в этой же дозе не вызывал гибели животных. Не установлено видовой чувствительности СМКФ с ПВП при введении в желудок белым крысам и мышам. Более токсичными оказались СМКФ с НДОСС, АГ и Na₂ГК, что, по-видимому, объясняется повышенной токсичностью и всасываемостью перечисленных средств доставки по сравнению с субстанцией фенбендазола и другими комплексами.

При изучении кумулятивных свойств СМКФ с ПВП в дозе 1/10 от ЛД₅₀ в течение 28 суток признаков интоксикации у крыс не отмечали, падежа зарегистрировано не было, что указывает на отсутствие кумулятивного действия.

При изучении субхронической токсичности СМКФ в дозах 4000 мг/кг, 2000 мг/кг и 1000 мг/кг при пероральном введении в течение семи суток отклонений в клиническом состоянии животных зарегистрировано не было, введение препарата не оказывало существенного влияния на прирост массы тела животных. Массовые коэффициенты внутренних органов находились в пределах нормы. Гематологические и биохимические показатели крови не подвергались значительным изменениям. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии патологического воздействия СМКФ на организм крыс.

Изучение иммунотоксического действия СМКФ показало, что его однократное введение в терапевтической и десятикратно увеличенной дозах не оказывает угнетающего влияния на антителогенез. Индекс действия препарата составил 0,85 и 0,80, что оценивается, как отсутствие отрицательного влияния на гуморальный иммунный ответ. Статистически значимой разницы между результатами оценки влияния испытуемого препарата СМКФ на клеточный иммунитет в реакции гиперчувствительности замедленного типа между опытными и контрольными животными также не установлено.

СМКФ с ПВП не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием при введении в желудок беременным крысам на 1-6; 7-14 и 15-19-е сутки беременности в трехкратной терапевтической дозе (6 мг/кг).

В опытах на молодняке овец, спонтанно инвазированных гельминтами, получена активность СМКФ с АГ и СМКФ с ПВП в 2-3 раза выше эффективности субстанции ФБЗ. В качестве терапевтической дозы СМКФ с ПВП и АГ при основных гельминтозах овец рекомендуем дозу 2,0 мг/кг по ДВ, а при трихоцефалезе – 3 мг/кг по ДВ.

СМКФ с ПВП и НДОСС в соотношении 1,0:8,9:0,1 в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал 99,4% при нематодирозе; 97,7% при других желудочно-кишечных стронгилятозах и 92% при мониезие овец. В дозе 3,0 мг/кг по ДВ получена 100%-я активность против указанных гельминтозов.

Результаты оценки антигельминтного действия СМКФ с Na₂ГК в дозе 3,0 мг/кг по ДВ показали 100%-ную активность против *Nematodirus* spp., других желудочно-кишечных стронгилят овец и 96,4%-ую активность против *Moniezia* spp. Эффективность его в дозе 2 мг/кг по ДВ составила при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах 95,3–95,4% и мониезие овец 91,6%.

СМКФ с ЭС в соотношении 1:10 в дозе 2 мг/кг по ДВ показал 83,6–89,9%-ную эффективность против *Nematodirus* spp. и 72,4–88,7%-ную активность против других видов желудочно-кишечных стронгилят, что в 3,0–3,2 раза выше активности физической смеси ФБЗ с ЭС.

СМКФ с ЭС и НДОСС в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100; 98,2 и 95,6%-ную активность против *Nematodirus* spp. и 100; 97,8 и 95,4%-ную активность против других видов желудочно-кишечных стронгилят овец.

При нематодирозе овец СМКФ с ПВП, Na₂ГК, НДОСС, ЭС, ГЭК и АГ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 99,1; 98,1; 98,3; 90,0; 88,9 и 96,2%-ную эффективность против 30,2%-ной эффективности субстанции ФБЗ в этой же дозе, что в 2,8–3,5 раза ниже эффективности СМКФ.

По результатам гельминтологического вскрытия сычуга СМКФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал 99,7–100%-ную эффективность против половозрелых особей и 99,1–100% против личинок стронгилят сычуга овец. Кроме того, препарат обладает овоцидным действием. В опыте при мониезие на 1, 2 и 3-и сут после лечения овец СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ соответственно 37,8; 78,5 и 80,9% выделившихся яиц *Moniezia expansa* были нежизнеспособными.

Высокая эффективность СМКФ с ПВП при основных нематодозах была подтверждена на молодняке крупного рогатого скота. Препарат в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100; 96,5 и 84,5%-ную эффективность при диктиокаулезе; 100; 95,8 и 78,8% при желудочно-кишечных стронгилятозах. СМКФ с ПВП в дозе 3,0 мг/кг проявил 100%-ный эффект при стронгилоидозе и 97,3% при трихоцефалезе в дозе 4 мг/кг.

Изучено влияние СМКФ в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах на организм овец и крупного рогатого скота, и установлено, что препарат не вызывает изменений в клинических показателях животных, а также гематологических и биохимических показателях крови, что свидетельствует об отсутствии его токсичности и хорошей переносимости. Химиотерапевтический индекс препарата превышает 5.

Установлена существенная разница в фармакокинетике фенбендазола и его метаболитов после введения овцам базового препарата и СМКФ в равной дозе 2 мг/кг по ДВ. Фенбендазол начал обнаруживаться в крови животных через 2 ч и через 4–6 ч после введения соответственно СМКФ и базового фенбендазола. Концентрация фенбендазола и его метаболитов была в 2,6–5 раза выше в сыворотке крови после введения СМКФ с максимумом через 33 ч и содержание фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона составило соответственно 57,5; 63,3 и 53,1 нг/мл, а после введения базового фенбендазола обнаружено соответственно 22,3; 18,7 и 16,2 нг/мл. Скорость абсорбции и поступления фенбендазола в кровь после введения СМКФ была в 2,3 раза выше данных показателей базового фенбендазола.

После применения СМКФ значения показателя площадь под кривой ФБЗ, сульфоксида и сульфона повысились соответственно в 7,1; 3,9 и 4,8 раза по сравнению с показателями после введения базового ФБЗ. Среднее время удержания препарата в крови овец,

получавших СМКФ, составило для ФБЗ – 378,5 ч, для сульфоксида 68,0 и для сульфона 82,2 ч по сравнению с показателями после применения базового препарата соответственно 62,1; 55,5 и 57,5 ч, что свидетельствует об изменении уровня метаболизма фенбендазола в организме животных.

Фенбендазол и его метаболиты в органах и тканях овец после введения базового препарата в дозе 2 мг/кг были в десятки раз в меньшей концентрации. Фенбендазол, сульфон и сульфоксид находились в органах и тканях в течение 6-ти суток, а в печени и фекалиях в течение 11-ти суток после применения базового препарата.

Максимальная концентрация фенбендазола и его метаболитов: сульфоксида и сульфона в органах и тканях животных после введения СМКФ в дозе 2 мг/кг по ДВ установлена на 3-и сутки в печени в количестве соответственно 4878,0; 18682,4 и 2483,5 нг/г. На 11-е и 16-е сутки в печени обнаруживали только сульфоксид. В мышечной ткани и сердце фенбендазола и его метаболиты находили только в первые трое суток, а в пробах подкожной жировой клетчатки в течение 6-ти суток. Убой животных на мясо рекомендуется проводить через 15 суток после введения СМКФ.

Для выяснения возможности адресной доставки фенбендазола к месту паразитирования нематод, изучена концентрация фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике животных на вторые сутки после введения СМКФ с различными полимерами и вспомогательными компонентами в дозе 2 мг/кг по ДВ. Максимальная концентрация фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона обнаружена в стенке тонкого кишечника животных на вторые сутки после введения СМКФ с НДОСС и составила соответственно 3117,8; 624,6 и 2998,6 нг/г. Фенбендазол и его метаболиты содержались в большом количестве в тонком кишечнике после введения СМКФ с ПВП и СМКФ с АГ, что коррелирует с высокой их нематодоцидной активностью.

Высокая эффективность СМКФ с ПВП подтверждена результатами комиссионных испытаний. СМКФ в дозе 2 мг/кг по ДВ показал эффективность более 98% при нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта овец и в дозе 3 мг/кг для молодняка крупного рогатого скота. При производственном испытании СМКФ подтверждена высокая его эффективность в дозах 2,0 и 3,0 мг/кг по ДВ против стронгилят пищеварительного тракта овец и молодняка крупного рогатого скота. СМКФ обладает в 2,5 раза большей антигельминтной активностью по сравнению с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола, что позволило снизить терапевтическую дозу с 5,0 до 2,0 мг/кг по ДВ при стронгилятозах овец и с 7,5 до 3,0 мг/кг при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Методом механохимической технологии с использованием в качестве адресной доставки поливинилпирролидона разработан супрамолекулярный комплекс фенбендазола. Установлена терапевтическая доза препарата при нематодозах овец и крупного рогатого скота, равная соответственно 2 и 3 мг/кг по ДВ. На основании проведенных исследований по оценке фармако-токсикологических свойств супрамолекулярного комплекса фенбендазола разработана Методика по применению супрамолекулярного комплекса фенбендазола при гельминтозах овец и крупного рогатого скота, одобренная научно-методической комиссией ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 2 сентября 2021 г., протокол №4, а также Методические положения по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и

гименолепидозе на лабораторной модели, одобренные на заседании методической комиссии «Инвазионные болезни животных» РАСХН от 23 октября 2019 г., протокол №3.

Разработана Методика определения фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, одобренная на заседании Методической комиссии «Инвазионные болезни животных» РАСХН от 21 сентября 2016 г., протокол № 2, а также разработана Методика количественного определения фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях животных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, одобренная научно-методической комиссией ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и Ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 2 сентября 2021 г., протокол №4.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ

Показана возможность увеличения растворимости и биологической активности антигельминтных лекарственных веществ при получении их твердых дисперсий с водорастворимыми полимерами. Приобретенные новые свойства твердых дисперсий объясняются образованием супрамолекулярных комплексов «ЛВ-полимер». Показано, что использование метода механохимической обработки субстанции фенбендазола с ПВП позволило увеличить растворимость и биологическую активность препарата при снижении терапевтической дозы лекарственного вещества в 3-4 раза. На основании полученных результатов можно говорить о перспективности предлагаемого способа получения супрамолекулярного комплекса для создания инновационных препаратов для ветеринарии и сельского хозяйства.

Результаты исследований показали перспективность подхода по получению твердых дисперсий с полимерами и другими вспомогательными компонентами для улучшения растворимости субстанций плохо растворимых лекарственных веществ.

Инновационный метод получения твердой дисперсии фенбендазола путем совместной механообработки базовой субстанции антигельминтика с ПВП в измельчителе с регулируемой энергонапряженностью, имеет ряд преимуществ перед известными: полное исключение растворителей и процессов нагревания и плавления, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования и гибкость технологии.

Данные физико-химических исследований подтвердили образование супрамолекулярных комплексов включения, вероятно за счет гидрофобных взаимодействий. Предлагаемая технология масштабируема и позволяет добиться большой производительности (до 100 кг/ч по сухому веществу), базируется на относительно простом оборудовании и безотходном производстве. На примере нерастворимого фенбендазола была показана высокая фармакологическая активность препарата, полученная при использовании разработанного подхода. Так, в лабораторных и полевых исследованиях на сельскохозяйственных животных была продемонстрирована возможность повышения терапевтической активности и снижения в несколько раз терапевтической дозы.

Полученные результаты соответствуют мировому уровню исследований и открывают перспективу ускоренного создания широкого круга лекарственных средств, обладающих повышенной терапевтической эффективностью и безопасностью на основе уже разрешенных к применению лекарственных веществ. Выпуск таких препаратов позволит повысить антигельминтную активность и провести значительное снижение использования импортных лекарственных средств.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ

1. **Варламова, А.И.** Эффективность супрамолекулярных комплексов антигельминтиков при желудочно-кишечных стронгилятозах овец в производственных условиях / А.И. Варламова, В.А. Долгошев, К.М. Садов, Е.Е. Белова, И.И. Гламаздин, Ю.С. Чистяченко, С.С. Халиков, А.В. Душкин, С.Д. Дурдусов, И.А. Архипов // Рос. паразитол. журнал. – 2015. - № 1. – С. 71-74.
2. Варламова, А.И. Острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с использованием Drug Delivery System / А.И. Варламова, И.А. Архипов, Н.В. Данилевская, В.Н. Скира // Рос. паразитол. журнал. – 2015. - № 2. – С. 93-98.
3. Халиков, С.С. Создание антигельминтных препаратов повышенной эффективности на основе межмолекулярных комплексов действующих веществ с водорастворимыми полимерами, в том числе полисахаридами / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, И.А. Архипов, **А.И. Варламова** // Химия в интересах устойчивого развития. – 2015. - № 23. – С. 1-11.
4. Архипов, И.А. Применение супрамолекулярных комплексов антигельминтиков для лечения гельминтозов у животных / И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, К.М. Садов, В.А. Долгошев, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко // Ветеринария и кормление. – 2015. - № 4. – С. 28-29.
5. **Варламова, А.И.** Эффективность комплекса фенбендазола, полученного путем механохимической технологии и адресной доставки / А.И. Варламова, Н.В. Данилевская, И.А. Архипов, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. – № 7. – С. 13-16.
6. Халиков, С.С. Экологически безопасные антигельминтные препараты в ряду бензимидазолов: синтез, свойства, применение / С.С. Халиков, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, М.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Юг России: экология, развитие. – 2016. – Т.11, № 1. – С. 178-192.
7. **Варламова, А.И.** Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец / А.И. Варламова, Ю.В. Лимова, К.М. Садов, А.К. Садов, Е.Е. Белова, А.В. Радионов, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, В.Н. Скира, И.А. Архипов // Рос. паразитол. журнал. – 2016. – № 1. – С. 76–81.
8. Кочетков, П.П. Определение фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектроскопическим детектированием / П.П. Кочетков, **А.И. Варламова**, В.Е. Абрамов, Н.С. Мисюра, Е.В. Абрамова, С.В. Абрамов, Н.И. Кошеваров, И.А. Архипов // Рос. паразитол. журнал. – 2016. – Т. 38, № 4. – С. 554–562.
9. **Варламова, А.И.** Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах молодняка крупного рогатого скота / А.И. Варламова // Ветеринария. – 2017. – № 1. – С. 32–35.
10. **Варламова, А.И.** Спектр антигельминтной активности супрамолекулярного комплекса фенбендазола с арабиногалактаном / А.И. Варламова // Рос. паразитол. журнал. – 2017. – Т.39, № 1. – С. 78–83.
11. Архипов, И.А. Эффективность супрамолекулярных комплексов триклабендазола с полимерными наполнителями при фасциолезе / И.А. Архипов, М.Б. Мусаев, М.В. Миленина, С.С. Халиков, Ф.С. Михайлицын, **А.И. Варламова** // Рос. паразитол. журнал. – 2017. – Т. 41, № 3. – С. 271–276.

12. **Варламова, А.И.** Показатели гомеостаза у крупного рогатого скота после применения супрамолекулярного комплекса фенбендазола / А.И. Варламова, И.А. Архипов // Рос. паразитол. журнал. – 2018. – Т.12, № 1. – С. 64–69.

13. **Варламова, А.И.** Влияние повышенных доз супрамолекулярного комплекса фенбендазола на организм овец / А.И. Варламова // Рос. паразитол. журнал. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 46–52.

14. **Варламова, А.И.** Эффективность фенбендазола на основе наноразмерной супрамолекулярной системы доставки с поливинилпирролидоном и диоктилсульфосукцинатом натрия при гельминтозах / А.И. Варламова, И.А. Архипов, С.С. Халиков, К.М. Садов // Рос. паразитол. журнал. – 2019. – Т. 13, № 1. – С. 56–63.

15. Мусаев, М.Б. Антигельминтная и токсикологическая оценка супрамолекулярных комплексов триклабендазола / М.Б. Мусаев, М.В. Миленина, М.С. Халиков, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.М. Одоевская, Т.С. Новик // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 2018. – №.3 – С. 15-24.

16. **Варламова, А.И.** Изучение иммунотропной активности супрамолекулярного комплекса фенбендазола / А.И. Варламова, К.Г. Курочкина, Н.В. Данилевская // Рос. паразитол. журнал. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 54–61.

17. Архипов, И.А. Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели / И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.М. Одоевская // Рос. паразитол. журнал. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 70–83.

18. **Варламова, А.И.** Биологическая активность твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки / А.И. Варламова // Рос. паразитол. журн. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 76–80.

19. Архипов, И.А. Влияние механохимической технологии на антигельминтную эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с экстрактом солодки / И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, С.С. Халиков, К.М. Садов, А.В. Душкин // Рос. паразитол. журн. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 71–74.

20. **Варламова, А.И.** Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки / А.И. Варламова, И.А. Архипова // Рос. паразитол. журн. – 2020. – Т. 14, № 2. – С. 83–87.

21. **Варламова, А.И.** Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против нематод при комиссионном, производственном испытании / А.И. Варламова, И.А. Архипов, К.М. Садов, С.С. Халиков // Рос. паразитол. журн. – 2020. – Т. 14, № 2. – С. 93–97.

22. **Варламова, А.И.** Эффективность твердой дисперсии фенбендазола при желудочно-кишечных стронгилятозах молодняка крупного рогатого скота / А.И. Варламова, И.А. Архипов, К.М. Садов, С.С. Халиков, М.В. Арисов, Е.Н. Борзунов // Рос. паразитол. журн. – 2021. – Т. 15, № 1. – С. 92–97.

23. **Варламова, А.И.** Фармакологическая активность и адресная доставка супрамолекулярного фенбендазола, полученного по механохимической технологии с различными компонентами / А.И. Варламова, И.А. Архипов, В.Е. Абрамов, М.В. Арисов, С.С. Халиков, А.В. Душкин // Рос. паразитол. журн. – 2021. – Т. 15, № 2. – С. 64–71.

24. **Варламова, А.И.** Кумулятивные свойства и субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола / А.И. Варламова // Рос. паразитол. журн. – 2021. – Т. 15, № 2. – С. 72–79.

25. **Варламова, А.И.** Методика количественного определения фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях животных методом высокоэффективной жидкостной

хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием / А.И. Варламова, В.Е. Абрамов, И.А. Архипов // Рос. паразитол. журн. – 2021. – Т. 15, № 4. – С. 48–50.

26. **Варламова, А.И.** Методика по применению супрамолекулярного фенбендазола при гельминтозах жвачных животных / А.И. Варламова // Рос. паразитол. журн. – 2021. – Т. 15, № 4. – С. 57–60.

Публикации, индексируемые в международных базах данных Web of Science и Scopus

27. **Варламова, А.И.** Эффективность лекарственной формы фенбендазола, полученной на основе нанотехнологии и адресной доставки Drug Delivery System / А.И. Варламова, И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко, М.С. Халиков, Н.В. Данилевская // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 4. – С. 43-44.

28. Chistyachenko, Yu.S. Physicochemical and Pharmacological Study of the Newly Synthesized Complex of Albendazole and Polysaccharide Arabinogalactan from the Larch Wood / Yu.S. Chistyachenko, E.S. Meteleva, V.A. Mordinov, M.X. Pakharukova, A.V. Katochin, S.S. Khalikov, **A.I. Varlamova**, I.A. Arkhipov, I.I. Glamazdin, A.V. Dushkin, N.Z. Lyakhov // Current Drug Delivery. – 2015. – V. 12, № 5. – P. 477-490.

29. Arkhipov, I.A. The efficacy of the supramolecular complexes of niclosamide obtained by mechanochemical technology and targeted delivery against cestode infection of animals / I.A. Arkhipov, K.M. Sadoy, Yu.V. Limova, A.K. Sadoy, **A.I. Varlamova**, S.S. Khalikov, A.V. Dushkin, Y.S. Chistyachenko // Vet. Parasitology. – 2017. – V. 246, № 8. – P. 25-29.

30. Arkhipov, I.A. Influence of mechanochemical technology on anthelmintic efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole with polyvinylpyrrolidone / I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, K.M. Sadoy, A.V. Dushkin, E.S. Meteleva, **A.I. Varlamova**, I.M. Odoevskaya, N.V. Danilevskaya // Journal of advanced veterinary and animal research. – 2019. – V. 6, № 1. – P. 133-141.

31. Халиков, С.С. Способы получения твердых дисперсий лекарственных веществ и их свойства / С.С. Халиков, Б.Ф. Локшин, М.М. Ильин, **А.И. Варламова**, М.Б. Мусаев, И.А. Архипов // Известия Академии Наук. Серия химическая. – 2019. – № 10. – С. 1924-1932.

32. Arkhipov, I.A. Anthelmintic efficacy of supramolecular complex of praziquantel obtained by mechanochemical technology / I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, A.V. Dushkin, K.M. Sadoy, E.S. Meteleva, M.V. Arisov, **A.I. Varlamova** // Iran. J. Parasitol. – 2020. – V. 15, № 3. – P. 364–373.

33. **Varlamova, A.I.** Increasing the biological activity of benzimidazoles based on the supramolecular nanoscale delivery system with licorice extract against helminthiasis / A.I. Varlamova, I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, M.V. Arisov, K.M. Sadoy, A.V. Dushkin // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2020. – V. 548, 042012.

34. **Варламова, А.И.** Биологическая активность фенбендазола на основе супрамолекулярной системы доставки с динатриевой солью глицирризиновой кислоты / А.И. Варламова, И.А. Архипов // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55, № 4. – С. 830–842.

35. **Варламова, А.И.** Биологическая активность и особенности фармакокинетики фенбендазола на основе супрамолекулярной системы адресной доставки с экстрактом солодки и натрия диоктилсульфосукцинатом / А.И. Варламова, С.О. Мовсесян, И.А. Архипов, С.С. Халиков, М.В. Арисов, П.П. Кочетков, В.Е. Абрамов, М.М. Ильин, Б.В. Локшин // Известия РАН. Серия Биологическая. – 2020. – № 6. – С. 565–574.

36. **Варламова, А.И.** Повышение эффективности празиквантела на основе механохимической технологии и супрамолекулярной системы адресной доставки при

цестодозах / А.И. Варламова, И.А. Архипов, С.С. Халиков, К.М. Садов, Т.Ю. Дегтяревская // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54, № 10. – С. 60–64.

37. Архипов, И.А. Влияние механохимической технологии на антигельминтную эффективность твердой дисперсии альбендазола / А.И. Архипов, А.В. Душкин, С.С. Халиков, **А.И. Варламова**, М.В. Арисов, И.И. Гламаздин, Т.Ю. Дегтяревская, Т.С. Катаева // Биофармацевтический журнал. – 2021. – Т.13, Вып. 2. – С. 3-7.

38. **Varlamova, A.I.** Pharmacokinetic profile, tissue residue depletion and anthelmintic efficacy of supramolecular fenbendazole / A.I. Varlamova, P.P. Kotchetkov, I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, M.V. Arisov, V.E. Abramov // International Journal of Pharmaceutics. – 2021. – V. 607, 120957.

Публикации в других научных изданиях

39. Архипов, И.А. Исследование эффективности новых антигельминтных препаратов, включающих межмолекулярные комплексы альбендазола и фенбендазола с водорастворимыми полимерами / И.А. Архипов, И.И. Гламаздин, **А.И. Варламова**, Н.В. Данилевская, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2014. – Вып.15. – С. 29-36.

40. Халиков, С.С. Новые антигельминтные препараты на основе межмолекулярных комплексов альбендазола с водорастворимыми полимерами / С.С. Халиков, А.В. Душкин, И.А. Архипов, Ю.С. Чистяченко, И.И. Гламаздин, **А.И. Варламова** // Материалы I-ого Международного симпозиума по мед., орг. и биол. химии. – Крым, Новый Свет, 2014. – С. 170.

41. **Варламова, А.И.** Острая токсичность лекарственной формы фенбендазола, полученной по механохимической технологии с использованием адресной доставки Drug Delivery System / А.И. Варламова, Н.В. Данилевская // Материалы 3-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства». – Санкт-Петербург, 2014. – С. 57-59.

42. **Варламова, А.И.** Повышение эффективности антигельминтиков путем механохимической технологии и адресной доставки Drug Delivery System / А.И. Варламова, И.А. Архипов, И.И. Гламаздин, С.С. Халиков // Материалы XII-й научной конференции паразитологов Грузии. – Тбилиси, 2014. – С. 81-83.

43. Халиков, С.С. Физико-химические свойства и антигельминтное действие механохимически синтезированных супрамолекулярных комплексов альбендазола и полисахарида арабиногалактана / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, **А.И. Варламова** // Материалы VI-й Всероссийской конференции «Новые достижения химии и хим. технологии растительного сырья». Барнаул, 2014. – С. 168-170.

44. Архипов, И.А. Применение супрамолекулярных комплексов с антигельминтиками для лечения гельминтозов животных / И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.И. Гламаздин, К.М. Садов, В.А. Долгошев, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко // Материалы Международной конференции «Актуальные проблемы развития ветеринарной науки». – Самара, 2014. – С. 30-32.

45. **Варламова, А.И.** Эффективность новой субстанции фенбендазола, полученной путем механохимической технологии и адресной доставки Drug Delivery System / А.И. Варламова, Н.В. Данилевская, И.А. Архипов, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии. – Москва, 2014. – С. 105-106.

46. Архипов, И.А. Модификация антигельминтных препаратов на основе технологий Drug Delivery System / И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.И. Гламаздин, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, Н.В. Данилевская // Материалы VII научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации». – Иваново, 2014. – С. 269.

47. Архипов, И.А. Цестодоцидная активность супрамолекулярных комплексов с альбендазолом на овцах / И.А. Архипов, К.М. Садов, В.А. Долгошев, И.И. Гламаздин, **А.И. Варламова**, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2015. – Вып.16. – С. 18-20.

48. Халиков, С.С. Механохимическая технология для создания антигельминтных бензимидазольных препаратов / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.И. Гламаздин, Н.В. Данилевская // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2015. – Вып.16. – С. 456-459.

49. Халиков, С.С. Механохимическая технология создания систем доставки антигельминтных препаратов / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.И. Гламаздин, Н.В. Данилевская // Материалы докл. научной конференции по мед. химии. – Новосибирск, 2015. – С. 76.

50. Arkhipov, I.A. The increasing of the efficacy of benzimidazol anthelmintics by mechanochemical technology and Drug Delivery System / I.A. Arkhipov, **A.I. Varlamova**, I.M. Odоеvskaya, I.I. Glamazdin, S.S. Khalikov, A.V. Dushkin, Yu.S. Chistyachenko // 25th International conference of the World Association for the Advancement of Vet. Parasitology. – Liverpool, 2015. – P. 470.

51. Халиков, С.С. Инновационная технология ветеринарных препаратов и их антигельминтные свойства / С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко, М.С. Халиков, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, И.И. Гламаздин, Данилевская Н.В. // Материалы V-й Международной конференции «Актуальные проблемы сельского хозяйства Горных территорий». – Горно-Алтайск, 2015. – С. 138-141.

52. Архипов, И.А. Применение наномеханической технологии и адресной доставки для разработки инновационных антигельминтных препаратов / И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Н.Э. Поляков, М.Б. Мусаев, **А.И. Варламова**, К.М. Садов, Ю.В. Лимова, В.Н. Скира // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2016. – Вып. 17. – С. 30-36.

53. Arkhipov, I.A. The increasing of the efficacy of salycilanilide anthelmintics by mechanochemical and Drug Delivery technology / I.A. Arkhipov, Yu.V. Limova, I.M. Odоеvskaya, **A.I. Varlamova**, K.M. Sadov, E.E. Belova, S.S. Khalikov, Yu.S. Chistyachenko, N.V. Danilevskaya, A.V. Dushkin // 12th European Multicolloquium of Parasitology. – Turku, 2016. – P. 131.

54. Кошеваров, Н.И. Влияние регулярных дегельминтизаций на распространение трематодозов крупного рогатого скота в НЧЗ России / Н.И. Кошеваров, **А.И. Варламова** // Матер. докл. междун. науч. конф. «Фауна и экология паразитов». – Москва, 2016. – С. 7-8.

55. Халиков, С.С. Создание инновационных антигельминтных препаратов для ветеринарии: методы получения, анализ и свойства / С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, Е.С. Метелева, А.В. Душкин, Н.Э. Поляков, **А.И. Варламова**, И.А. Архипов // Матер. IX междунар. науч. конф. «Кинетика и механизм кристаллизации». – Иваново, 2016. – С. 163-164.

56. Khalikov, S.S. Mechanochemical technology to develop innovative anthelmintic drugs / S.S. Khalikov, Yu.S. Chistyachenko, A.V. Dushkin, N.E. Polyakov, **A.I. Varlamova**, I.A.

Arkhipov // XVI International Scientific conference with elements of school of young scientists. – Moscow, 2016. – P. 122.

57. **Варламова, А.И.** Активность супрамолекулярных комплексов антигельминтиков против *Hymenolepis nana* / А.И. Варламова, И.А. Архипов, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко, Ю.В. Лимова, К.М. Садов, С.С. Халиков // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2017. – Вып. 18. – С. 87-89.

58. **Варламова, А.И.** Испытание супрамолекулярных комплексов фенбендазола на лабораторной модели *Trichinella spiralis* / А.И. Варламова, И.А. Архипов, И.М. Одоевская, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко, Ю.В. Лимова, К.М. Садов, С.С. Халиков // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2017. – Вып. 18. – С. 90-92.

59. **Varlamova, A.I.** The influence of mechanochemical and drug delivery technology on the efficacy of benzimidazole anthelmintics / A.I. Varlamova, I.A. Arkhipov, I.M. Odоеvskaya, S.S. Khalikov // 26-th International Conference of the World Association for Advancement of Vet. Parasitol. – Kuala Lumpur, 2017. – P. 469.

60. **Varlamova, A.I.** The efficacy of the supramolecular complexes of cestodocides against *Hymenolepis nana* / A.I. Varlamova, I.M. Odоеvskaya, I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov // 7th International Veterinary Congress. – Paris, 2017. – P. 93.

61. Халиков, С.С. Использование экстрактивных веществ из растительного сырья для получения инновационных антигельминтных бензимидазольных препаратов / С.С. Халиков, А.В. Душкин, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, М.Б. Мусаев // Материалы VII всерос. конф. с междунар. участием. – Барнаул, 2017. – Вып. 18. – С. 142-144.

62. **Varlamova, A.I.** The efficacy of supramolecular complexes of anthelmintics against *Trichinella spiralis* / A.I. Varlamova, I.A. Arkhipov, I.M. Odоеvskaya, S.S. Khalikov // 7th Conference of Scandinavian Baltic Society for Parasitology. – Riga, 2017. – P. 86.

63. Arkhipov, I.A. Application of natural compounds for the creation of innovative anthelmintic drugs / I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, Yu.S. Chistyachenko, A.V. Dushkin, **A.I. Varlamova**, M.B. Musaev // 12th Intern. Symp. on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent, 2017. – P. 224.

64. Архипов, И.А. Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов. Получение и свойства / И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин, А.И. Варламова, М.Б. Мусаев, Н.Э. Поляков, Ю.С. Чистяченко, К.М. Садов, М.С. Халиков // Монография. – М.: Новые авторы, 2017. – 91 с.

65. **Варламова, А.И.** Действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола на яйца *Moniezia expansa* / А.И. Варламова // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2018. – Вып. 19. – С. 123 - 125.

66. **Варламова, А.И.** Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против половозрелых и личинок стронгилят сычуга овец / А.И. Варламова // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2018. – Вып. 19. – С. 126 - 127.

67. Архипов, И.А. Создание инновационных противопаразитарных препаратов на основе механохимической технологии и целенаправленной доставки / И.А. Архипов, А.В. Душкин, С.С. Халиков, **А.И. Варламова**, Н.В. Данилевская // XIII Международная межвузовская конференция по клинической ветеринарии. – Москва, 2018. – С. 230-234.

68. Халиков, С.С. Твердые дисперсии бензимидазольных препаратов в паразитологии / С.С. Халиков, Б.Ф. Локшин, М.М. Ильин, **А.И. Варламова**, И.А. Архипов // Матер. докл.

международ. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2019. – Вып. 20. – С. 663 - 670.

69. Мусаев, М.Б. Инновационный подход к созданию эффективных противопаразитарных препаратов / М.Б. Мусаев, М.С. Халиков, **А.И. Варламова**, И.А. Архипов, С.С. Халиков // Тез. докл. III всерос. конф. с междунар. участием, посв. 75-летию Института химии твердого тела и механохимии СО РАН «Горячие точки химии твердого тела: от новых идей к новым материалам». – Новосибирск, 2019. – 165-166 с.

70. Халиков, С.С. Твердые дисперсии бензимидазольных антгельминтиков: получение, свойства, применение / С.С. Халиков, Б.Ф. Локшин, М.М. Ильин, **А.И. Варламова**, М.Б. Мусаев, И.А. Архипов // Тез. докл. III всерос. конф. с междунар. участием, посв. 75-летию Института химии твердого тела и механохимии СО РАН «Горячие точки химии твердого тела: от новых идей к новым материалам». – Новосибирск, 2019. – 168 с.

71. **Варламова, А.И.** Перспективы использования нанотехнологий при создании противопаразитарных препаратов и их влияние на организм животных / А.И. Варламова // Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания кафедры физиологии животных. – Москва, 2020. – С. 33–41.

72. **Варламова, А.И.** Новые направления в создании инновационных противопаразитарных препаратов / А.И. Варламова, И.А. Архипов, С.С. Халиков // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва, 2020. – Вып. 21. – С. 72-80.

Патенты и свидетельства РФ на изобретения

73. Антигельминтное средство и способ его получения. **А.И. Варламова**, И.А. Архипов, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко, М.С. Халиков, Н.В. Данилевская / Патент на изобретение № 2558922. Бюл. ФИПС № 22 от 10.08.2015.

74. Антигельминтное средство с трематодоцидной активностью. М.Б. Мусаев, И.А. Архипов, **А.И. Варламова**, А.З. Джамалова, З.Т. Байсарова, Х.И. Берсанова / Патент на изобретение № 2560516. Бюл. ФИПС № 23 от 20.08.2015.

75. Супрамолекулярный комплекс с никлозамидом и способ его получения. И.А. Архипов, К.М. Садов, Ю.В. Лимова, **А.И. Варламова**, С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко / Патент на изобретение № 2588368. Бюл. ФИПС № 18 от 27.06.2016.

76. Антигельминтное средство. **А.И. Варламова**, И.А. Архипов, С.С. Халиков, К.М. Садов, М.Б. Мусаев / Патент на изобретение № 27090119. Бюл. ФИПС № 35 от 13.12.2019.