

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР -
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА
И Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

(ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ РАН»)

На правах рукописи

Варламова Анастасия Ивановна

**Биологическая активность, токсические свойства и особенности
фармакокинетики и биотрансформации супрамолекулярного комплекса
фенбендазола, полученного по механохимической технологии с адресной
доставкой**

Специальность: 1.5.17. Паразитология
**4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология**

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
доктор ветеринарных наук,
профессор РАН М.В. Арисов

Москва – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1. Эффективность фенбендазола и его лекарственных форм при гельминтозах животных.....	18
1.2. Токсические свойства фенбендазола.....	27
1.3. Фармакокинетика и остаточные количества фенбендазола у сельскохозяйственных животных.....	35
1.4. Средства адресной доставки лекарственных препаратов и способы повышения растворимости и эффективности.....	40
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	52
2.1. Материалы и методы.....	52
2.1.1. Приготовление и оценка физико-химических свойств супрамолекулярных комплексов фенбендазола.....	53
2.1.2. Оценка токсических свойств супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	57
2.1.3. Оценка нематодоцидной и цестодоцидной активности СМКФ с различными компонентами на лабораторных моделях in vivo.....	63
2.1.4. Оценка антигельминтной активности СМКФ с различными компонентами на сельскохозяйственных животных.....	65
2.1.5. Оценка переносимости СМКФ на сельскохозяйственных животных.....	71
2.1.6. Биотрансформация, фармакокинетика и остаточные количества СМКФ у овец.....	73
2.1.7. Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения СМКФ.....	80
2.1.8. Комиссионные и производственные испытания СМКФ при различных нематодозах овец и крупного рогатого	

	скота.....	81
2.2.	Результаты исследований.....	83
2.2.1.	Физико-химические свойства супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с использованием для адресной доставки различных компонентов.....	83
2.2.2.	Токсические свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	95
2.2.2.1.	Острая токсичность препарата при введении белым мышам и крысам.....	95
2.2.2.2.	Раздражающее действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола на кожу и слизистые оболочки.....	97
2.2.2.3.	Кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	98
2.2.2.4.	Субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	99
2.2.2.5.	Эмбриотоксическое и тератогенное действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	107
2.2.2.6.	Оценка иммунотоксического действия супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	110
2.2.3.	Антигельминтная эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии на лабораторной модели.....	113
2.2.3.1.	Испытание на модели <i>Trichinella spiralis</i>	113
2.2.3.2.	Испытание на модели <i>Hymenolepis nana</i>	114
2.2.4.	Эффективность супрамолекулярных комплексов фенбендазола при основных гельминтозах овец.....	115
2.2.4.1.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с арабиногалактаном.....	115

2.2.4.2.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном.....	119
2.2.4.3.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном и диоктилсульфосукцинатом натрия.....	121
2.2.4.4.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с динатриевой солью глицирризиновой кислоты.....	123
2.2.4.5.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки.....	125
2.2.4.6.	Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки и диоктилсульфосукцинатом натрия.....	127
2.2.4.7.	Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против половозрелых и личинок стронгилят сычуга овец.....	129
2.2.4.8.	Действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола на яйца <i>Moniezia expansa</i>	129
2.2.4.9.	Сравнительная активность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с различными компонентами для адресной доставки.....	131
2.2.5.	Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота.....	134
2.2.6.	Влияние супрамолекулярного комплекса фенбендазола на организм сельскохозяйственных животных.....	137
2.2.6.1.	Влияние повышенных доз препарата на организм овец.....	137
2.2.6.2.	Влияние повышенных доз препарата на организм крупного рогатого скота	142

2.2.7.	Биотрансформация фенбендазола в организме овец после введения супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	148
2.2.7.1.	Метаболизм и особенности фармакокинетики супрамолекулярного комплекса фенбендазола в организме овец.....	148
2.2.7.2.	Остаточные количества фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях овец после введения супрамолекулярного комплекса фенбендазола.....	174
2.2.7.3.	Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения супрамолекулярного комплекса фенбендазола с различными полимерами для адресной доставки.....	179
2.2.8.	Комиссионные испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец и молодняка крупного рогатого скота.....	181
2.2.9.	Производственные испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола при стронгилятозах пищеварительного тракта овец и молодняка крупного рогатого скота.....	183
3.	ОБСУЖДЕНИЕ.....	186
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	194
	ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	200
	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ.....	201
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	203
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	204
	ПРИЛОЖЕНИЕ.....	243

ВВЕДЕНИЕ

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 продуктивности животных и достаточно широко распространены, так около 40-90% овец и крупного рогатого скота в некоторых регионах нашей страны заражены гельминтами [9, 96]. 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 [102, 103].

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 бензимидазолкарбаматов – фенбендазол, который обладает широким спектром антигельминтного действия [9, 143]. Он эффективен в дозах 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 [267, 295]. Подобно другим бензимидазолам, фенбендазол вызывает дегенерацию микротубул гельминтов и блокирует поступление

глюкозы у паразитов. Снижение поступления глюкозы приводит к истощению запасов энергии и в последующем – гибели гельминта. В общем, фенбендазол безопасен для животных, но иногда отмечали случаи диареи и рвоты [143]. Известно, что фенбендазол согласно биофармацевтической классификации FDA относится к IV классу препаратов с низкой проницаемостью и растворимостью, т. е. имеет низкую биодоступность [184]. 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. [213; 225; 307].

Управление солюбилизационными характеристиками лекарственных веществ является одним из основных направлений в разработке современных систем доставки лекарств «Drug Delivery System» [43, 276].

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

низкой растворимостью, а 80% лекарств применяются перорально, то становится понятна важность управления солюбилизационными характеристиками данных 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 была 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 [41-44].

Для повышения терапевтического эффекта и разработки форм применения нерастворимых препаратов широко используют нанолекарственные технологии. Иммобилизация 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 [253], амфотерицина В [263], альбендазола [168], ивермектина [275] и др.), полимерные наночастицы (для паромомицина [181], спирамицина [197], клофазимина [311] и др.), твердые

липидные наночастицы (для альбендазола [242, 259], паромомицина [202] и др.), наносuspensions (для ивермектина [281], альбендазола [185], празиквантела [278] 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.) [66, 131, 132, 152]. Другие наноносители представляют меньший интерес из-за физической нестабильности, плохой воспроизводимости и потенциальной токсичности.

Так, в Германии [255] и Голландии [296] занимаются разработкой нанокристаллов лекарственных препаратов, используя технологию в жидкой среде. В университете Гуанжоу (КНР) [307] разрабатывают нанокристаллы антигельминтика никлозамида, а другие авторы используют липосомальную адресную доставку препаратов [128]. Лекарственные нанокристаллы могут быть промежуточной стадией разработки для последующей наработки таблеток, капсул, аэрозолей, инъекционных растворов и других форм, назначаемых разными способами. Нанокристаллы могут производиться путем антирастворимой преципитации с использованием реактора в жидкой среде и гомогенизации препарата при высоком давлении или в мельнице. Кроме того, имеется прямая процедура получения нанокристаллов, которая имеет ограничения за счет использования вредных органических растворителей и трудности контроля размера частиц. Потенциальная нанокристаллотехнология лекарств способствует повышению биодоступности препаратов и при оральном применении, о чем свидетельствует пять разработанных препаратов с использованием нанокристаллов, которые одобрены FDA. Имеется сообщение о приготовлении нанокристаллов антигельминтика никлозамида в форме инъекций [307].

В нашей стране в г. Иваново Г.Л. Перловичем разрабатываются нанокристаллы лекарственных препаратов с включением молекул растворителей [260]. 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 с использованием механохимической технологии и 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 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 с поливинилпирролидоном 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 происходит более интенсивно и быстрее по сравнению с субстанцией препарата. Фенбендазол и его метаболиты: фенбендазола сульфон и фенбендазола сульфоксид после введения СМКФ обнаруживают в органах и тканях овец в более высокой концентрации 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 (прилож.1-4).

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 других плохо или нерастворимых в воде препаратов, предназначенных для перорального введения животным. Так, практически нерастворимый фенбендазол при включении в комплексы с арабиногалактаном или поливинилпирролидоном обладает многократно повышенной водорастворимостью и эффективностью без усиления

токсических свойств. 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) [303], Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2005) [113], Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) [79], Правила надлежащей лабораторной практики (2016) [93], руководства и монографии W.C.

Campbell, R.S. Rew (1986) [143], J.E. Riviere, M.G. Rapich (2009) [267], И.А. Архипова (2009) [9] 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, хомяки, 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 (Kualu-Lumpur, Malaizia, 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 самостоятельно.

Основные положения, выносимые на защиту:

Физико-химические свойства СМКФ с различными компонентами.

Токсические свойства СМКФ: острая, субхроническая токсичность, раздражающие свойства, кумулятивный эффект, 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 в изданиях системы Web of Science – 9 и Scopus – 3. 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

и иностранных, и приложение. Иллюстрированный материал диссертации включает 33 рисунка и 74 таблицы.

Благодарности. Автор выражает благодарность своему научному консультанту, доктору ветеринарных наук, профессору РАН Михаилу Владимировичу Арисову за методическую и практическую помощь при выполнении работы, доктору технических наук Салавату Самадовичу Халикову и доктору химических наук Александру Валерьевичу Душкину за помощь при совместном получении супрамолекулярных комплексов и оценке их физико-химических свойств, докторам ветеринарных наук К.М. Садову, И.А. Архипову, Н.В. Данилевской, К.Г. Курочкиной и ветеринарным специалистам хозяйств, где проводились исследования, за содействие в выполнении данной работы, доктору ветеринарных наук, профессору В.Е. Абрамову и научному сотруднику П.П. Кочеткову за совместное проведение хромато-масс-спектрометрических исследований.

1. Обзор литературы

1.1. Эффективность фенбендазола и его лекарственных форм при гельминтозах животных

Для дегельминтизации жвачных животных при основных нематодозах разработаны антигельминтики из разных классов химических соединений, в том числе из бензимидазолкарбаматов: фенбендазол, альбендазол, оксфендазол, мебендазол; из имидотиазолов: левамизол, нилверм; из макроциклических лактонов: ивермектины, моксидектин, аверсектин, селамектин и др.

Фенбендазол является одним из наиболее широко применяемых в ветеринарии препаратов. Кроме того, данный препарат, а точнее супрамолекулярные комплексы на его основе, являются основным объектом наших собственных исследований. С учетом изложенного приводим характеристику фенбендазола и его лекарственных форм, используемых для лечения нематодозов овец и крупного рогатого скота.

Фенбендазол (син.: панакур, фебтал, сибкур и др.) имеет широкий спектр антигельминтного действия; химическая формула: 5-(фенилтио)-2-бензимидазолкарбамат (рисунок 1).

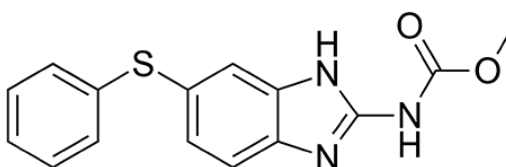


Рисунок 1 – Химическая формула фенбендазола

Фенбендазол синтезирован в 1974 г. [134]. Антигельминтные свойства фенбендазола были установлены в 1975 г. [220]. В дозе 7,5-15,0 мг/кг фенбендазол эффективен практически против всех видов нематод крупного рогатого скота. Панакур эффективен против мониезий в дозе 10 мг/кг, против

протостронгилид – в дозе 15 мг/кг, против фасциол и дикроцелий – в дозе 100 мг/кг. Препарат активен в отношении личинок стронгилят, задержавшихся в развитии. Фенбендазол в дозе 0,25 мг/кг/сут в течение 14 суток и в дозе 1,4 мг/кг/сутки в течение 4 суток эффективен против нематод пищеварительного тракта, включая ингибированных личинок остертагий и диктиокаул [170, 175, 226]. Однако фенбендазол менее активен против трихоцефал и стронгилоидов [141, 146].

Высокая эффективность фенбендазола обусловлена механизмом действия, который основан на его связывании с белком, цитоплазматическим тубулином гельминтов, ингибировании полимеризации тубулина для образования микротубул, нарушении микротубулярной функции и митохондриального метаболизма [227, 265, 266]. В частности, происходит связывание препарата с β -тубулином, который в свою очередь препятствует его димеризации с α -тубулином и полимеризации олигомеров тубулина в микротубулы. Микротубулы являются необходимым структурным элементом многих органелл, и они необходимы для многочисленных клеточных процессов, включая митоз, образование белка и энергетический обмен. Млекопитающим тубулин также необходим для клеточного метаболизма, но бензимидазолы активны в отношении тубулина нематод при нормальной температуре тела животных [264]. В результате в течение 2-3 суток после введения препарата происходит медленное выделение нематод [155, 265]. Большинство работ указывают на основную роль нарушения микротубулярной функции в механизме действия препарата. Также фенбендазол уменьшает активность фумаратредуктазы у *Haemonchus contortus* и незначительно снижает энергетический обмен гельминтов. Препарат активен против задержавшихся в развитии личинок 4-й стадии нематод только при продолжительном контакте, так как у препарата продолжительный период полураспада в организме хозяина [261].

Фенбендазол разработан в ФРГ фирмой «Хехст» [172]. Панакур в дозе 5,0 мг/кг показал 100%-ную эффективность против эзофагостом и

гиостронгил у свиней. Эффективность препарата составила при аскаридозе 100 % в дозе 6,0 мг/кг, трихоцефалезе 96,6% в дозе 30 мг/кг и стронгилоидозе 98,6% в дозе 70 мг/кг по ДВ [178]. Препарат при остертагиозе, трихостронгилезе, коопериозе, гемонхозе и нематодирозе в дозах 3,5-7,5 мг/кг показал эффективность от 93,4 до 100%; при трихоцефалезе его эффективность была ниже и колебалась от 69,1 до 92,8%. При хабертиозе ягнят получена 99%-ная эффективность [220]. Препарат в дозах 5-10 мг/кг при спонтанном заражении овец диктиокаулами проявил 100%-ную эффективность [218]. Препарат в дозе 3,5 мг/кг в течение 3-10 суток показал 100%-ную эффективность против личинок гемонхов [270].

Подобные результаты испытания фенбендазола были получены другими исследователями [130, 133, 139, 158, 209, 238]. Однако некоторые авторы сообщали о различной эффективности препарата против желудочно-кишечных стронгилят – от 99,6 до 99,9% [280], 72-92,4% [238], 80-100% [209, 301].

Фенбендазол имеет широкий спектр антигельминтного действия. Он высоко эффективен против взрослых и личинок основных видов нематод и обладает овоцидным действием [241].

Через 4-8 ч после лечения зараженных гименолеписами крыс фенбендазолом в дозе 50 или 100 мг/кг сколекс цестоды отрывается от стенки кишечника, а через 20-30 ч цестоды выделяются из организма хозяина. Мышцы присосок теряют свой тонус, у сколекса нарушается структура и экскреторные каналы расширяются. Через 8 ч после введения препарата эпидермис гельминтов разрушается. Фенбендазол оказывает нейротоксическое действие на гельминтов [173, 174].

Фенбендазол в последние годы выпускается в различных лекарственных формах (гранулят, порошок, суспензия) под разными названиями и многими фирмами, в том числе в РФ и до сих пор является одним из эффективных и безопасных антигельминтиков.

Фенбендазол в дозе 10 мг/кг по ДВ широко применяют при мониезиозе. R. Tinar и др. (1998) показал, что фенбендазол в дозе 5 мг/кг проявил 85,3%-ный эффект против *Moniezia expansa* и *M. benedeni*. Препарат хорошо переносился животными. Клиническое состояние овец восстановилось через неделю, а признаки мониезиоза (диарея и анорексия) исчезли через 7 суток после введения препарата. Против *M. expansa* применяли комбинацию фенбендазола и рафоксанида в дозах 5 и 7 мг/кг и получили соответственно 72,8 и 96,6%-ную эффективность [291].

Анализ проведенных в Калмыкии исследований свидетельствует о недостаточной активности фенбендазола и альбендазола при нематодирозе овец в хозяйствах, где они ранее применялись в течение длительного времени. Низкая эффективность препаратов из группы бензимидазолов в этих хозяйствах и одновременно высокий их эффект в хозяйствах, где ранее их не применяли, указывает на возможность развития резистентности нематодирусов к действию бензимидазол карбаматов и принятию необходимых мер по предупреждению дальнейшего развития резистентных штаммов нематодир [6].

Все лекарственные формы фенбендазола при однократной даче с кормом в дозе 40 мг/кг при микстинвазиях были умеренно эффективными против трематод (против фасциол интенсивность (ИЭ) = 90,4-92,8%, парамфистом – 80,4-90,2%, дикроцелий – 90,4-94,2%), цестод (100%), нематод желудочно-кишечного тракта (90,4-96,8%), а при двукратном введении с интервалом 24 ч общая зараженность колебалась в пределах 99,9-100%. При микстинвазии трематодами, цестодами и нематодами жвачных животных следует дегельминтизировать фенбендазолом, который применяют в дозе 40 мг/кг по ДВ одно- или двукратно в зависимости от интенсивности инвазии и видового состава паразитоценоза [20, 86].

Для терапии протостронгилидозов у овец рекомендуется применять фенбендазол в дозе 20 мг/кг [71].

Лекарственная форма фенбендазола – фезол в дозе 4,5 мг/кг по ДВ в производственном испытании на 320 свиньях при аскаридозе и эзофагостомозе показала соответственно 97 и 100%-ную эффективность [52].

Фенбендазол при однократном введении в дозе 30 мг/кг по ДВ показал при фасциолезе ИЭ = 86,8%, дикроцелиозе – 86,4%, парамфистомозе – 78,6%, мониезидозах – 94,8%, трихоцефалезе – 99,8%, кишечных стронгилятозах – 99,6%; общая ИЭ = 92,8%, в дозе 40 мг/кг соответственно 99,6; 98,4; 94,6; 100; 99,9 и 100% при общей ИЭ = 99,6% [87, 88].

Фезол при дикроцелиозе овец в дозах 25,0; 37,5 и 50,0 мг/кг проявил соответственно ИЭ 96,6; 99,7; 100% и ЭЭ 60,0; 90,0; 100%, фенбендазол в тех же дозах – соответственно 66,2; 71,9 и 92,3%-ную эффективность. При дикроцелиозе крупного рогатого скота фезол в дозе 35 мг/кг также оказался более активным (ИЭ = 98,6%, ЭЭ = 50,0), чем фенбендазол в той же дозе (ИЭ = 69,0%). Объяснением этого может служить более высокая растворимость фезола по сравнению с фенбендазолом, который практически не растворим в воде, в результате чего увеличивается всасываемость и биодоступность [80].

В опыте на крупном рогатом скоте при трихоцефалезе эффективность фенбендазола в терапевтической дозе 7,5 мг/кг оказалась недостаточной (73,2 %). Рекомендуется применять этот препарат при трихоцефалезе молодняка крупного рогатого скота в более высокой дозе 12,5 мг/кг [94].

Результаты оценки эффективности антигельминтика в разных хозяйствах оказались неодинаковыми. В трех хозяйствах, где ранее применялся фенбендазол, число яиц нематодирусов в фекалиях крупного рогатого скота после введения фенбендазола снизилось с 174,8–238,2 до 52,6–55,4 экз. Эффективность фенбендазола по результатам теста снижения числа яиц («контрольный тест») составила 64,8%. В трех хозяйствах, где фенбендазол не применялся ранее, эффективность составила 97,6%. Низкая эффективность лекарственных препаратов на основе фенбендазола в этих хозяйствах и одновременно высокий эффект в хозяйствах, где он ранее не применялся, указывает на возможность развития резистентности

нематодирусов к его действию и принятию необходимых мер по предупреждению дальнейшего развития резистентных штаммов к действию фенбендазола [95].

Для дегельминтизации овец при протостронгилидозах рекомендуются повышенные дозы фенбендазола – 20 мг/кг по ДВ. Фезол используют в дозе 4 мг/кг по ДВ перорально, индивидуально или в смеси с комбикормом групповым методом [31].

Фенбендазол эффективен против *Dictyocaulus* spp. Эффективность его составляет 99 % против взрослых и 6- и 13-дневных личинок *D. viviparus* у телят. Низкие дозы фенбендазола (1,4 мг/кг/сут в течение 4-х суток) показали лучшие результаты против *D. filaria* у овец, чем однократная терапевтическая доза. Эта схема эффективна против задержавшихся в развитии личинок оостертагий. При мюллерииозе коз и овец препарат применяют в однократной дозе 15 мг/кг.

Фенбендазол эффективен против нематод родов *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Marshallagia*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Bunostomum*, *Chabertia*, *Oesophagostomum*, *Strongyloides* [264]. Препарат на 90% эффективен против личинок 4 и 5-й стадии (неполовозрелые) желудочно-кишечных нематод жвачных, в том числе против личинок оостертагий 3, 7 и 10-дневного возраста.

Установлена высокая антигельминтная эффективность и идентичность панакура и фебтала, действующим веществом которых является фенбендазол. При эзофагостомозе свиноматок панакур и фебтал в дозе по ДВ 10 мг/кг массы животного дважды с кормом индивидуально обеспечили 100%-ную эффективность. При назначении панакура и фебтала в этой же дозе поросётам групповым методом при аскаридозе получена экстенсэффективность, равная 80%, интенсэффективность по снижению числа яиц в 1 г фекалий составила 98,4 и 99,1% соответственно. Панакур и фебтал в условиях производства оказались эффективными средствами при смешанных кишечных нематодозах молодняка свиней и свиноматок [104].

Вигисокс на основе фенасала и фенбендазола в дозах 40, 50 и 60 мг/кг показал соответственно 94,0; 97,7 и 100%-ную эффективность при мониезидозе и 95,0; 98,6 и 100%-ную активность при стронгилятозах пищеварительного тракта. Эффективность препарата в дозах 50 и 60 мг/кг при диктиокаулезе овец составила 97,5 и 100% соответственно [10].

Празифен на основе празиквантела и фенбендазола в форме пасты в дозе 0,2 г/кг проявил эффективность, равную при нематодирозе и диктиокаулезе 100%, трихоцефалезе 87,5%, других кишечных стронгилятозах 90,0%, мониезидозе и парамфистомозе 75,0% [81].

Фенбендазол в дозе 10 мг/кг с кормом показал при токсаскариозе недостаточную эффективность, а в более высоких дозах 25 и 50 мг/кг однократно, индивидуально с кормом – высокую экстенс- и интенс-эффективность. Автор рекомендует применять этот препарат при токсаскариозах крупных хищных (медведи, львы, тигры) в дозе 25 мг/кг, при смешанных инвазиях (токсаскариозе, унцинариозе, капилляриозе, гонгилонемозе и др.) в дозе 50 мг/кг [84, 85].

Испытания фебтала в дозе 7,5 мг/кг по ДВ при диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота показали 88,9%-ную эффективность при интенсивности инвазии у животных контрольной группы $14,4 \pm 3,2$ экз./гол. [97].

Недостаточной оказалась эффективность фенбендазола при гельминтозах овец при испытании во Франции [148, 258], в Шотландии [135, 136], Бразилии [159, 183, 247]. В Чили подобные исследования показали, что число яиц нематод в фекалиях овец через 7 суток после лечения снизилось только на 41% за счет наличия резистентности к фенбендазолу стронгилят рода *Trichostrongylus* и *Teladorsagia* [293].

При комиссионном испытании установлена 100%-ная эффективность вигисокса в дозе 60 мг/кг при стронгилятозах пищеварительного тракта крупного рогатого скота. Эффективность вигисокса при трихоцефалезе молодняка крупного рогатого скота составила 98,32%. В производственных

испытаниях вигисокса при нематодозах молодняка установлена высокая эффективность вигисокса и хорошая переносимость животными. Получена 100%-ная эффективность вигисокса в дозе 60 мг/кг при нематодирозе и 99,2%-ная – при других желудочно-кишечных стронгилятозах телок [23].

В условиях Бангладеш фенбендазол в дозе 7,5 мг/кг по ДВ в форме болюсов пераклера был испытан на 30 головах молодняка крупного рогатого скота и показал на 7; 14; 21 и 28-е сутки после назначения соответственно 46,6; 71,6; 83,3 и 90,5%-ный эффект против нематод пищеварительного тракта. После лечения у животных восстанавливались гематологические показатели до нормальных значений [208].

После однократного назначения ягнятам новой лекарственной формы фенбендазола – фенальбена в дозе 30 мг/кг получена 100%-ная эффективность при смешанной инвазии, вызванной эзофагостомами, нематодирусами и буностами [21].

При испытании водной суспензии фезола в дозе 5,0 мг/кг на молодняке крупного рогатого скота в Вологодской области получена 100%-ная эффективность при мониезиезе, стронгилятозах пищеварительного тракта и 92,0%-ная активность при диктиокаулезе [65].

Фезол в форме водной суспензии задавали крупному рогатому скоту в дозе 20 мг/кг (14 мг/кг по ДВ) при фасциолезе в Вологодской области. Получена 92,0%-ная эффективность при фасциолезе и 80,0%-ная активность при парамфистомозе [82].

Испытания панакура в дозе 5,0 мг/кг по ДВ на овцах показали 80,5%-ную эффективность против гемонхов и 100%-ную – против кооперий [206].

В опыте на 180 овцах, спонтанно инвазированных *Haemonchus* spp. и *Cooperia* spp., оценена антигельминтная эффективность фенбендазола, а также его комбинаций с дорамектином и нитроксинилом. Эффективность составила 62-83% по результатам копроовоскопии, что указывает на наличие резистентных штаммов нематод. Фенбендазол был более эффективным против кооперий, а дорамектин – против гемонхов [206].

На 115 овцах, естественно инвазированных желудочно-кишечными нематодами, изучена эффективность фенбендазола по результатам копроовоскопии. На 8- и 14-е сутки после лечения получена соответственно 100 и 98,8%-ная эффективность. В районе Кашмира не установлено резистентности нематод у овец к действию фенбендазола [295].

В комиссионных опытах показано, что фенбендазол гранулят 20%-ный при мониезиезе в дозе 1,0 г/10 кг массы тела в смеси с комбикормом в соотношении 1:50 при групповом назначении является высокоэффективным препаратом и рекомендуется для лечения и профилактики мониезиеза, авителлиноза и тизаниезиеза у овец [21, 54].

Фебтал гранулят и гелмицид гранулят при назначении групповым методом при мониезиезе ягнят в дозах 1,2 г/10 кг массы тела показали 100%-ный эффект. Оба препарата высокоэффективны, не обладают побочными действиями, экологически безопасны и рекомендуются для лечения и профилактики мониезиеза ягнят и других аноплоцефалатозов овец [69].

В Ивановской области в пастбищный период бычков 11,5-12-месячного возраста дегельминтизировали 3 раза фенбендазолом в дозе 20 мг/кг по ДВ. В октябре в фекалиях бычков обнаружили только яйца трихоцефал, а у нелеченых (контрольных) животных находили в фекалиях яйца стронгилят, трихоцефал и мониезий. Среднесуточные привесы леченых животных повысились на 53,9 г (9,47%) [83].

При испытании в Ивановской области фенбендазола в дозе 22 мг/кг по ДВ на 30 головах молодняка овец получена 100%-ная эффективность при эзофагостомозе [121].

Изучение овоцидных свойств антигельминтиков имеет большое практическое значение, так как выделяющиеся после дегельминтизации в большом количестве яйца или членики с яйцами могут контаминировать пастбище и быть источником заражения других животных.

При смешанной инвазии панакур гранулят 22,2%-ный и фенбендазол оказался высокоэффективным против стронгилят пищеварительного,

дыхательного (диктиокаулюсов) тракта, мониезий – ЭЭ и ИЭ 96-100%. Антигельминтики этой группы универсальны, удобны в применении, доступны и экологически безопасны [51, 246].

Таким образом, фенбендазол является одним из антигельминтных препаратов широко применяемых в ветеринарной практике. В связи с этим, разработка СМКФ с использованием механохимической технологии и адресной доставки, позволит значительно повысить эффективность, снизить терапевтическую дозу фенбендазола и тем самым уменьшить объем применения и степень загрязнения окружающей среды химическими лекарственными препаратами [5, 13, 115].

1.2. Токсические свойства фенбендазола

Фенбендазол из класса бензимидазолов хорошо переносится всеми видами домашних и диких животных. Антигельминтик в терапевтической дозе характеризуется отсутствием побочного влияния при дегельминтизации животных, в том числе молодых, больных и ослабленных. Фенбендазол не вызывал изменений у овец, получавших дозу в 1000 раз превышающую терапевтическую. Химиотерапевтический индекс выше 20. Крупный рогатый скот, в том числе больные, слабые телята выдерживают увеличенные в 67 раз терапевтические дозы препарата. Лошади переносят дозу 100 мг/кг независимо от возраста, пола, породы, характера эксплуатации и других факторов [39].

Препарат хорошо переносится лабораторными животными. Так у крыс и мышей отсутствовали признаки интоксикации при введении дозы 10000 мг/кг, максимально возможной для перорального введения.

Фенбендазол практически не токсичен при пероральном, подкожном и внутрибрюшинном введении. ЛД₅₀ фенбендазола составила для белых мышей при пероральном введении свыше 30000 мг/кг, подкожно 3200,

внутрибрюшинно 1250 мг/кг; для кроликов, собак, свиней и овец при введении в желудок соответственно 3200; 500; 5000 и 5000 мг/кг [282].

Животные переносили высокие дозы фенбендазола. Установлена хорошая переносимость белыми крысами фенбендазола в дозе 2500 мг/кг при введении в течение 30 и 90 суток, в дозе 1000 мг/кг в течение 15 недель. Собаки переносили препарат в дозе 250 мг/кг при даче в течение 6 суток, 25 мг/кг – в течение 30 суток, 125 мг/кг – в течение 90 суток, 20 мг/кг – в течение 6 месяцев. У свиней не отмечали отрицательного действия от дозы 200 мг/кг в течение 14 суток [89, 201, 282].

В связи с тем, что в токсикологических тестах при однократном введении фенбендазола мышам и крысам за счет его низкой токсичности установить ЛД₅₀ практически невозможно, то ее принято считать равной 10 г/кг (максимально вводимая доза).

На морских свинках при накожном применении фенбендазол не проявил сенсibiliзирующих свойств [171]. При испытании на лошадях в одном случае после однократной дозы 5 мг/кг отмечали симптомы острой аллергической реакции, которые удалось купировать введением антигистаминных средств.

Производные бензимидазолов, в том числе и бензимидазолкарбаматов, к которым относится фенбендазол, обладают тератогенным и эмбриотоксическим действием [36, 100]. Однако большинство работ указывает на отсутствие у фенбендазола эмбриотропного действия. Об этом свидетельствуют результаты опытов в лабораторных условиях на крысах и овцах [175, 289], а также в производственных условиях на овцах, коровах, кобылах и свиноматках [290]. Эмбриотоксического и тератогенного действия не отмечено. Однако пероральное введение препарата в дозе 63 мг/кг крольчихам ежедневно с 7- по 19-е сутки беременности привело к выкидышу у одной из 10 маток, у двух других при вскрытии на 29-е сутки беременности были обнаружены признаки гибели эмбрионов на ранней или поздней стадии

беременности [171]. Таким образом, в этом опыте установлено эмбриотоксическое действие фенбендазола в 10 раз повышенной дозе.

Эмбриотоксичность фенбендазола и его метаболитов изучали на крысах [163]. Отмечено, что сам фенбендазол не проявлял отрицательного влияния на эмбриональное развитие в дозах до 250 мг/кг. То же относится и к его ОН- и SO-производным. Однако SO-производное (оксфендазол) в дозе 15,75 мг/кг проявил эмбриотоксическое и тератогенное действие.

Не установлено отрицательного влияния фенбендазола в дозе 10 мг/кг на качество спермы быков-производителей [224].

Эмбрионы овец более чувствительны, чем плоды крупного рогатого скота к негативному действию бензимидазолов [241].

Повторное назначение фенбендазола в терапевтической и повышенной дозах не вызывало тератогенного действия в опытах на овцах, крупном рогатом скоте и лошадях. Препарат не оказывал влияния на организм новорожденных ягнят и телят, на удои коров и оплодотворяемость животных [137].

При введении овцам фенбендазола в 10 раз увеличенной дозе не отмечали побочного действия у овец. Шесть обработок препаратов в случной период не оказали эффекта на оплодотворяемость, выход приплода и молочную продуктивность.

Об отсутствии тератогенного действия фенбендазола свидетельствуют результаты опыта на крысах, получавших препарат на 8-15-е сутки беременности; он не вызывал повреждения клеток при внесении его в культуру клеток почек свиней [162].

Фенбендазол не обладает антимитотической активностью в культуре лейкоцитов человека и красного костного мозга и не вызывает эффекта на карциному Эрлиха у мышей [162].

Повышенные дозы фенбендазола оказывали временное повышение активности ряда ферментов у крупного рогатого скота и овец. Одно животное пало из трех голов крупного рогатого скота после введения

препарата в дозе 750 мг/кг. Куры переносили однократную дозу – 250 мг/кг, голуби – 400, кролики – 3200, свиньи – 5000, крупный рогатый скот – 500 мг/кг. В хроническом опыте крысы переносили 90 доз по 1600 мг/кг. При изучении эмбриотропных свойств отмечено, что доза препарата 2500 мг/кг не влияла на эмбрионы крыс [171].

Овцы переносили в десять раз увеличенную дозу фенбендазола без проявления побочных эффектов. Не отмечено побочного действия при применении препарата на большом поголовье суягных овцематок. Исследования крови овец после применения фенбендазола не выявили его побочного действия [186]. При применении фенбендазола на 23000 овец и 1600 коровах не отмечали проявления побочного действия. Препарат переносился хорошо при комбинированном применении с CCl_4 , бромсаланом, оксиклозанидом, рафоксанидом, диамфенетидом, диазиноном, диэлдрином, нитроксинилом [210].

При применении фенбендазола в дозе 3×10 мг/кг с интервалом в 4 недели не установлено побочного эффекта на качество спермы быков [224]. При введении крупному рогатому скоту увеличенной в 13 раз дозы фенбендазола и овцам в 10 раз увеличенной дозы препарат хорошо переносился при разных условиях содержания животных [289]. Использование антигельминтика в дозе 7,5 мг/кг на коровах, инвазированных остертагиями, привело к повышению молочной продуктивности на 173 кг по сравнению с контрольной группой. Лечение телок голштинофризской породы фенбендазолом в дозе 5,0 мг/кг с интервалом в 30-60 суток способствовало повышению прироста тела на 50-90 г в сутки [257]. Следовательно, фенбендазол хорошо переносится животными. Летальная доза фенбендазола для крупного рогатого скота составляет 750 мг/кг. Препарат не обладает эмбриотропным действием [171]. Однако применение фенбендазола в комбинации с бромсаланом может вызвать аборт у крупного рогатого скота и падеж у овец [125].

Отмечена хорошая переносимость фенбендазола независимо от возраста, состояния здоровья, беременности, породы, условий кормления, содержания, климата овцами и козами в дозе 4000 мг/кг, крупным рогатым скотом 5000, лошадьми 1700, свиньями 2600, собаками 350, кошками 10-50 мг/кг. Хорошая переносимость была установлена у птицы, диких и зоопарковых животных, слонов, леопардов, тигров, рептилий. Препарат не влияет на качество спермы, течение беременности у крыс, овцематок, коров, качество молока [290]. Не обладает тератогенным и эмбриотоксическим действием [162, 264].

Препарат не влияет на перистальтику кишечника крыс [173].

Установлено, что введение фенбендазола не влияло на трансформацию В-лимфоцитов в АОК, т.е. число зон гемолиза оставалось на уровне контроля – индекс стимуляции был равен 1,02. Введение фензола вызывало угнетение процесса антителообразования, индекс стимуляции уменьшился до 0,64. Введение препаратов снижало уровень агглютининов в периферической крови мышей, снижая иммунный ответ на тимусзависимый антиген – эритроциты быка до 0,55 у мышей 1-й группы и до 0,77 во второй. Селезеночный индекс колебался незначительно у животных всех групп: 1,03-1,2. При воспроизведении феномена ГЗТ как показателя влияния препаратов на клеточное звено иммунитета, установлено, что оба препарата снижают индекс реакции: фензол до 0,48, а фенбендазол до 0,62 по отношению к контрольным показателям. Таким образом, фензол и фенбендазол оказывают отрицательное воздействие на иммуногенез у мышей, проявляя иммунотоксические свойства [67, 70, 72].

Установлено, что отрицательное воздействие на организм животных фензола и фенбендазола после дегельминтизации проявляется в течение 5-7 суток. К 11-м суткам как у зараженных, так и интактных овец происходит стабилизация состояния после негативного влияния дегельминтизации на иммунологические показатели, а к 15-м суткам полностью восстанавливается

физиологическое равновесие и иммунологические показатели не отличаются от уровня здоровых животных [68, 70].

При исследовании токсических свойств установлено, что гранулы с фенбендазолом и празиквантелом при внутрижелудочном введении относятся к 4 классу опасности ($LD_{50} > 5000$ мг/кг; ГОСТ 12.1.007-76); при нанесении на кожу крыс LD_{50} превышает дозу 7000 мг/кг, что позволяет отнести препарат к малоопасным веществам (4 класс опасности). Препарат не оказывает раздражающего действия на кожу крыс [47].

Фенбендазол хорошо переносится молодыми, беременными животными. Минимальная летальная доза фенбендазола для крупного рогатого скота составляет 750 мг/кг (т. е. в 150 раз превышает терапевтическую дозу). Ежедневные дозы фенбендазола 250 мг/кг/сутки в течение 30 суток и 125 мг/кг/сут в течение 90 суток хорошо переносятся собаками и 45 мг/кг/сут в течение 30 суток – овцами. Попытки вызвать летальный эффект у мелких лабораторных животных фенбендазолом были безуспешными, так как крысы и мыши переносили максимально возможно вводимую дозу 10000 мг/кг.

Вигисол на основе фенбендазола вводили в трехкратной терапевтической дозе 6000 мг/кг на 1-6, 7-14 и 15-19-е сутки беременности самкам белых крыс разных групп. Препарат не обладал эмбриотоксическим и тератогенным действием, а также не оказывал отрицательного влияния на постнатальное развитие крыс [48].

При изучении кумулятивного и антимиотического действия вигисола отмечено, что препарат не обладает кумулятивным действием в опытах, проведенных по методу Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича (1964) [55], а также не оказывает отрицательного влияния на митоз в популяции клеток костного мозга [49].

Вигисол в дозах 1/10, 1/20 и 1/50 от LD_{50} (500; 250 и 100 мг/кг от $LD_{50} = 5000$ мг/кг) при пероральном введении в течение двух месяцев не изменял поведенческие реакции животных, не оказывал существенного влияния на

гематологические и биохимические показатели крови, не изменял лейкоцитарную формулу. Массовые коэффициенты основных органов находились в пределах нормы. При гистологическом анализе патологических микроскопических изменений в тканях основных органов не обнаружено. Вигисол не изменял динамику прироста массы тела животных [50].

В опытах на самках белых крыс паста празифена в дозе по ДВ 1,0/10,0 и 3,0/30,0 мг/кг соответственно по празиквантелу и фенбендазолу при введении в желудок различные периоды эмбриогенеза не проявила эмбриотоксического и тератогенного действия [101].

Новый комплексный антигельминтик вигисокс относится к малоопасным веществам. При введении в желудок ЛД₅₀ составляет для крыс – более 6000 мг/кг и мышей – более 10000 мг/кг. Вигисокс не проявляет местно-раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки и при введении в трехкратно увеличенной дозе не влияет на общее состояние, поведение животных, прием корма и воды, динамику прироста массы тела и гематологические показатели [22].

В опытах на 20 головах крупного рогатого скота изучено влияние вигисокса в терапевтической (50 мг/кг), в три (150 мг/кг) и пять (250 мг/кг) раз увеличенных дозах на клиническое состояние, гематологические и биохимические показатели. Вигисокс в испытанных дозах не оказывал отрицательного влияния на организм крупного рогатого скота. Химиотерапевтический индекс вигисокса равен 5. Препарат является безопасным средством для терапии основных гельминтозов крупного рогатого скота [11].

Назначения лечебного корма с фенбендазолом в течение 8 недель белым мышам не оказывало воздействия на микробиоту кожи животных, что было подтверждено ДНК исследованиями [223].

Фенбендазол является безопасным и недорогим антигельминтиком и обладает антипролиферативным действием. Препарат вызывает повреждение протеосомальной функции, нарушения функции тубулина и проявляет

цитотоксичность к раковым клеткам человека в микромолярной концентрации. Одновременно, он вызывает митохондриальную транслокацию и ингибирует потребление глюкозы, обуславливает экспрессию гексокиназы. Препарат представляет интерес как потенциальное средство лечения раковых заболеваний [164].

Анализ литературы свидетельствует о безопасности фенбендазола в терапевтической дозе для организма животных. Препарат хорошо переносится животными. ЛД₅₀ для мышей превышает величину 10000 мг/кг, не обладает эмбриотропным действием. Механохимическая технологии с использованием для адресной доставки полимера поливинилпирролидона или других веществ существенно повышает растворимость, и, следовательно, биодоступность препарата, что может оказать влияние на его токсические свойства. В связи с этим, изучение токсических свойств СМКФ весьма актуально.

1.3. Фармакокинетика и остаточные количества фенбендазола у сельскохозяйственных животных

После абсорбции фенбендазол преимущественно метаболизируется в печени путем окисления до сульфоксида (оксфендазол, FBZ-SO) – основного активного метаболита, а затем метаболизируется до фенбендазола сульфона (FBZ-SO₂) [147, 240]. Через 14 суток фенбендазол и его метаболиты не обнаруживаются в органах и тканях животных [153]. Динамику выделения фенбендазола и его метаболитов из организма животных изучали в основном за рубежом многие исследователи [134, 137, 153, 169, 172, 174, 198, 261].

Знание особенностей кинетики фенбендазола имеет большое значение, так как она во многом определяет его биологическую активность [261]. Первоначально использовали метод флуоресценции для изучения фармакокинетики неизмененного фенбендазола в организме овец без учета метаболитов препарата [169]. В последующем приводятся сведения относительно метаболитов ¹⁴C-фенбендазола в моче и фекалиях овец [172].

Содержание фенбендазола и его метаболитов: сульфоксида (оксфендазола) и сульфона определяли в плазме и жидкости сычуга у 6 овец после перорального введения фенбендазола в дозе 10 мг/кг. Максимальная концентрация в плазме овец фенбендазола, оксфендазола и сульфона составила соответственно 0,15; 0,29 и 0,17 мкг/кг через 24 ч после введения панакура. Концентрация в жидкости сычуга была равной 1,82; 0,66 и 0,07 мкг/кг через 30, 48 и 72 ч соответственно. Фенбендазол и сульфоксид обнаруживали в плазме крови и жидкости сычуга в течение 5 суток после введения препарата. Антигельминтная активность фенбендазола обусловлена, в основном, действием его метаболита, сульфоксида [228, 229, 240].

В организме овец, крупного рогатого скота и свиней фенбендазол обнаружили через 2-е суток после применения в незначительном количестве,

а через 5 суток – на уровне 0,05 мг/кг. Через 7 суток после введения препарат находили в печени крупного рогатого скота, свиней и овец в количестве 0,3; 0,28 и 0,9 мг/кг соответственно, а через 14 суток – на уровне 0,1; 0,11 и 0,2 мг/кг [172].

Заражение оказывает влияние на фармакокинетику фенбендазола. Так, у овец при высокой интенсивности инвазии отмечали меньшую абсорбцию фенбендазола, в то время как концентрация препарата в первые 30 ч после применения была ниже в сычуге и тонком кишечнике, т.е. в местах локализации нематод [261].

Фенбендазол выводится у крыс, собак, кроликов и овец в течение 3-7 суток. Максимальное содержание препарата в печени овец через 14 суток составило 0,13 мкг/г [134]. Период полураспада фенбендазола в организме кроликов и собак при пероральном и внутривенном введении составил 6 ч, у овец – 12 ч. 90% препарата выделяется с фекалиями и 10% - с мочой [153].

Фенбендазол практически не всасывается в рубце, абсорбируется в сычуге, что пролонгирует персистентность препарата в плазме [261].

Фармакокинетические исследования, проведенные с использованием флуорометрического метода на кроликах, овцах и крупном рогатом скоте, показали, что после введения терапевтической дозы фенбендазола 5,0 мг/кг максимальная концентрация препарата установлена у овец через 24 ч. Период полувыведения препарата составил 26 ч. Аналогичные результаты получены на крупном рогатом скоте. У кроликов период полувыведения составил 15 ч после дачи фенбендазола в дозе 50 мг/кг и 21 ч после лечения в дозе 100 мг/кг [169]. Срок ожидания для использования в пищу мяса после лечения животных составляет 14 суток [123, 175].

Фармакокинетические параметры и остаточные количества фенбендазола изучали в ГНУ ВИГИС в 2006 г., когда был разработан метод определения остаточных количеств фенбендазола и его метаболита – фенбендазола сульфоксида в органах и тканях свиней после обработки

препаратом фензол [99]. При разработке методики использованы широко применяемые методы экстракции и очистки проб [169, 240].

Известно, что 45-50% фенбендазола выводится в неизменном виде с фекалиями у овец, крупного рогатого скота и свиней и менее 1% - с мочой. Основной метаболит – фенбендазола сульфоксид у жвачных животных является результатом сульфоокисления фенольного кольца. У овец имеет место печеночная экскреция метаболитов фенбендазола и их энтерогепатическая циркуляция [203]. Q.A. McKellar et al. (1990) сообщали о результатах исследования фармакокинетики фенбендазола в организме собак [245].

При использовании жидкостной хроматографии были установлены параметры фармакокинетики фенбендазола после введения в дозе 5,0 мг/кг в форме болюсов интраруминально и вливания в сычуг овец. При этом получено снижение концентрации фенбендазола в плазме крови и в жидкости сычуга [283].

Фенбендазол и его метаболиты после введения в дозе 50 мг/кг определяли методом жидкостной хроматографии в плазме крови собак. Сульфон в плазме крови не детектировали. Максимальная концентрация, площадь под кривой, среднее время нахождения сульфоксида были соответственно выше в 30; 68 и 2 раза, чем у фенбендазола [189, 190].

При изучении фармакокинетики фенбендазола и его метаболитов (сульфона и сульфоксида) в молоке коров установлено, что максимальные концентрации обнаружены через 24 ч после введения препарата: 22,6 нг/мл для фенбендазола сульфона, 34,0 нг/мл для фенбендазола сульфоксида и 19,7 нг/мл для фенбендазола. Спустя 10 суток после введения препарата содержание фенбендазола и его метаболитов в молоке коров не превышало максимально допустимых значений [64].

Изучена взаимосвязь между концентрацией фенбендазола сульфоксида (оксфендазола) внутри *Trichuris suis* и в плазме, содержимом и слизистой оболочке слепой кишки. Препарат проникает в *T. suis* после абсорбции из

желудочно-кишечного тракта через энтероциты. Уровень фенбендазола сульфона в *T. suis* был высоким при высокой концентрации препарата в плазме. Корреляция между концентрацией препарата в отделах кишечника была более высокой для метаболитов [199].

Количественный метод для определения наличия бензимидазолов, авермектинов и нитроимидазолов в мышечной ткани крупного рогатого скота методом высокоэффективной жидкостной хроматографии совместно с масс-спектрометрией разработан, оптимизирован и валидирован с использованием методики экстракции QuEChERS [279].

При изучении фармакологического взаимодействия фенбендазола – нематодоцида и триклабендазола – фасциолоцида в условиях *in vitro* методом изучения микросомальных фракций печени и тонких срезов печени при совместной инкубации в течение 2 ч установлена связь между этими препаратами. В частности, при изучении данных с микросомальных фракций установлено снижение на 78,4% скорости образования фенбендазола сульфоксида при совместной инкубации, тогда как сульфоксид триклабендазола демонстрировал тенденцию к снижению. При использовании в качестве модели тонких срезов печени накопление сульфоксида фенбендазола в среде увеличивалось в 1,8 раза при совместной инкубации, тогда как накопление сульфоксида триклабендазола снижалось на 28%. Эти результаты подтверждают наличие межлекарственных взаимодействий [298].

Предложена чувствительная и селективная методика идентификации метаболитов бензимидазолов в сыворотке крови свиней после перорального применения альбендазола, фенбендазола и тиабендазола. Наночастицы оксида никеля (SiO_2/NiO) использовали для экстракции бензимидазольных соединений. Метаболиты определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией [312].

Сроки выведения остаточных количеств фенбендазола из организма индеек изучали в Канаде на 48 головах 9-недельного возраста, которым

назначали препарат в дозе 30 мг/кг в течение 7 суток. Через каждые двое суток убивали по 6 индеек со 2-е по 16-е сутки после лечения и пробы органов и тканей исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Сульфоксид фенбендазола детектировали на все сроки в печени и подкожном жире выше пределов количественного определения и в большей концентрации, чем в почках и мышцах. Сульфоксид не обнаруживали в мышцах на 14 и 16-е сутки после лечения. Фенбендазол медленно выводился из печени и срок ожидания составил 39 суток [179].

Анализируя данные литературы, следует отметить, что фенбендазол и его метаболиты выводятся из организма животных в течение 10-14 суток как с фекалиями (90%), так и с мочой (10%). Концентрация препарата в организме животных зависит от различных факторов, в том числе от растворимости субстанции, состава лекарственной формы, вспомогательных компонентов, технологии производства и др. Использование механохимической технологии и адресной доставки при производстве супрамолекулярных комплексов фенбендазола позволит изменить кинетику и метаболизм препарата. В связи с этим, целесообразно провести изучение биотрансформации супрамолекулярного комплекса фенбендазола и динамики выведения препарата и его метаболитов из организма овец в сравнении с субстанцией фенбендазола.

1.4. Средства адресной доставки лекарственных препаратов, способы и методы повышения их растворимости и эффективности

В последние годы проводится усовершенствование уже существующих антигельминтных препаратов и создание новых лекарственных форм, обладающих высокой эффективностью, низкой токсичностью и более широким спектром действия. Для этой цели используют различные (химические, физические, механические, технологические и др.) методы и приемы, включающие внесение поверхностно-активных и вспомогательных веществ, стабилизаторов и полимеров, создание микрокапсул, липосомных и растворимых форм [8, 37, 43, 44, 58]. К физико-химическим методам можно отнести воздействия на супрамолекулярном уровне, т.е. добавление соразтворителей и солюбилизаторов, введение в состав веществ липидной структуры, комплексообразование и др. Например, получение твердых дисперсных систем, которые представляют с собой би- или многокомпонентные системы с высокодиспергированной твердой фазой лекарственного вещества или молекулярно-дисперсные твердые растворы с частичным образованием комплексов переменного состава с материалом-носителем. В качестве носителя используют как полимеры – производные метилцеллюлозы, ПЭГ и др., так и олигомеры – циклодекстрины [35, 60, 109, 112, 122, 235, 313].

Одним из способов повышения эффективности лекарственных препаратов, в том числе, антигельминтиков, является повышение растворимости субстанций. Для улучшения параметров растворимости и абсорбции лекарственных веществ в настоящее время используют различные подходы, а именно: технологии микронизации, получения сокристаллов и твердых дисперсий, получение липидных наночастиц и коллоидных систем доставки лекарств, таких как микроэмульсии, самоэмульгирующие системы, липосомы и др. [116-118]. Биодоступность твердых лекарственных средств

для перорального введения зависит, главным образом, от размера, распределения по размерам и морфологии частиц. Увеличение удельной поверхности частиц лекарственных веществ приводит к увеличению растворимости. Для увеличения удельной поверхности частиц используют различные методы микронизации – измельчение, распылительная сушка, кристаллизация и пр. Недостатками таких технологий являются наличие частиц с широким диапазоном распределения по размерам, деградация продукта за счет теплового или механического воздействия и загрязнение следами токсичных растворителей.

Повышение избирательности действия лекарственных веществ является важной задачей современной фармацевтической технологии и особую значимость приобретает поиск новых подходов к созданию препаратов направленного действия в связи с неспецифичностью их распределения в организме. Одним из наиболее перспективных способов повышения эффективности лекарственных веществ является создание систем доставки на основе наноносителей [1, 2, 243, 308]. Перспективной формой являются наночастицы, содержащие лекарственное вещество по всей массе или только на поверхности наночастицы [4, 57]. Для повышения терапевтического эффекта и применения нерастворимых препаратов широко используют различные средства доставки лекарственных веществ, такие как: липосомы [128], микро/наноэмульсии [196], мицеллы [233], твердые наночастицы [262], полимерные наночастицы [305, 306] и нанокристаллы [250]. К примеру, липосомы и наноэмульсии успешно использованы при разработке инъекционных препаратов.

Таким образом, в последние годы исследования посвящены не столь разработке новых молекул противопаразитарных препаратов, а повышению эффективности имеющихся препаратов методами нанотехнологии и адресной доставки лекарственных средств. Эта задача решается разными группами ученых разными методами.

Для достижения размера частиц лекарственных средств порядка 100-200 нм наночастицы должны быть стабилизированы с помощью поверхностно-активных веществ или полимерных наносуспензий, которые могут быть дополнительно обработаны в стандартные лекарственные формы, такие как капсулы или таблетки, подходящие для орального применения [161]. Недостатком этого метода является то, что процесс измельчения часто требует механообработки в течение нескольких дней, чтобы достичь желаемого диапазона размеров.

В зависимости от морфологических особенностей используемого для синтеза наночастиц материала можно выделить несколько наиболее распространенных групп носителей: нанокристаллы, состоящие только из лекарственных веществ, подвергнутых измельчению до соответствующих размеров, что позволяет им растворяться со скоростью, превышающей скорость растворения частиц более крупных размеров; термически или химически модифицированный сывороточный альбумин; химически модифицированные полисахариды (например, диальдегидкрахмал); биодеструктурирующиеся полимеры и сополимеры (полиалкилцианоакрилаты, полиактидгликолиды) [2]. В фармации используются наночастицы, которые представляют собой наноразмерные частицы оксидов, металлов, полимеров. Молекулы лекарственных веществ «связываются» на поверхности раздела фаз Ван-дер-Ваальсовыми, ионными и ковалентными взаимодействиями [161].

Кристалльная технология предлагает несколько путей повышения растворимости и скорости растворения, которые основаны на знаниях процессов кристаллизации и молекулярных свойств субстанции лекарственных веществ. В процессе кристаллизации возможно включение молекул растворителя внутрь кристаллической решетки. Скорость растворения и растворимость лекарственных веществ могут различаться значительно для разных сольватов [260]. Эта технология используется многими известными фармкомпаниями, такими как DowPharma, BASF

Pharma Solutions. Фармацевтические сокристаллы открывают новые возможности для решения проблемы с растворимостью лекарственных веществ [286]. Лекарственные нанокристаллы могут быть промежуточной стадией разработки для последующей наработки таблеток, капсул, аэрозолей, инъекционных растворов и других форм, назначаемых разными способами [127, 205, 217]. Потенциальная нанокристаллотехнология лекарств способствует повышению биодоступности препаратов и при оральном применении, о чем свидетельствует пять разработанных препаратов с использованием нанокристаллов, которые одобрены FDA [250]. Имеется сообщение Y.E. Yanghuan et al. (2014) о приготовлении нанокристаллов антигельминтика никлозамида в форме инъекций [307]. Так, пролонгированная суспензия полиперидона для инъекций, приготовленная на основе нанокристаллов, одобрена Европейским медицинским агентством [145].

Удельная поверхность является одним из важных факторов, определяющих скорость растворения слаборастворимых лекарственных средств. Получение твердой дисперсии – один из способов повышения удельной поверхности и растворения. Твердая дисперсия – дисперсия одного или более активных ингредиентов в инертном носителе или матрице. Твердые дисперсии обычно готовят путем нагревания смесей препарата и носителя в расплавленном состоянии, после чего следует повторная сублимация путем охлаждения. Приготовление расплава часто требует относительно высоких температур ($> 100^{\circ}\text{C}$), что может привести к термическому разложению препарата.

Метод испарения растворителя является еще одним методом подготовки твердых дисперсий, которые включают растворение компонентов с последующим выпариванием. Метод испарения растворителя имеет несколько недостатков, а именно, отнимает много времени за счет длительной обработки и сушки. Более того, этот метод не является благоприятным для окружающей среды из-за использования органических

растворителей и может иметь токсичный остаточный растворитель (растворители) в конечном продукте.

К коллоидным системам доставки лекарственных веществ относят такие эмульгирующие системы как традиционные эмульсии, микроэмульсии, самоэмульгирующие лекарственные средства, а также липосомы. В состав эмульсий входят такие масла, как хлопковое, соевое и другие, так как известно усиленное всасывание лекарственных веществ из эмульсий. Например, биодоступность гризеофульвина из эмульсии кукурузного масла в два раза выше, чем из его водной суспензии и таблеток. Однако, такие эмульсии термодинамически не устойчивы и этот недостаток можно устранить путем превращения жидких эмульсий в твердую эмульсию (порошок) с помощью распылительной сушки. Сухие эмульсии можно использовать в виде таблеток или капсул [44, 118].

Микроэмульсии представляют собой новые фармацевтические составы, разработанные для преодоления вышеуказанных недостатков. Они термодинамически стабильны с низкой вязкостью и легко поддаются подготовке дисперсии, состоящей из масла и воды, стабилизированных межфазной пленкой из молекул ПАВ. Для улучшения растворимости и скорости растворения плохо растворимых лекарственных веществ, предпочтительно их получать в виде масла в воде. Микроэмульсионные системы широко используются для улучшения растворимости и абсорбции плохо растворимых в воде лекарств [116, 117].

Липосомы представляют собой фосфолипидные везикулы, содержащие фосфолипидный бислой. Благодаря своей двухфазной характеристике и разнообразию дизайна, состава и конструкции, липосомная технология позволяет повысить растворимость лекарственных веществ за счет инкапсуляции липосомой. Показано, что липосомы являются перспективными носителями лекарственных веществ для улучшения биодоступности таких препаратов, как ибупрофен, амфотерицин В, циклоспорин, гризеофульвин [140, 249].

Принимая во внимание возрастающую долю рынка лекарственных препаратов для перорального применения, фармацевтические компании фокусируют свои исследования на проблеме преодоления низкой растворимости лекарственных средств путем разработки новых технологий [302].

Так, твердые липидные наночастицы (ТЛН) представляют собой альтернативные носители лекарственных веществ по сравнению с традиционными коллоидными носителями (эмульсии, липосомы, полимерные микро- и наночастицы) для усиления пероральной биодоступности малорастворимых веществ. Эти системы содержат твердые липиды в качестве матричного материала, который обладает адгезивными свойствами, заставляющими их прилипать к стенке кишечника и высвобождать препарат в том месте, где он должен быть абсорбирован. Методами получения являются гомогенизация под высоким давлением и технология микроэмульсии. Липидную матрицу ТЛН готовят из липидных компонентов, что уменьшает показатели острой и хронической токсичности. Другим существенным преимуществом ТЛН является то, что они могут быть стабильны в течение трех лет, что имеет важное значение для коллоидных носителей лекарственных средств. При этом отмечают повышенную биодоступность таких лекарственных веществ, как празиквантел, кверцетин, ловастатин, нитредипин, винпоцетин и циклоспорин [254].

Создание технологии биополимерных антигельминтиков позволит разработать новые лекарственные формы препаратов с повышенной растворимостью, большей биологической доступностью и высокой эффективностью. Технология создания биополимерных препаратов включает реакцию полимеризации за счет взаимодействия гидроксильных групп и молекул препарата с функциональными группами полимера. Данные технологии основаны на образовании мицеллы, т.е. комплекса антигельминтика и полимера, способствует повышению дисперсности, растворимости, полиморфности, пролонгации действующего вещества и, в

конечном итоге, повышению эффективности препарата и снижению в несколько раз терапевтических доз антигельминтиков. Кроме того, полимерные формы антигельминтиков имеют более широкий спектр действия и меньше загрязняют окружающую среду. Получило широкое распространение использование специфических средств (антигельминтиков) в сочетании с иммуностимуляторами, антиоксидантами, пробиотиками и другими средствами патогенетической терапии животных. Биополимерная технология создания новых лекарственных форм антигельминтиков успешно развивалась в ГНУ ВИГИС. В 1992-1999 гг. разработан ряд антигельминтиков (феналидон, фенапэг, полифен) на основе фенасала и полимеров, что позволило в 2-10 раз снизить терапевтическую дозу действующего вещества и тем самым уменьшить объем применяемого препарата, загрязняющего окружающую среду [5, 7].

Твердые дисперсии, используемые в фармации, представляют собой гетерогенные системы из двух или большего числа фаз с сильно развитой поверхностью раздела между ними. Обычно одна из фаз образует непрерывную дисперсионную среду, в объеме которой распределена дисперсная фаза в виде мелких кристаллов, твердых аморфных частиц, капель или пузырьков. Твердые дисперсии готовят методом растворения, сушки, размолотом в смесителе и экструзией. В настоящее время чаще используют метод размолотом на вальцовом смесителе и совместного размолотом с полимерами [3]. Соотношение лекарственного вещества и полимера (ПВП) влияет на растворение и биодоступность препарата. Обычно используют соотношение 1:3 – 1:10.

Твердые дисперсии получают с использованием механохимической технологии, которая имеет такие преимущества, как отсутствие жидкой фазы, уменьшение побочных химических процессов, получение продукта в одну стадию и возможность получения твердой дисперсии нерастворимых веществ.

В настоящее время осуществляются разработки инновационных противопаразитарных препаратов на основе механохимической технологии и их целенаправленной доставки к месту действия [13]. Механохимический подход позволяет уменьшить размеры частиц субстанции, абсорбировать молекулы субстанций на наноразмерных частицах полимеров, провести аморфизацию частиц субстанций, образовывать водорастворимые соли, комплексы, мицеллы и липосомы и молекулярное диспергирование субстанций [38, 41, 42, 115]. Процессы механообработки (измельчение, смешение, прессование и пр.) играют важную роль в приготовлении ряда лекарственных форм и их влияние на свойства готового препарата нельзя не учитывать [40]. Так, при совместном измельчении лекарственных субстанций с вспомогательными веществами получают твердые дисперсии [108], которые, как правило, повышают растворимость и биологическую доступность малорастворимых лекарственных веществ. В связи с такими преимуществами твердых дисперсий, разработаны альтернативные методы их получения, в том числе, метод растворения компонентов с последующим испарением растворителей; метод плавления компонентов, метод соосаждения и др. [212].

Предложен оригинальный метод получения твердых дисперсий путем совместной твердофазной обработки субстанций плохо растворимых лекарственных веществ с водорастворимыми полимерами в измельчителях-активаторах с регулируемой энергонапряженностью [43, 44, 152]. Этот метод имеет целый ряд преимуществ перед известными, а именно, полное исключение из процесса растворителей, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования, гибкость технологии.

С целью повышения водорастворимости и биологической активности антигельминтиков (медамин, альбендазол, фенбендазол) методом совместной механообработки их субстанций с полимерами (ПВП, арабиногалактан) получены твердые дисперсии, представляющие собой легко сыпучие порошки. Анализ твердых дисперсий систем «ЛВ:полимер» на

растворимость показал, что этот показатель зависит как от природы лекарственного вещества, так и от полимера. Показана возможность увеличения водорастворимости медамина в более чем в 50 раз, альбендазола в 27 и фенбендазола в 24 раза при варьировании времени их совместной механообработки с полимерами. ИК-спектральные исследования и сравнение их с литературными данными позволили предположить образование межмолекулярных комплексов за счет формирования водородной связи между характеристичными группами субстанций антигельминтиков и полимеров [154, 219].

Было показано, что твердые дисперсии этих же субстанций с ПВП можно получить и альтернативным методом – путем растворения компонентов в этаноле с последующим удалением растворителя [211]. Эти твердые дисперсии представляли собой слюдообразные твердые пленки и обладали большей растворимостью, чем твердые дисперсии, полученные твердофазно. Сравнение нематодоцидной активности твердых дисперсий (альбендазол с ПВП и фенбендазол с ПВП), полученных альтернативными методами, показали, что они обладают одинаковой активностью при дозе 2,0 мг/кг по ДВ при испытаниях на лабораторной модели трихинеллеза на белых мышцах, экспериментально инвазированных *T. spiralis*. Твердые дисперсии альбендазола с ПВП и арабиногалактаном показали высокую эффективность при трихинеллезе и гименолепидозе белых мышей. Эти результаты были подтверждены при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец. Твердая дисперсия фенбендазола с арабиногалактаном показала 100%-ную эффективность при диктиокаулезе, стронгилоидозе и стронгилятозах пищеварительного тракта и 98,3%-ную активность при трихоцефалезе овец [29, 32, 33].

Таким образом, на сегодняшний день в фармации часто используют твердодисперсные системы субстанций с различными полисахаридами, растительными сапонинами, синтетическими полимерами, аморфными субстанциями [166, 237]. После растворения в воде они формируют

супрамолекулярные наноразмерные образования, включая комплексы, мицеллы и наночастицы, которые содержат молекулы в системе «гость – хозяин». Авторами использованы антигельминтики: альбендазол, фенбендазол, никлозамид и празиквантел с арабиногалактаном, поливинилпирролидоном, дериватами глицирризиновой кислоты. В результате комплексообразования повысилась активность, снизилась до 10 раз терапевтическая доза и токсичность действующих веществ [116, 118, 167, 221].

В ближайшие годы, согласно прогнозу на будущее, нанотехнологические/супрамолекулярные системы доставки лекарственных веществ резко изменяют существующие пути доставки лекарственных молекул и позволяют захватить 15% объема рынка инновационных лекарств, а в дальнейшем эти технологии займут 90% рынка [288]. 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 [42, 287, 310].

Для адресной доставки лекарственных средств предложены различные полимеры, в том числе арабиногалактан из лиственницы, который способен вступать в реакции с моно- и бифункциональными реагентами [18]. Арабиногалактан показал высокую мембранотропность [138]. Вследствие этого свойства арабиногалактан можно использовать для повышения всасываемости других лекарственных препаратов с низкой биодоступностью [138, 151, 193, 214]. Способность арабиногалактана к избирательному проникновению через мембраны обусловлено наличием в его структуре звеньев галактозы. Арабиногалактан могут служить целенаправленным носителем для доставки диагностических и терапевтических средств к

определенным клеткам, в частности, к гепатоцитам печени [73, 192]. При этом образуется комплекс между доставляемым агентом и арабиногалактаном, способным взаимодействовать с рецепторами клетки из-за высокой разветвленности структуры макромолекул арабиногалактана и в наличии в них галактозных и арабинозных групп [193].

Арабиногалактан выгодно отличается от других полисахаридов за счет низкой токсичности (доза 5000 мг/кг не вызывает токсичности), быстрого метаболизма и мембранотропной активности, что обеспечивает ему значительный потенциал в процессах формирования наноструктур [18]. Спектральными, структурными и аналитическими методами исследованы водорастворимые межмолекулярные комплексы арабиногалактана и малорастворимых лекарств, а также проведено сравнение различных способов получения растворов таких комплексов – жидкофазным и механохимическим твердофазным путем. Показано, что последний способ позволяет получить устойчивые межмолекулярные комплексы. Полученные водорастворимые комплексы имеют преимущества – достигается снижение терапевтической дозы, отсутствуют побочные эффекты, повышение растворимости до 50 раз, что позволило на порядок снизить лечебную дозу. Полученные результаты открывают перспективы создания лекарственных средств повышенной эффективности и безопасности [74-76].

В качестве целенаправленных носителей лекарственных веществ можно использовать производные глицирризиновой кислоты (ГК) [191]. Было установлено, что производные ГК способны встраиваться в биологические мембраны клеток, обеспечивая подвижность липидов [273, 299]. Так как в составе ГК присутствуют гидрофильные и гидрофобные составляющие, она способна формировать комплексы с органическими молекулами [269] и образовывать самоассоциаты в водно-спиртовых и водных растворах [222]. За счет увеличения подвижности липидов биологических мембран производные ГК способствуют проникновению молекул лекарственных веществ внутрь клетки [105, 273]. Включение

молекул празиквантела в мицеллы $\text{Na}_2\text{ГК}$ обеспечивает повышенную концентрацию молекул празиквантела в предмембранном слое, то есть доставка препарата происходит быстрее, способствуя ускорению абсорбции лекарственного средства в кровотоки [177, 248]. Кроме того, взаимодействие ГК с липидным бислоем клеток также может способствовать повышению биодоступности, в том числе благодаря взаимодействию с кишечным эпителием [273].

Широкое применение в фармацевтической технологии нашел ПВП из-за хорошей растворимости в воде, отсутствия токсичности и высокой способности к комплексообразованию. Одним из способов повышения биодоступности лекарственных веществ является повышение растворимости путем механического смешивания, комплексообразования или получения твердых дисперсий с ПВП [2, 59, 122].

В настоящее время наносистемы на основе полимерных носителей вызывают интерес в фармации, так как они представляют терапевтическую систему и способны транспортировать лекарственные вещества внутрь клеток. Такие системы быстро воспроизводятся в больших количествах, в них можно включать плохо растворимые в воде лекарственные вещества и регулировать накопление препарата в органах и тканях организма [3, 60, 108, 112].

Таким образом, фенбендазол, являясь одним из наиболее применяемых антигельминтиков при гельминтозах животных, относится к нерастворимым препаратам с низкой проницаемостью, плохой биодоступностью и недостаточной эффективностью, особенно при нематодозах плотоядных. В связи с этим фенбендазол нуждается в технологиях повышения растворимости и, как следствие, 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. Объект исследования – супрамолекулярный комплекс фенбендазола, полученный с использованием механохимической технологии с различными компонентами. Проведен 31 научно-производственный эксперимент. Изучение токсических свойств проводили на 400 мышах, 188 крысах и 4 кроликах. Биологическую (антигельминтную) активность изучали на 128 мышах, экспериментально зараженных *Trichinella spiralis* и *Hymenolepis nana*. Антигельминтную эффективность оценивали на 1386 овцах и 148 головах молодняка крупного рогатого скота, спонтанно инвазированным гельминтами. Оценку переносимости СМКФ проводили на 20 овцах и на 20 телках. Биотрансформацию, фармакокинетику и остаточные количества СМКФ изучали на 60 овцах, адресную доставку – на 70 мышах. Производственные и комиссионные испытания СМКФ проводили на 544 овцах и 184 головах молодняка крупного рогатого скота. Выполнено 960 физико-химических, 588 общих клинических, 80 гематологических, 80 биохимических, 2262 гельминтологических исследований и гистологическое изучение 280 образцов внутренних органов и плодов крыс.

2.1.1. Приготовление и оценка физико-химических свойств супрамолекулярных комплексов фенбендазола

Приготовление супрамолекулярных комплексов фенбендазола с различными компонентами с использованием механохимической технологии и оценку их физико-химических свойств проводили совместно с д.т.н. С.С. Халиковым (Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН).

Фенбендазол (ФБЗ) – метил 5-(фенилтио)-2-бензимидазолкарбамат. Субстанция серии 60111706 (сод. 98%), производство Changzhou Yabang Pharmaceuticals Co.Ltd. (КНР).

В качестве водорастворимых полимеров были использованы:

- арабиногалактан (АГ) из лиственницы сибирской *Larix sibirica* / ТУ 9363-021-39094141-08, серия 02042013;
- поливинилпирролидон (ПВП) (ФСП 42-0345-4368-03) с молекулярной массой $M_w \sim 12$ кДа.

В качестве вспомогательных компонентов использовали:

- динатриевую соль глицирризиновой кислоты ($Na_2ГК$), производства Yuli County Jinxing Licorice Products Co (КНР);
- натрия диоктил сульфосукцинат (НДОСС) (сод. 96%) – производство Acras Organics (США);
- экстракт солодки (ЭС) – с содержанием 24,9% глицирризиновой кислоты производства ООО «Вистерра» (Декларация соответствия TCN RU Д–RU.AF96.B.00958);
- гидроксиэтилкрахмал (ГЭК) – марки 200/05 фармакопейной чистоты.

Механохимическая технология приготовления твердых дисперсий.

Процесс получения твердой дисперсии (ТД) проводили в металлическом барабане мельницы LE-101 (объем 800 мл) при совместной (весовое соотношение ФБЗ:вспомогательный компонент = 1:10, 1:5) механообработке компонентов и вращении валков мельницы со скоростью 60 об/мин с

металлическими шарами диаметром 23 мм. Модуль процесса 1:17. Полученные при различном времени активации (от 1 до 24 ч) образцы ТД, представляющие собой легкосыпучие порошки, были исследованы, в первую очередь, на растворимость в воде, чтобы определить насколько изменился этот параметр, который нами рассматривается как основной для подтверждения образования межмолекулярных комплексов [44]. По этой технологии были получены ТД следующих составов: ФБЗ:ПВП = 1:10; 1:5, ФБЗ:АГ = 1:10; 1:5.

ТД фенбендазола с $\text{Na}_2\text{ГК}$ получали аналогично в одну стадию механохимической обработки в соотношении 1:5; 1:10 и 1:20 при скорости вращения 90 об/мин в течение 4 ч.

ТД фенбендазола с ЭС и НДОСС в соотношении 1:8,9:0,1 получены методом механохимической обработки при скорости вращения барабана 60 об/мин, модуле процесса 1:16 с металлическими шарами диаметром 23 мм.

ТД фенбендазола с ПВП и НДОСС получали по механохимической технологии в металлическом барабане мельницы LE-101, в который загружали 2,1 г фенбендазола, 21,0 г ПВП и 0,15 г НДОСС с добавлением в барабан 800 г металлических шаров диаметром 12 мм. Барабан устанавливали на валках и проводили обработку смеси в течение 2 ч при вращении барабана со скоростью 70 об/мин. Полученный продукт – ТД ФБЗ:ПВП:НДОСС в соотношении 10:88,85:0,15; а также получали ТД в соотношении 10:89,9:0,10 и 10:89,95:0,05. Все ТД представляли с собой сыпучие порошки светло-серого цвета.

Все образцы композиций антигельминтика фенбендазола с вспомогательными компонентами, полученные методом механохимической технологии, представляли с собой твердые дисперсии порошков, которые в воде образуют супрамолекулярные комплексы.

Для полученных твердых дисперсий фенбендазола определяли размер частиц, растворимость в воде, инфракрасные спектральные и термические характеристики.

ИК-спектральные исследования исходных лекарственных субстанций и их супрамолекулярных комплексов с полимерами проводили на спектрофотометре Shimadzu-2600 (Япония). ИК-спектры ТД СМКФ с ЭС и НДОСС измеряли методом нарушенного полного внутреннего отражения на инфракрасном фурье-спектрометре VERTEX 70v (Bruker Optik GmbH, Германия) с использованием приставки НПВО GladyATR 50 (PIKE, США). Измеренные спектры НПВО корректировали с помощью программы OPUS 7 [219].

Электронные микрофотографии, сделанные на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM-1000 (Япония), позволили охарактеризовать процессы механохимической активации лишь на качественном уровне.

В процессе механохимической обработки композиции измельчаются и частично образуют агрегаты неправильной формы. Именно агрегирование частиц способствует взаимодействию лекарственных и вспомогательных веществ с образованием их межмолекулярных комплексов.

Рентгенофазовый анализ полученных продуктов осуществляли на дифрактометре Brucker D8 (Advance, Германия) с фокусирующим германиевым кристаллом-монокроматором на первичном пучке (CuK_α - излучение). Первичную обработку дифрактограмм проводили методом Александера (1969) с учетом собственного рассеяния кюветы, внесением поправки на поглощение и поляризацию излучения [126]. Для определения степени кристалличности образцов, подвергнутых механообработке с различным временем воздействия, использовали метод Руланда [79, 268].

Термический анализ исследуемых образцов проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии на приборе DSC-550 (Instrument Scientific Specialists Inc., США) в атмосфере аргона при нагреве от 20 до 250°C, происходившего со скоростью 10°C/мин.

Для определения растворимости навески ТД фенбендазола с различными компонентами массой 0,33; 0,6 и 0,8 г растворяли в 10 мл

дистиллированной воды, перемешивая в течение 3 ч в шейкере-инкубаторе при 25 °С и 180 об/мин. Концентрацию фенбендазола в растворах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent 1100 с колонкой Hypersil C18, 5 мкм, 4,6×150 мм (температура – 30°С; УФ-детектирование). В качестве элюента применяли систему ацетонитрил-ацетатный буферный раствор (1:1, pH 3,4). Скорость потока составляла 1 мл/мин при объеме пробы 5 мкл. Детекцию проводили при длине волны 290,8 нм. В качестве эталонных образцов использовали растворы фенбендазола, приготовленные в диметилсульфоксиде [152].

Гранулометрический состав образцов исходных субстанций и их межмолекулярных комплексов тестировали с помощью лазерного анализатора размера частиц Microsizer-201a (ВА Инсталт, Россия). В модуль пробоподготовки объемом 150 см³ засыпали исследуемые порошки в количестве (1-5 г), достаточном для достижения 70-75% светопропускания через кювету. Измерения делали после перемешивания в течение 1-2 мин при одновременной ультразвуковой обработке суспензий для разрушения агломератов. Данные обрабатывали встроенной в анализатор программой расчета. Результаты определения гранулометрического состава осадков исходных субстанций и их межмолекулярных комплексов представляли в виде гистограмм массового распределения по размерам частиц.

2.1.2. Оценка токсических свойств супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Токсикологические исследования проводили в лаборатории экспериментальной терапии и виварии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Лабораторных животных (белых мышей и белых крыс) получали из питомника «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России. Мышей содержали в виварии института в поликарбонатных клетках по 10 особей, а белых крыс – по 6 голов в соответствии с правилами лабораторной практики и Приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. [92, 93], которые были актуальны на момент проведения исследований.

Исследования на животных проводили согласно Приказа МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г., Приказа МЗ РФ 199н от 01.04.2016 г. и Правил, принятых Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей [90, 91, 182].

Доклинические исследования проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [113] и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [79].

При изучении острой токсичности СМКФ были использованы его варианты с различными компонентами на основе фармакопейного (1:10) и Алтайского арабиногалактана (АГ) (1:10), поливинилпирролидона (ПВП) (1:10), натриевой соли глицирризиновой кислоты ($\text{Na}_2\text{ГК}$) (1:10), диоктилсульфосукцината натрия (НДОСС) (0,05%), экстракта солодки (ЭС) (1:10) и гидроксиэтилкрахмала (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 беспородных крыс массой 160-180 г и 10 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. Проводили патологоанатомическое вскрытие павших животных во время эксперимента. Выживших животных по завершении периода наблюдений декапитировали и также вскрывали.

Параметры острой токсичности супрамолекулярных комплексов планировали рассчитать методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону [19], но за счет низкой токсичности это не потребовалось, а оценку степени опасности препаратов проводили по системе классификации ГОСТ 12.1.007-76 [34].

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 глаза оценивали в дозах 10000 и 20000 мг/кг в соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» от 11 августа 1980 г. № 2196-80 [77].

За сутки до эксперимента тщательно выстригали шерсть на участке аппликации. Шерсть выстригали на симметричных участках спины по обе стороны от позвоночника, оставляя шерстный покров между ними. Правый бок служил для аппликации изучаемого вещества, левый - для контроля.

Реакцию кожи оценивали сразу после нанесения суспензии препарата, далее через 1; 16; 24; 48 и 72 ч. Учитывали проявление функциональных изменений кожи: различной степени эритемы, отека, трещин, изъязвлений, изменения температуры кожи. Величину отека кожи определяли путем измерения толщины кожной складки (в мм) при помощи толщиномера типа ТР-1-10.

Оценку действия СМКФ на слизистые глаза проводили на 4 взрослых кроликах, которым закапывали однократно в конъюнктивальный мешок 1

каплю суспензии СМКФ в левый глаз, а правый глаз служил контролем. После внесения вещества прижимали слезноносовый канал у внутреннего угла глаза на 1 мин. Наблюдения за прозрачностью роговицы и состоянием слизистых глаза проводили ежедневно в течение 2 недель. Регистрировали появление и выраженность гиперемии и отека слизистых глаза, количество выделений, инъекцию сосудов склеры и роговицы по балльной системе, предложенной А. Majda и К. Chuscielska (1973) [236], а также учитывали наличие изъязвлений слизистой оболочки глаз, помутнения роговицы, рубцовых изменений век.

Кумулятивные свойства изучали по методу R.K. Lim et al. (1961) на 20 белых крысах живой массой 160–180 г [55, 230]. СМКФ вводили ежедневно внутрижелудочно в течение 28 суток, в первые сутки в дозе 2000 мг/кг – 1/10 от ЛД₅₀, затем дозу увеличивали в 1,5 раза через каждые четверо суток. Кумулятивный эффект при повторных введениях СМКФ определяли с использованием коэффициента кумуляции, который определяется как отношение ЛД₅₀ при многократном введении к ЛД₅₀ препарата при однократном введении [55]. 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 7 суток ежедневно внутрижелудочно с помощью зонда. Условно за ЛД₅₀ приняли максимальную дозу для перорального введения. Длительность введения испытуемого препарата – 7 суток определяется предполагаемой кратностью введения препарата в ветеринарной практике [113]. Контрольная группа на протяжении всего опыта получала 1%-ный крахмальный клейстер в соответствующих объемах. В течение опыта проводили наблюдение за общим состоянием, внешним видом и поведением животных, состоянием волосяного покрова и слизистых

оболочек, симптомами интоксикации, потреблением корма и воды, 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 определения массовых коэффициентов, а также 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» [78], «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [113] и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [79].

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 сутки эмбриогенеза (1 группа); на 7–14 сутки (2 группа) и на 15–19 сутки (3 группа) в трехкратной терапевтической дозе 6 мг/кг. Контрольная группа животных была сформирована по принципу аналогов и получала физиологический раствор.

Животных подвергали эвтаназии на 20-е сутки беременности методом декапитации. 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. По соотношению числа желтых тел беременности, мест имплантации и живых плодов вычисляли уровень общей эмбриональной, предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов. Предимплантационную смертность определяли по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке, а постимплантационную смертность – по разности между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов.

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 [45, 46]. Для исследования по методу Доусона плоды фиксировали в 96% спирте в течение 7 суток, затем погружали в 1% раствор КОН для просветления мягких тканей, после чего добавляли 1% раствор ализарина для окрашивания окостеневших участков скелета в красно-фиолетовый цвет, через 3 суток переносили плоды в чистый раствор, состоящий из 150 мл глицерина, 800 мл дистиллированной воды и 10 г КОН для полного обесцвечивания мягких тканей и через 14 суток обезвоживали и исследовали костную систему, определяя длину закладок окостенения трубчатых костей (лопаточной, плечевой, локтевой, лучевой, бедренной, большой и малой берцовых).

Для исследования по методу Вильсона плоды фиксировали в жидкости Буэна, через 2 недели проводили последовательные сагиттальные срезы бритвой [46].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента-Фишера.

Иммунотоксические свойства СМКФ изучали в двух опытах на 60 мышах-самцах линии СВА×С57BL/6 массой 16–18 г, в ходе которых оценивали влияние препарата на гуморальный и клеточный иммунный ответ согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [113] и «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [79]. 14 мышам СМКФ с ПВП вводили однократно внутривентрикулярно через зонд в терапевтической дозе 20 мг/кг в 1%-ном крахмальном клейстере, 16 мышам – в десятикратно увеличенной дозе – 200 мг/кг, 14 мышам вводили базовый препарат – фенбендазол в десятикратно увеличенной дозе – 20 мг/кг и 16 мышей служили контролем и препарат не получали. Затем всех животных (60 голов) иммунизировали интраперитонеально в объеме 0,5 мл 3%-ной взвеси эритроцитов барана - ЭБ (тест-антиген) в стерильном физиологическом растворе и распределили на 8 групп по 7–8 голов в каждой. ЭБ являются тимусзависимым антигеном неинфекционной природы, который обычно используют в иммунологических исследованиях, т.к. он наиболее полно моделирует различные варианты чужеродного агента (корпускулярный, тимусзависимый, содержащий множество антигенных детерминант) [53, 61].

Реакция гемагглютинации. Опыт проводили на 30 мышах линии СВА×С57BL/6 массой 16–18 г. После введения испытуемого препарата и иммунизации животных разделили на 4 группы по 7–8 особей в каждой. Титр антител определяли на пике первичного иммунного ответа (7-е сутки после иммунизации) в микроварианте прямой реакции гемагглютинации (РГА). Титр антител выражали в виде $\log_2$ числа. Для сравнения выраженности иммунного ответа в опыте и контроле определяли индекс действия препарата (ИД), который представляет собой отношение титра антител в опыте к величине титра антител в контроле. Значения индекса 0,5 и ниже говорят об угнетении антителогенеза, а 1,3 и выше – о стимуляции иммунного ответа.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ). Влияние на Т-клеточный иммунитет *in vivo* оценивали у мышей по реакции ГЗТ к ЭБ. После введения испытуемого препарата и иммунизации животных разделяли на 4 группы по 7–8 особей в каждой. На 5-е сутки для выявления сенсibilизации мышам в подушечку правой задней лапы вводили разрешающую дозу ЭБ – 15%-ную взвесь в объеме 0,02 мл, в контралатеральную лапу вводили физиологический раствор в том же объеме. О степени выраженности воспалительной реакции в месте инъекции разрешающей дозы антигена судили по приросту массы лап через 24 ч. Об интенсивности клеточной реакции ГЗТ судят по величине сдвига индекса реакции по формуле (1):

$$\text{ИР} = \text{М}_0 - \text{М}_\text{к} / \text{М}_\text{к} \times 100\%, \quad (1)$$

где М_0 – масса лап у опытных мышей;

$\text{М}_\text{к}$ – масса лап у контрольных мышей.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента с помощью программы STUDENT 200 Microsoft Excel.

2.1.3. Оценка нематодоцидной и цестодоцидной активности СМКФ с различными компонентами на лабораторных моделях *in vivo*

Антигельминтную активность СМКФ, полученного по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки, изучали на лабораторной модели трихинеллеза и гименолепидоза. Для этого твердые дисперсии фенбендазола (ТДФ) получали по механохимической технологии с использованием различных компонентов, в том числе ПВП, АГ, $\text{Na}_2\text{ГК}$, НДОСС, ЭС и ГЭК по технологии, описанной ранее для каждого компонента. Обработку смеси проводили в течение 4 ч.

Оценку нематодоцидной активности каждого из заявленных препаратов проводили на 80 белых мышах, экспериментально

инвазированных *Trichinella spiralis*. Изолят *T. spiralis* получали посредством серийного пассажа личинок I стадии на самках крыс. Инвазионных личинок получали перевариванием мышечной ткани крыс. Материал помещали на 12 ч в жидкость для переваривания (1 л физиологического раствора, 20 мл концентрированной соляной кислоты и 20 г пепсина) при температуре 37 °С в условиях постоянного смешивания в механическом встряхивателе RK-1D 834 («DAIHAN Scientific», Южная Корея). После этого суспензию центрифугировали 2 мин при 1000 об/мин (5810R, «Eppendorf AG», Германия). Осадок отмывали физраствором (0,9% NaCl) с центрифугированием, а затем ресуспендировали в 1,5% желатине на физрастворе для получения стабильной суспензии. Для подсчета необходимого числа личинок для заражения использовали гемоцитометр («МиниМед», Россия). До заражения мышей в возрасте 1,5-2 месяцев содержали в течение 12 ч на голодной диете, затем в желудок вводили по 200 личинок с помощью шприца с зондом. На третьи сутки после заражения мышам шести подопытных групп (по 10 голов в каждой) вводили перорально однократно ТДФ, полученные с различными компонентами, т. е. с ПВП, АГ, Na₂ГК, НДОСС, ЭС или ГЭК. Мыши этих групп получали антигельминтные средства 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°С, после чего осадок исследовали под бинокулярной лупой и подсчитывали число обнаруженных *T. spiralis*. Активность препаратов оценивали в сравнении с контрольными животными, рассчитывая среднее число выявленных нематод и интенсивность (ИЭ) [15, 17].

Испытание цестодоцидного действия вариантов СМКФ с различными компонентами проводили на 48 белых мышах (на каждый препарат),

экспериментально инвазированных *Hymenolepis nana*. Мышей заражали перорально с помощью шприца с канюлей в дозе 200 яиц на животное. Для этого, собранных от предшествующего заражения цестод *H. nana*, растирали пестиком в ступке или разрушали в небольшом объеме водопроводной воды посредством неоднократного насасывания в шприц с насаженной на него иглой-канюлей для перорального заражения. 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 1% крахмальном геле перорально в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. Животные седьмой группы получали базовый препарат – фенбендазол (субстанцию, на основе которой приготовлен супрамолекулярный фенбендазол) в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы получали 1% крахмальный гель в соответствующем объеме. 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 [15, 17].

2.1.4. Оценка антигельминтной активности СМКФ с различными компонентами на сельскохозяйственных животных

Антигельминтную активность СМКФ с арабиногалактаном изучали в овцеводческих хозяйствах Московской и Самарской областей, неблагополучных по гельминтозам. Опыты проводили в 2014-2015 гг. в период максимальной инвазированности животных. В период исследований овец содержали в станках (без выпаса) и кормили согласно нормам кормления животных [56], обеспечивали водой вволю.

В опытах использовали 290 голов молодняка овец разных пород массой тела 15-35 кг, в том числе спонтанно инвазированных диктиокаулами 50 гол., нематодирусами 48 голов, другими видами желудочно-кишечных стронгилят 52 голов, стронгилоидами 42 головы, трихоцефалами 44 головы, мониезиями

54 головы. 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 [63, 234]. Учет активности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных личинок и/или яиц гельминтов [303].

Антигельминтную эффективность СМКФ с ПВП изучали в ООО «Агроресурс» Пестравского района Самарской области в августе-сентябре 2016 г. в период максимальной инвазированности овец гельминтами. В опыт подобрали 180 голов молодняка овец породы ставропольский меринос массой тела 19-37 кг, в том числе спонтанно инвазированных нематодирусами 60 голов, другими видами желудочно-кишечных стронгилят 60 голов и мониезиями 60 голов. При каждом гельминтозе овец разделяли на 6 равноценных групп по 10 голов в каждой. Испытание СМКФ с ПВП проводили аналогично, как и с АГ. Овцам первой, второй и третьей групп вводили супрамолекулярный фенбендазол с ПВП в форме 10%-ного порошка, который с водой в виде суспензии задавали однократно перорально в дозах соответственно 1,0; 2,0 и 3,0 мг/кг по ДВ. Животные четвертой группы получали базовый препарат фенбендазол (субстанцию) в дозе 2,0 мг/кг. Животные пятой группы получали механическую смесь фенбендазола и ПВП без механохимической обработки в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Овцы контрольной группы препарат не получали. Эффективность препаратов с ПВП учитывали аналогично, как и СМКФ с АГ [63, 234, 303].

Антигельминтную активность СМКФ с ПВП и НДОСС изучали в овцеводческих хозяйствах Московской и Самарской областей, неблагополучных по гельминтозам. Опыты проводили в 2016–2017 гг. в период максимальной инвазированности животных. В опытах использовали 158 голов молодняка овец разных пород массой тела 18-40 кг, в том числе спонтанно инвазированных нематодирусами 48 голов, другими видами желудочно-кишечных стронгилят 56 голов и мониезиями 54 головы. При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 6 равноценных групп по 7–9 овец в каждой. Животным первой, второй и третьей групп вводили СМКФ в форме 10%-ного порошка однократно перорально в дозах соответственно 1,0; 2,0 и 3,0 мг/ кг по ДВ. Овцы четвертой группы получали базовый препарат – фенбендазол (субстанцию, на основе которой приготовлен СМКФ) в дозе 2,0 мг/кг. Овцам пятой группы задавали механическую смесь фенбендазола, ПВП и НДОСС без механохимии в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность СМКФ учитывали по результатам овоскопических исследований фекалий методом флотации до и через 15–18 суток после дегельминтизации [234]. Учет активности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных яиц гельминтов [303].

Антигельминтную активность СМКФ с Na₂ГК изучали на овцах в производственных условиях в ООО «Агроресурс» Пестравского района Самарской области, где была зарегистрирована высокая степень заражения гельминтами.

Опыты проводили летом 2016-2017 гг. в период максимальной зараженности на овцах породы ставропольский меринос массой тела 17-34 кг, включая 60 естественно зараженных овец *Nematodirus* spp., 52 – другими желудочно-кишечными нематодами подотряда *Strongylata*, 39 – цестодами *Moniezia expansa*.

Пробы фекалий овец исследовали методом McMaster до и в конце опыта с учетом числа яиц в 1 г фекалий. Эффективность препарата рассчитывали в опыте типа «контрольный тест» [234, 303].

Антигельминтную эффективность СМКФ с экстрактом солодки изучали в овцеводческом хозяйстве ООО «Измайлов» Красноармейского района Самарской области в августе-сентябре 2019 г. в период максимальной инвазированности животных желудочно-кишечными стронгилиями. В опытах использовали 127 голов молодняка овец адельбаевской породы массой тела 20-37 кг, в том числе спонтанно зараженных нематодирусами (66 голов) и другими видами желудочно-кишечных стронгилят (61 голова). При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 6 равноценных групп по 8–11 овец в каждой. Овцам первой и второй групп задавали СМКФ в форме соответственно 10 и 17%-ного порошка однократно перорально в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Овцы третьей и четвертой групп получали СМКФ с ЭС в форме соответственно 2,4 и 4,5%-ной суспензии. Животные пятой группы получали механическую смесь ФБЗ и ЭС без механохимической технологии в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Овцам шестой группы задавали базовый препарат – субстанцию фенбендазола, на основе которой приготовлен препарат с ЭС, также в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность СМКФ учитывали по результатам копроовоскопических исследований методом флотации до и через 15–16 суток после введения препаратов. Эффективность СМКФ учитывали по результатам копроовоскопических исследований методом флотации до и через 15-16 суток после введения препаратов. Учет эффективности препаратов осуществляли по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных яиц нематод [234, 303].

Антигельминтную эффективность СМКФ с экстрактом солодки и диоктилсульфосукцинатом натрия оценивали на овцеводческой ферме в Самарской области (ООО «Измайлов») в период максимальной зараженности овец гельминтами в 2019 г. Всего в опыте использовано 284 головы

молодняка овец различных пород массой тела 16-37 кг, в том числе 60 овец, спонтанно зараженных *Nematodirus* spp. и 55 - другими видами желудочно-кишечных стронгилят.

Распределение овец на группы с равным числом яиц в 1 г фекалий проводили на основании количественного учета яиц гельминтов по методу McMaster [234]. По результатам исследований проб фекалий овец разделили на 6 равных групп по 7-10 голов в каждой. Животные 1, 2 и 3-й групп получали супрамолекулярный фенбендазол в форме 10%-ного порошка с водой однократно в дозах 1,0; 2,0 и 3,0 мг/кг по ДВ соответственно. Животным 4 и 5-й групп назначали субстанцию фенбендазола в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг соответственно. Овцы контрольной группы препарат не получали. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец определяли по результатам исследования проб фекалий методом McMaster до и через 15-18 суток после лечения. Нематод идентифицировали на основании их морфологии. Эффективность препаратов рассчитывали по снижению среднего числа яиц нематод до и после лечения [234, 303].

Сравнительную активность супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки, изучали в овцеводческих хозяйствах Самарской области, неблагополучных по гельминтозам. Опыт проводили в 2018 г. в период максимальной инвазированности животных. В опыте использовали молодняк овец разных пород массой тела 17-36 кг, в том числе спонтанно инвазированных нематодирусами 73, и другими видами желудочно-кишечных стронгилят 72 головы. 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 по результатам овоскопических исследований фекалий методом флотации до и через 15-18 суток после дегельминтизации. Учет активности препаратов проводили аналогично вышеуказанной методике.

Эффективность СМКФ против половозрелых и личинок стронгилят сычуга овец определяли в Подольском отделе ВНИИП в Подольском районе Московской области на 10 выбракованных 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 [107]. Определение гельминтов до вида проводили в лаборатории. Личинок нематод идентифицировали до рода по критериям, описанным В.Н. Трач (1982) [110]. Расчет эффективности препарата проводили отдельно против личинок и взрослых нематод.

Действие СМКФ на яйца мониезий исследовали по методу Ф. А. Волкова (1993) на основании изучения морфологии и структуры яиц [30], а также по методу А.Х. Цолоева (2002) путем добавления на каплю с яйцами мониезий одной капли 5%-ного раствора йода [120]. При этом нежизнеспособные экземпляры окрашиваются в оранжевый или темно-коричневый цвет, а жизнеспособные яйца цвет не меняют.

Эффективность СМКФ при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота оценивали в Самарской области, где 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 первой, второй и третьей групп вводили супрамолекулярный фенбендазол перорально однократно 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 – назначали дозу 4,0 мг/кг. Животных третьей группы считали контролем и им препарат не применяли.

Эффективность препаратов определяли по результатам копрооволарвоскопических исследований фекалий до и через 18 суток после дегельминтизации животных методом флотации и Бермана с расчетом среднего числа обнаруженных яиц и/или личинок нематод [63, 234].

Все полученные данные обработали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

2.1.5. Оценка переносимости СМКФ на сельскохозяйственных животных

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, животных разделили по принципу аналогов на 4 группы по 5 голов в каждой.

Животным 1, 2 и 3-й групп вводили однократно перорально СМКФ с ПВП в дозах 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. В течение опыта все животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Исследования проводили за сутки до и через 1, 3 и 5 суток после введения препарата.

Изучение клинического состояния животных проводили по общепринятым физиологическим показателям, таким как температура тела,

пульс, частота дыхательных движений в минуту и число сокращений рубца за 2 мин [62]. Кровь для исследования отбирали из яремной вены утром до кормления животных. Биохимические исследования крови овец после введения СМКФ в разных дозах проводили на автоматическом анализаторе по следующим основным показателям: общий белок, альбумины, общий билирубин, мочевины, креатинин, глюкоза, щелочная фосфатаза, амилаза и др. Гематологические показатели крыс определяли в ветеринарной лаборатории на автоматическом анализаторе «Hema Screen Vet», биохимические показатели крови крыс исследовали на автоматическом анализаторе «BioSystems». Отбор крови у 20 овец проводили одновременно на гематологические и биохимические показатели до (0 сутки) и через 3 и 5 суток после введения препарата в терапевтической, в 3 и 5 раз увеличенных дозах (2, 6 и 10 мг/кг по ДВ).

Полученные результаты обработали статистически с использованием программы Microsoft Excel 2007.

Влияние повышенных доз СМКФ на организм крупного рогатого скота изучали в ОАО «Тепелево» Дальнеконстантиновского района Нижегородской области на 20 телках черно-пестрой породы в возрасте 13–16 месяцев. Животных разделили по принципу аналогов на 4 группы по 5 голов в каждой.

Животным 1, 2 и 3-й групп вводили однократно перорально СМКФ в дозе соответственно 3; 9 и 15 мг/кг по ДВ, т. е. в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах. Животные четвертой группы препарат не получали и служили контролем. В течение опыта все животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Исследования проводили за сутки до и через 1, 3 и 5 сутки после введения препарата.

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.

Влияние СМКФ на гематологические и биохимические показатели крови изучали по этой же схеме с использованием общепринятых методов [62] аналогично, как и на овцах.

2.1.6. Биотрансформация, фармакокинетика и остаточные количества СМКФ у овец

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 идентификации индивидуально ушными бирками животных разделили на две равноценные группы по 6 голов в каждой для изучения параметров фармакокинетики. Животным первой группы вводили 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 отбирали 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. Все пробы хранили в холодильнике при температуре – 20°C до определения концентрации фенбендазола и его метаболитов.

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 $t -18-20^{\circ}\text{C}$.

Для обеспечения пищевой безопасности человека Европейской комиссией были разработаны максимально допустимые уровни лекарственных препаратов и Codex Alimentarius, в том числе для нескольких антипаразитарных препаратов, с учетом ежедневных приемов [154]. Для обеспечения соответствия с этими лимитами и мониторинга нелегального применения запрещенных препаратов были разработаны чувствительные и специфические аналитические методы. Так, определение содержания фенбендазола и его метаболитов сульфона и сульфоксида проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-MS/MS) в экстрактах образцов биоматриц овец совместно с П.П. Кочетковым и д.в.н. В.Е. Абрамовым на основании методик, описанных ранее [64, 129, 149, 160, 165, 179, 187, 188, 207, 216, 237, 279, 284, 285, 300, 304, 314]. В наших исследованиях 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 элюента – 0,3 мл/мин; колонка – Kromasil Eternity XT 2,5-C18, $2,1 \times 100$ мм (диаметр частиц сорбента – 2,5 мкм), предколонка – Kromasil Eternity $2,1 \times 10$ мм; объем вводимой пробы – 5 мкл; температура колонки: 30°C .

Раствор 5 мМ формиата аммония в воде готовили следующим образом: В мерную колбу объемом 100 мл помещали навеску формиата аммония массой 0,0315 г, добавляли деионизированную воду ($2/3$ объема), тщательно

перемешивали до полного растворения вещества, затем доводили до метки деионизированной водой. Для приготовления 5 мМ раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле в мерную колбу объемом 100 мл помещали 18,8 мкл муравьиной кислоты, добавляли ацетонитрил (до 2/3 объема), тщательно перемешивали, доводили до метки ацетонитрилом.

Включение и настройку хроматографа производили согласно прилагаемым инструкциям. Хроматографическую колонку Kromasil EternityXT-2.5-C18 предварительно промывали элюентом в течение 40 минут подачей элюента со скоростью 0,3 мл/мин.

Детектирование аналитов и внутреннего стандарта осуществлялось в режиме записи сигналов выбранных ионных реакций (MRM) при работе электросперей в отрицательном режиме (ESI-), температуре ионизации 350 °С, потоке газа – 10 л/мин, давлении небулайзера 40 psi и напряжении +/- 5000 В.

Для приготовления основных стандартных растворов аналитов взвешивали по 0,01 г фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и сульфона и растворяли их в 10 мл ацетонитрила с получением раствора с концентрацией 1 мг/мл.

Промежуточные стандарты аналита готовили из основных методом смешения и разбавления до достижения концентрации 100 мкг/мл в ацетонитриле. Концентрации промежуточных стандартных образцов составляли 0,5; 2,5; 10; 25; 50 и 100 мкг/мл для каждого из аналитов.

Калибровочные образцы фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, фенбендазол сульфона в органах и тканях готовили добавлением к 1 г (990 мкл для сыворотки крови) гомогенизированного биоматериала, помещенного в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл, 10 мкл соответствующего промежуточного раствора аналита (0,5; 2,5; 10; 25, 50 и 100 мкг/мл) до достижения концентраций 5, 25, 100, 250, 500 и 1000 нг/г. После этого стандартные образцы вортексировали в течение 10 с и оставляли в покое в

течение 30 мин перед использованием при комнатной температуре. Стандартные образцы использовали свежеприготовленными.

Пробоподготовка. Отбирали навеску 1,0 г (1,0 мл для сыворотки крови) гомогенизированного биоматериала в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл. Затем добавляли 7 мл этилацетата, содержащего 1% (об/об) аммиака водного, вортексировали и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 10 мин при 550 об/мин, центрифугировали 5 мин при 9000 об/мин. Экстракты отбирали в чистые полипропиленовые пробирки объемом 15 мл, добавляли 3 мл гексана (кроме образцов сыворотки крови), вортексировали и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 10 мин при 550 об/мин. Затем образцы центрифугировали 5 мин при 9000 об/мин, отбрасывали гексановую фракцию, этилацетатную фракцию переливали в чистые полипропиленовые пробирки. Упаривали при 50 °С в токе азота. Сухой остаток растворяли в 1 мл подвижной фазы, проводя обработку образцов в УЗ-ванне при комнатной температуре в течение 5 мин центрифугировали при 12000 об/мин, фильтровали через шприцевые фильтры и переносили в вials объемом 1 мл для последующего хроматографирования.

Валидацию методики количественного определения фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона выполняли в соответствии с руководствами [176, 194, 195] по показателям: линейность, степень извлечения, специфичность, прецизионность, правильность (точность), пределы количественного и качественного определения [150, 180, 200, 244, 271, 272].

Для количественного определения фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона методом MRM было проведено исследование распада ионов под действием бомбардирующего потока молекул азота с последующим разрешением продуктов распада (методика MS/MS).

При получении калибровочных графиков для фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона использовали

линейную интерполяцию со свободным коэффициентом, с весами $1/x^2$ ($y = kx+b$) зависимости $\frac{S_S}{S_{IS}}$ от концентрации аналитов (метод внутреннего стандарта).

Для построения калибровочных зависимостей отношений величин MRM-сигналов аналитов от концентраций в биоматрицах был выбран диапазон от 5 до 1000 нг/г (нг/мл для сыворотки крови). Экстракты калибровочных стандартных образцов инжесктировались в хромато-масс-спектрометрическую систему поочерёдно (от меньшей к большей концентрации) по 3 инъекции на уровень.

Коэффициенты интерполяции найденных линейных зависимостей использовали в дальнейшем при определении содержания аналитов в опытных образцах органов и тканях овец, а также контрольных образцах биоматриц.

Для вычисления концентраций аналитов в исследуемых образцах биоматриц, применяли уравнение (2), полученное для линии тренда калибровочных графиков по экстрактам модельных образцов биоматриц:

$$C_{Std} = \frac{\frac{S_{Std}}{S_{IS}} - b}{k}, \quad (2)$$

где C_{Std} – искомая концентрация фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, фенбендазола сульфона в органах тканях и сыворотке крови, нг/г (нг/мл);

S_{IS} – площадь пика фенбендазола (внутреннего стандарта);

S_{Std} – площадь пика фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, фенбендазола сульфона в экстракте пробы;

k и b – коэффициент калибровочной зависимости.

Для оценки потерь аналитов в процессе пробоподготовки и оценки влияния матрицы экстракта на отклики, были изучены степени извлечения аналитов на низком (5 нг/г), среднем (250 нг/г) и высоком (1000 нг/г) уровнях концентраций.

Для наиболее точного учёта процессов массопереноса и влияния компонентов матрицы на отклик детектора, зависимость отклика изучали на основе стандартных образцов растворов, приготовленных из экстрактов холостых проб органов и тканей.

Для приготовления данных растворов проводили процедуру пробоподготовки органов тканей и сыворотки крови по вышеописанной методике (без добавления аналита и внутреннего стандарта), затем перед растворением сухого остатка после упаривания растворителя добавляли к сухому остатку матрицы 2,5 мкл раствора внутреннего стандарта (50 мкг/мл) и 10 мкл соответствующего рабочего раствора смеси аналитов (0,5; 25, и 100 мкг/мл). Органическую фракцию упаривали досуха в токе азота при температуре 50 °С. Сухой остаток растворяли в 1000 мкл подвижной фазы, проводя обработку образцов в УЗ-ванне при комнатной температуре в течение 5 мин, и переносили в вials. Растворы использовали свежеприготовленными.

Степень извлечения (Е, %) рассчитывали по формуле (3):

$$E = \frac{S_{Std}^{extr} / S_{IS}^{extr}}{S_{Std}^{poe} / S_{IS}^{poe}} \times 100\% \quad (3)$$

где S_{Std}^{extr} – площадь пика фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, фенбендазола сульфона в экстракте калибровочного образца биоматрицы;

S_{IS}^{extr} – площадь пика внутреннего стандарта в экстракте калибровочного образца биоматрицы;

S_{Std}^{poe} – площадь пика фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, фенбендазола сульфона в холостом экстракте биоматрицы с добавлением СО аналитов и внутреннего стандарта после процедуры пробоподготовки (среднее значение площади пика соответствующей концентрации);

S_{IS}^{poe} – площадь пика внутреннего стандарта в холостом экстракте биоматрицы с добавлением СО аналитов и внутреннего стандарта после

процедуры пробоподготовки (среднее значение площади пика соответствующей концентрации).

Специфичность методики подтверждали на основании хроматограмм экстрактов холостых проб тканей и сыворотки крови овец (без добавления аналита), полученных по методике пробоподготовки, описанной ранее.

Для определения качественных пределов детектирования (LOD) и пределов количественного определения (LOQ) фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях и сыворотке крови использовали пробы чистых биоматриц.

На полученных хроматограммах «холостых» проб выделяли пики, соответствующие временам удерживания фенбендазола и его метаболитов в тех же условиях. Определение LOD и LOQ осуществляли по формулам (4, 5):

$$LOD = 3 \times SD / k \times pr \qquad LOQ = 10 \times SD / k, \qquad (4, 5)$$

где SD - стандартное отклонение площадей пиков шума базовой линии, соответствующих временам удерживания фенбендазола и его метаболитов; k - коэффициент угла наклона калибровочной кривой.

Метрологические характеристики методики оценивали в соответствии с [106, 124, 144, 150, 176, 180, 194, 195, 200, 272] по содержанию аналитов в контрольных образцах биоматриц овец. Для эксперимента были использованы несколько стандартных образцов биоматриц (контрольных стандартных образцов, QC) аналита на низком (5 нг/г, LQC), среднем (250 нг/г, MQC) и высоком (1000 нг/г, HQC) уровнях концентраций. На протяжении исследования (в разные дни) были проведены измерения концентраций аналитов в 3 сериях контрольных образцов (по 3 инъекции каждого QC).

Данную методику использовали для идентификации фенбендазола и его метаболитов в модельных пробах и образцах биологических матриц овец для установления параметров фармакокинетики и определения остаточных количеств фенбендазола в органах и тканях овец после применения СМКФ.

Результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы SAS/Stat № 9,4 SAS System for Windows. Обсчеты полученных фармакокинетических кривых проводили с использованием однокамерной модели на ПО Microsoft Excel PKSolver 2.0 [309].

2.1.7. Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения СМКФ

Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения СМКФ с различными полимерами для адресной доставки оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием. Для опыта использовали 7 групп белых мышей по 10 голов 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 2-е сутки после введения препаратов животных подвергали эвтаназии, и тонкий кишечник изолировали и использовали для определения фенбендазола и его метаболитов. Предварительно образцы хранили в холодильнике при температуре -20°C.

Для определения фенбендазола и его метаболитов: сульфоксида и сульфона в тонком кишечнике мышей применяли методику, описанную ранее. В работе использовали жидкостной хроматограф высокого давления Agilent 1290 с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (QQQ), управляемый с помощью программы «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition Triple Quadrupole Version B.06.00». Хроматографическое разделение проводили на колонке Kromasil Eternity XT 2,5-C18 (Швеция) размером 2,1x100 мм и предколонке Kromasil Eternity C18 размером 2,1x10 мм. Детектирование аналитов и внутреннего стандарта осуществляли в режиме записи сигналов выбранных ионных реакций (MRM)

для отрицательно заряженных ионов при температуре ионизации 350°C, потоке газа 10 л/мин. и давлении небулайзера 40 psi.

Для статистической обработки данных использовали компьютерную программу SAS/Stat № 9,4 SAS System for Windows.

2.1.8. Комиссионные и производственные испытания СМКФ при различных нематодозах овец и крупного рогатого скота

Комиссионные испытания СМКФ при нематодозах овец проводили в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области на 60 овцах, спонтанно инвазированных нематодирусами и другими видами желудочно-кишечных стронгилят. В состав комиссии входили: А.И. Варламова, И.А. Архипов, К.М. Садов и ветеринарные специалисты района и хозяйства. Спонтанно инвазированных овец подбирали в опыт по результатам предварительных копроовоскопических исследований методом флотации. 60 овец в возрасте 6-8 мес. массой тела от 27,3 до 37,3 кг разделили на 3 равноценные группы по 20 голов в каждой. Животным первой опытной группы вводили однократно перорально СМКФ в ранее установленной терапевтической дозе 2,0 мг/кг по ДВ из расчета 20 мг/кг по препарату. Эта лекарственная форма представляет собой супрамолекулярный комплекс фенбендазола с полимером ПВП с последующей механической активацией. Животные второй группы получали базовый препарат – фенбендазол (субстанция, на основе которой приготовили этот комплекс) в дозе 5,0 мг/кг. 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 [303].

Комиссионное испытание СМКФ при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота проводили в сентябре-октябре 2021 г. на 60 телках черно-пестрой породы в возрасте 14-17 мес. Инвазированных животных разделили по принципу аналогов на 3 группы по 20 голов в каждой. СМКФ в ранее установленной терапевтической дозе 3,0 мг/кг по ДВ задавали 20 телкам первой группы индивидуально перорально. Субстанцию фенбендазола использовали в качестве базового препарата в дозе 7,5 мг/кг на 20 телках второй группы. Животные контрольной группы препарат не получали.

Антигельминтное действие препаратов оценивали по результатам копроовоскопических исследований до и через 15 суток после дегельминтизации животных, а эффективность рассчитывали по типу «контрольный тест» [303]. Полученные результаты обработали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

Производственное испытание препарата при стронгилятозах пищеварительного тракта овец проводили в этом же хозяйстве на 484 валухах. 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. На основании результатов копроовоскопических исследований проб фекалий до и через 15 суток после дегельминтизации дана оценка эффективности препарата в опыте типа «критический тест» [303].

Производственное испытание препарата при стронгилятозах пищеварительного тракта телок проводили на 124 телках в возрасте 14-17 мес. СМКФ назначали животным однократно в дозе 3,0 мг/кг по ДВ в смеси с 0,5 кг овсяной дерти (на голову) путем групповой дачи. На основании результатов копроовоскопических исследований до и через 15 суток после дегельминтизации дана оценка эффективности СМКФ методом «критического теста» [303]. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

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 твердой дисперсии из фенбендазола и полимеров (АГ и ПВП) методом ВЭЖХ анализа показало, что данный показатель зависит как от природы полимеров, так и условий механообработки. Так, в случае твердых дисперсий, приготовленных из фенбендазола и АГ и фенбендазола с ПВП получили следующие результаты:

- при увеличении времени механообработки до 5 ч имело место заметное повышение растворимости в случае обоих полимеров;
- с увеличением времени обработки более 5 ч показатели растворимости снижались и различались для двух сравниваемых полимеров (таблица 1, 2).

Таблица 1 – Изменение растворимости в образцах фенбендазола, его физической смеси и твердой дисперсии с арабиногалактаном

Название образца, соотношение компонентов	Время механообработки, ч	Растворимость образцов	
		абсолютная, мг/л	увеличение, раз
ФБЗ – исх. субстанция	–	0,33	–
ФС* ФБЗ:АГ=1:10	–	2,7	8
ФБЗ:АГ=1:10	3	3,8	12
ФБЗ:АГ=1:10	5	7,0	21
ФБЗ:АГ=1:10	10	2,4	7
ФБЗ:АГ=1:10	17	1,2	4
ФБЗ:АГ=1:10	24	1,7	5

Примечание: * ФС – физическая смесь – тщательно перемешанные порошки компонентов, не подвергшиеся механохимической обработке; ФБЗ – фенбендазол

Из данных таблицы 1 следует, что с увеличением времени механообработки до 5 ч включительно происходит увеличение показателя растворимости – до 21 раза, более 5 ч отмечается существенное снижение этого показателя (в 3–7 раз по сравнению с максимальным значением при 5-и часовой обработке).

В пересчете на концентрации фенбендазола и вспомогательных компонентов в водных растворах были выбраны для дальнейших исследований композиции с массовым соотношением компонентов 1:10, поскольку увеличение доли фенбендазола ведет к понижению растворимости, а вспомогательного компонента — «перегружает» массу лекарственной формы, предназначенной для перорального приема [248].

Таблица 2 – Изменение растворимости в образцах фенбендазола, его физической смеси и СМКФ с ПВП

Название образца, соотношение компонентов	Время механообработки, ч	Растворимость образцов	
		абсолютная, мг/л	увеличение, раз
ФБЗ – исх. субстанция	–	0,33	–
ФС* ФБЗ:ПВП=1:10	–	1,7	5,2
ФБЗ:ПВП=1:10	2	4,6	14
ФБЗ:ПВП=1:10	4	7,9	24
ФБЗ:ПВП=1:10	8	4,2	13
ФБЗ:ПВП=1:10	16	4,6	14,8

Примечание: * ФС – физическая смесь – тщательно перемешанные порошки компонентов, не подвергшиеся механохимической обработке; ФБЗ – фенбендазол

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

Также нами в сравнительном аспекте изучена растворимость твердых дисперсий фенбендазола с другими компонентами: $\text{Na}_2\text{ГК}$, ЭС, ГЭК, НДОСС в различных соотношениях после механообработки в течение 4 ч, и результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Растворимость фенбендазола и его твердых дисперсий в воде после 4-часовой механообработки

Название образца, соотношение компонентов	Растворимость	
	абсолютная, мг/л	увеличение, раз
Фенбендазол (ФБЗ) исходный	0,33	—
ФБЗ: $\text{Na}_2\text{ГК}$ =1:5	12,1	36,70
ФБЗ: $\text{Na}_2\text{ГК}$ =1:10	17,4	52,70
ФБЗ: $\text{Na}_2\text{ГК}$ =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 – тщательно перемешанные порошки компонентов, не подвергшиеся механохимической обработке

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 – в 24,0 раза отмечена после механохимической обработки с ПВП и НДОСС в соотношении 10:88,85:0,15.

После механохимической обработки смеси в ИК-спектрах уменьшается соотношение интенсивностей полос фенбендазола относительно спектра АГ, что может свидетельствовать об образовании комплексов включения. Однако не наблюдается заметных отличий в спектрах после 5- и 17-часовой обработки и спектральные данные не объясняют сначала рост, а потом уменьшение растворимости при увеличении этого времени.

При механохимической обработке ФБЗ с ПВП в ИК-спектрах (рисунок 2) наблюдаются аналогичные закономерности относительно соотношения интенсивностей полос ФБЗ и ПВП: наблюдается уширение характеристичных полос поглощения за счет распределения микронизированных частиц фенбендазола в матрице полимера; не отмечено деструкции фенбендазола.

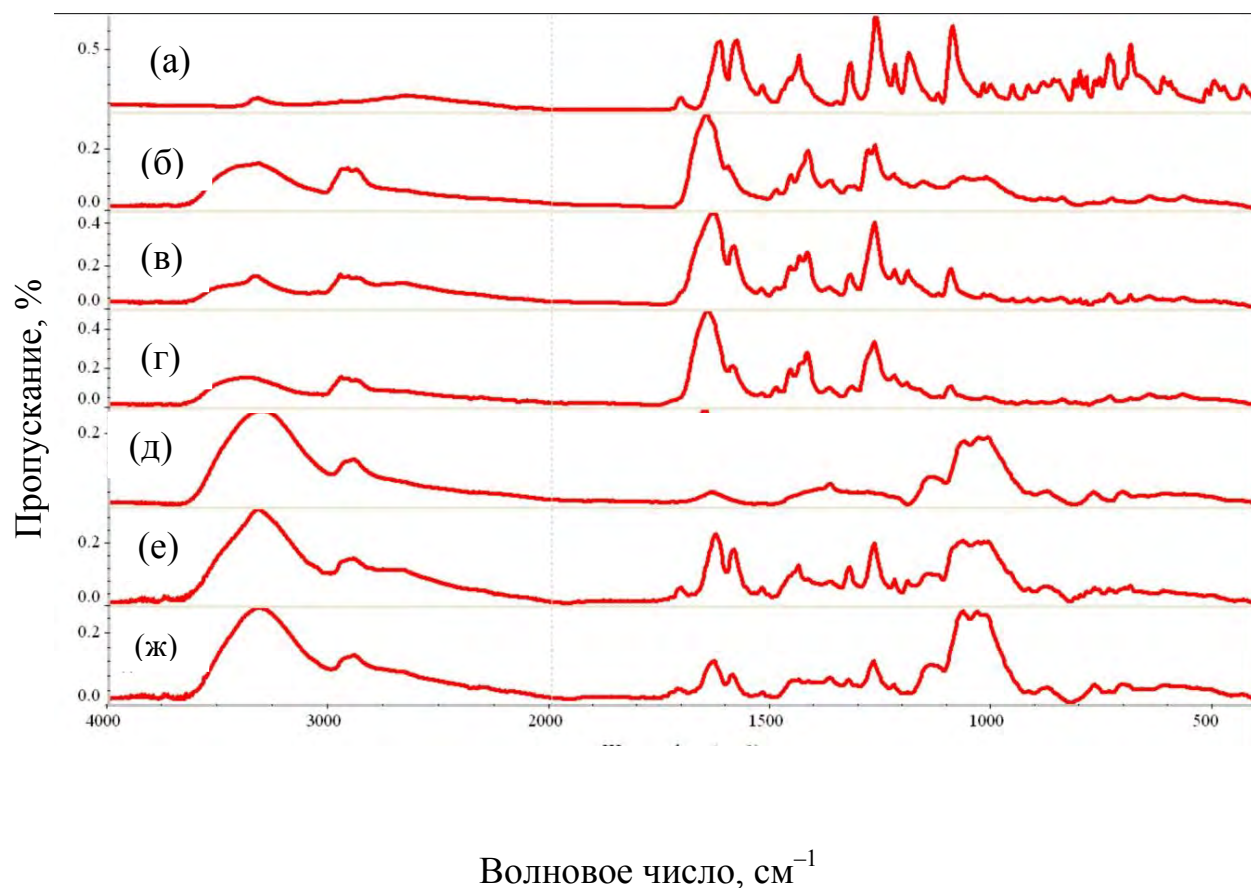


Рисунок 2 – ИК-спектры исходного фенбендазола (а); поливинилпирролидона (б); физической смеси ФБЗ:ПВП (в); ТДФ с ПВП (16 ч м/о) (г); арабиногалактана (д); физической смеси ФБЗ:АГ (е); ТДФ с АГ (24 ч м/о) (ж)

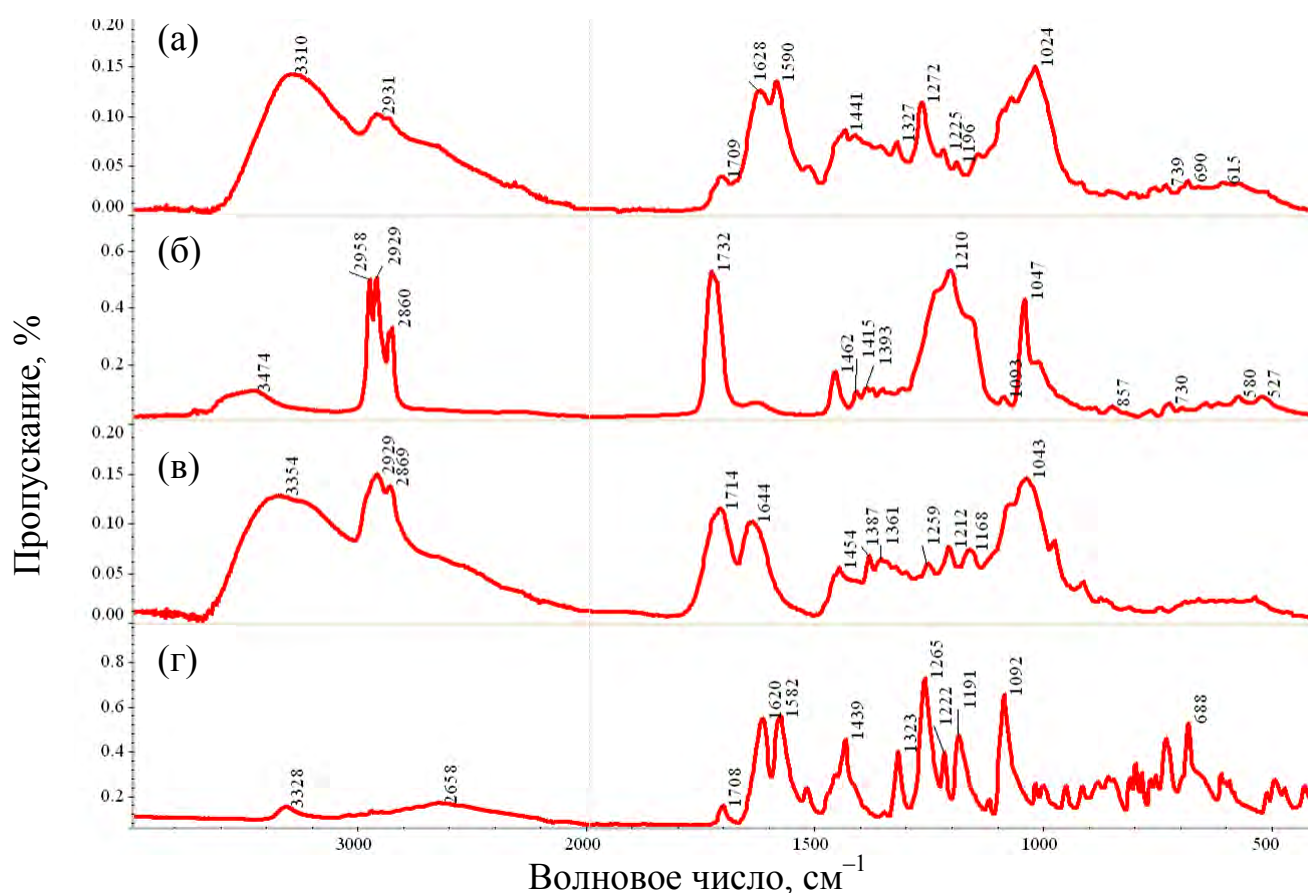


Рисунок 3 – ИК-спектры твердой дисперсии фенбендазола с экстрактом солодки и натрия диоктилсульфосукцинатом (а), ИК-спектры натрия диоктилсульфосукцината (б), экстракта солодки (в) и исходного фенбендазола (г)

На основании анализа ИК-спектров (рисунок 3) 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 $1\text{--}7\text{ см}^{-1}$. 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. Сравнение ИК-спектров СМКФ с ИК-спектром глицирризиновой кислоты (действующего вещества ЭС) показывает, что в основном регистрируют смещение основных

характеристичных полос ГК в область повышения частот $5\text{--}19\text{ см}^{-1}$, что говорит об участии групп ГК в образовании комплексов включения, что было отмечено ранее S.S. Khalikov et al. (2019) [219].

Совокупность приведенных данных, полученных нами при изучении ИК-спектров, дают основание предположить образование межмолекулярных комплексов.

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 4).

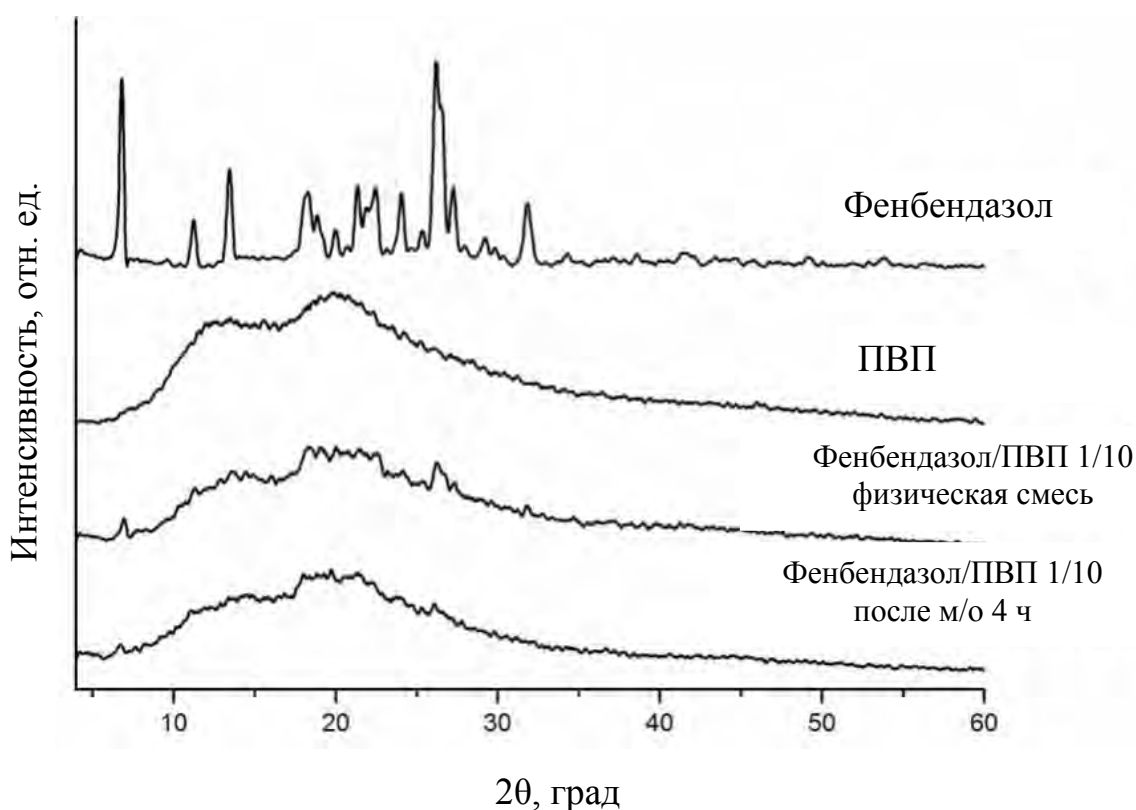


Рисунок 4 – Радиограмма радиометрического анализа ФБЗ и ПВП, их механической смеси и механохимической композиции

Сравнение дифрактограмм исходного ФБЗ и его измельченной композиции (2 ч механообработки LE-101 при модуле 1:25) указывает на то, что при такой механообработке кристалличность исходного ФБЗ не изменяется (рисунок 5), несмотря на снижение интенсивности рефлексов, что наглядно отображается на рисунок 5б, в данном случае можно говорить лишь

о микронизации образца ФБЗ. Однако добавление к кристаллическому ФБЗ аморфно-кристаллического образца полимера ЭС (кристалличность 20% из-за наличия в ЭС до 25% ГК) и проведение совместной механообработки позволило снизить кристалличность ФБЗ до 20% (рисунок 6). Стоит отметить, что степень аморфизации ФБЗ в ТД состава ФБЗ:ЭС (1:10) достигает оптимального значения (10%) уже при механообработке в течение 150 мин и дальнейшая обработка (вплоть до 420 мин) не позволяет существенно снизить кристалличность ФБЗ (рисунок 7).

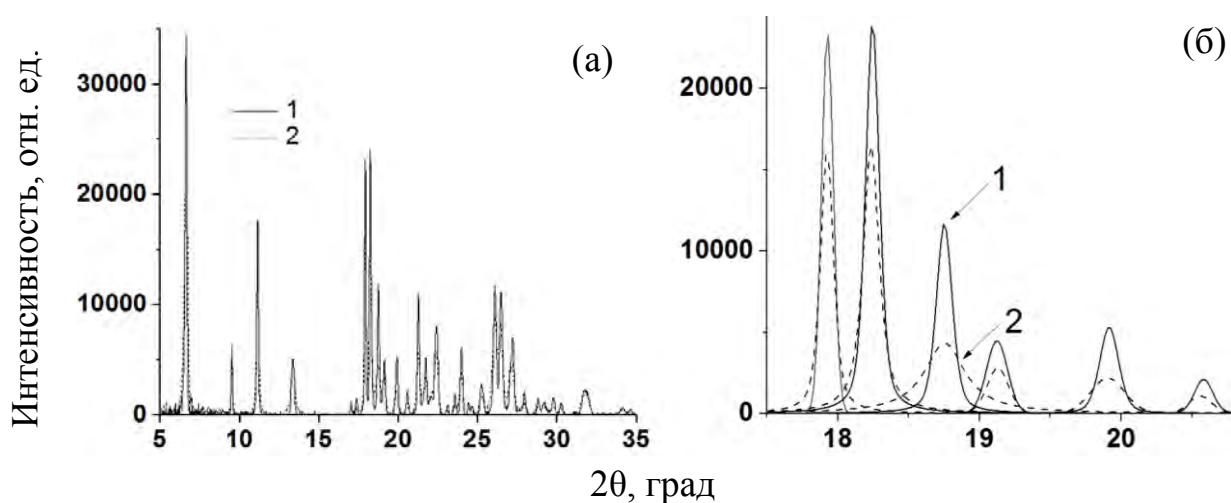


Рисунок 5 – Рефлексы отражения исходного (1) и измельченного (2) образцов фенбендазола. а – общий вид дифрактограммы; б – увеличенный размер фрагмента дифрактограммы

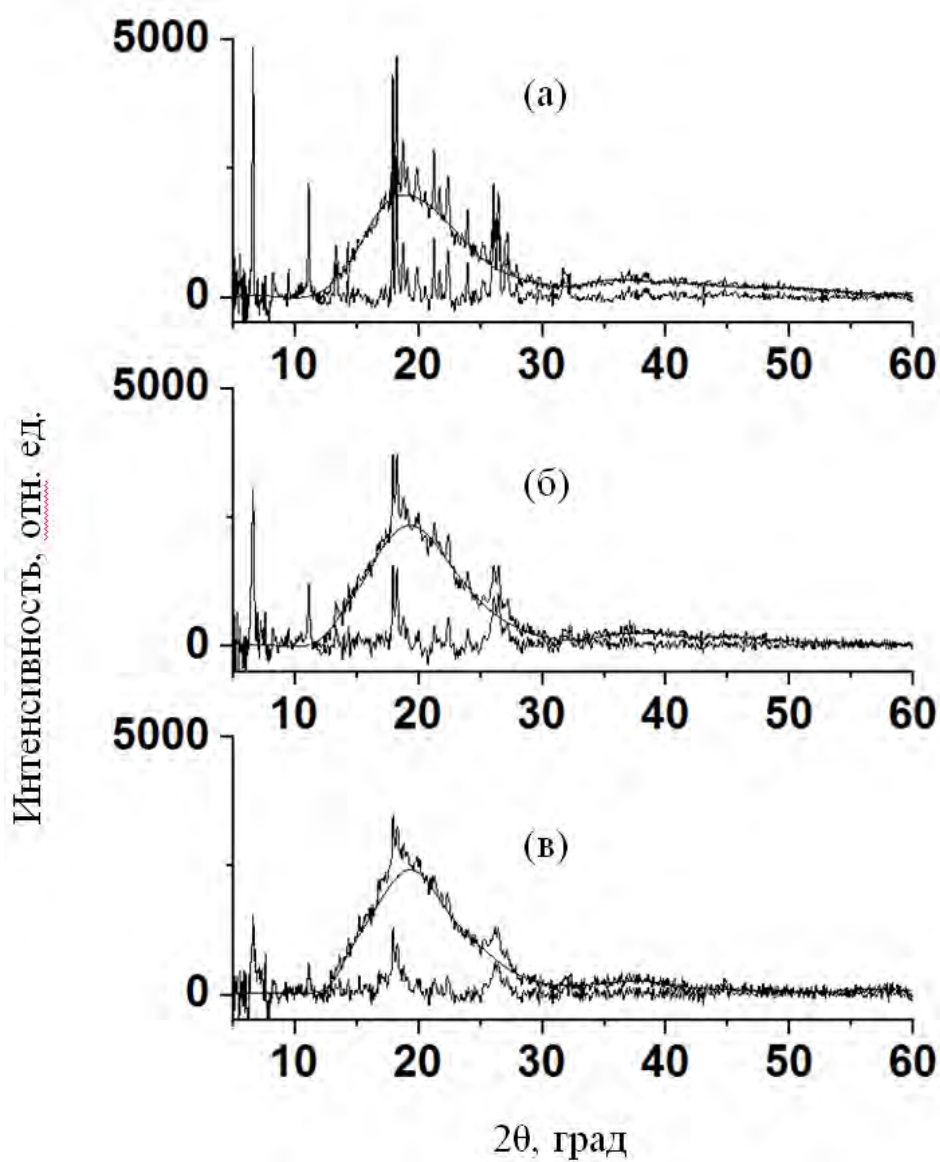


Рисунок 6 – Рефлексы отражения твердой дисперсии состава ФБЗ : ЭС (1:10) в виде физической смеси (а) и после механообработки: 120 мин (б) и 420 мин (в)

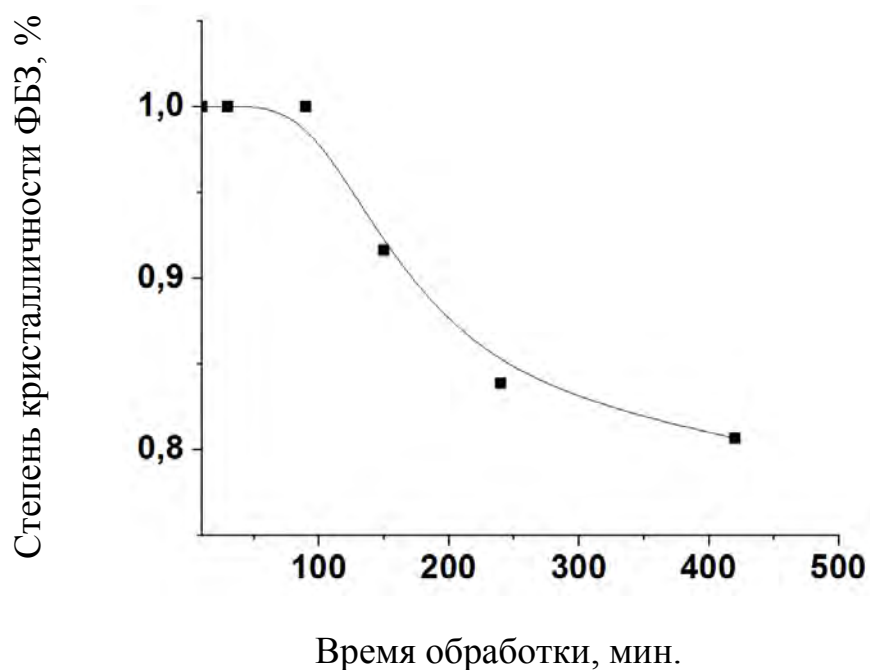


Рисунок 7 – Влияние времени механообработки на снижение степени кристалличности фенбендазола (ФБЗ) в твердой дисперсии после механообработки до 420 мин

Микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии, показала, что ПВП состоит из сферических частиц размером 10–100 мкм (рисунок 8).

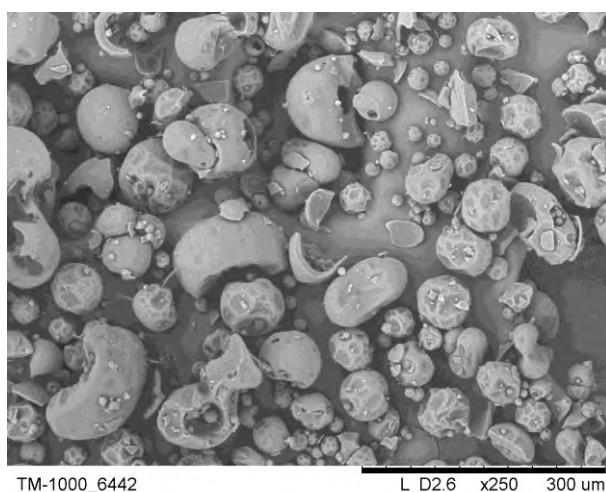


Рисунок 8 – Электронная микрограмма исходной субстанции ПВП

ФБЗ состоит из частиц размером 5–30 мкм (рисунок 9).

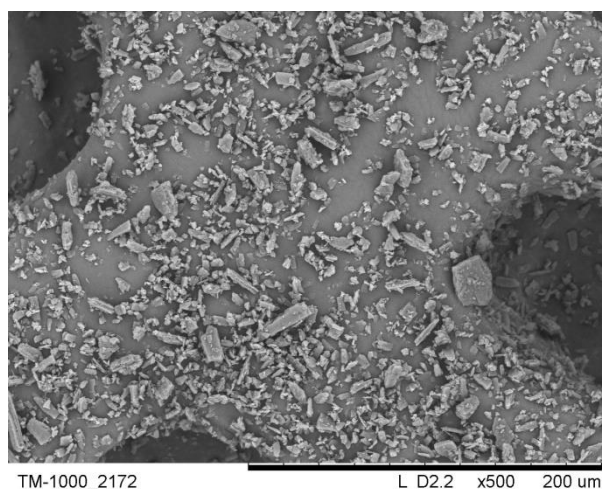


Рисунок 9 – Электронная микрограмма исходной субстанции ФБЗ

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

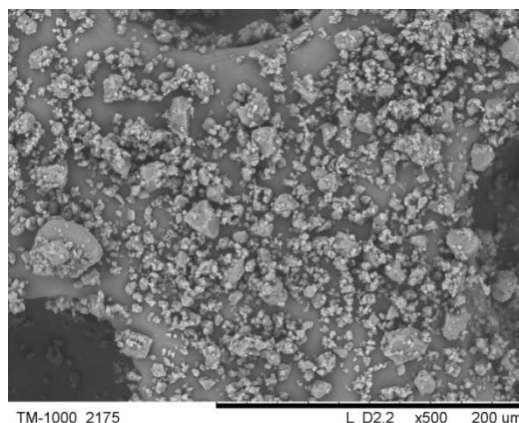


Рисунок 10 – Электронная микрограмма композиции ФБЗ и ПВП, полученной по механохимической технологии (1/10, 8 ч)

В результате гранулометрического 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 11, 12).

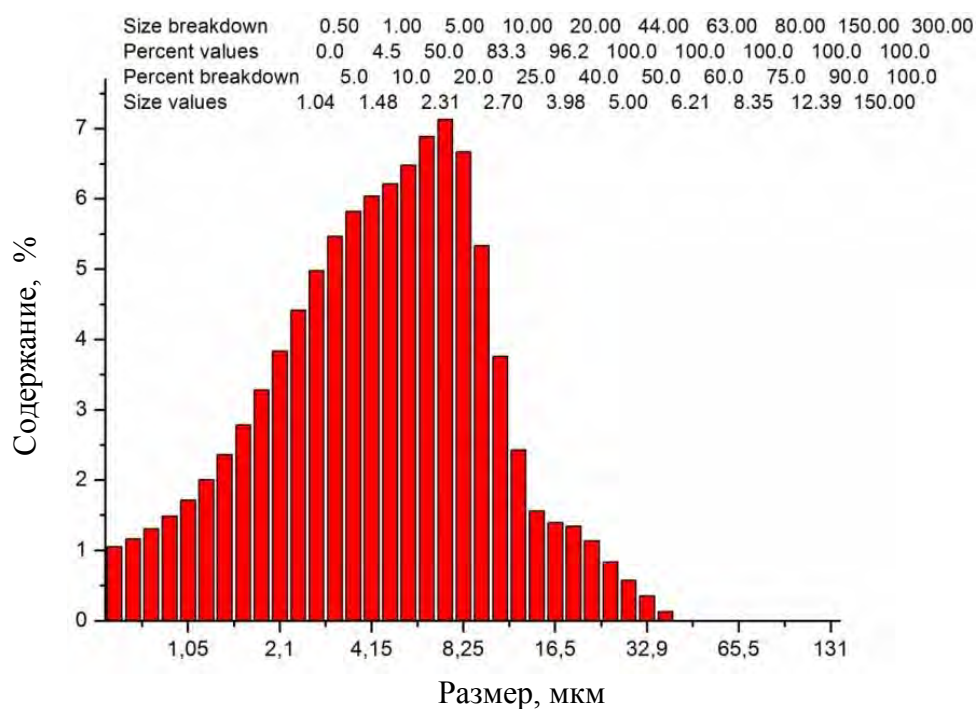


Рисунок 11 – Гранулометрический анализ ФБЗ

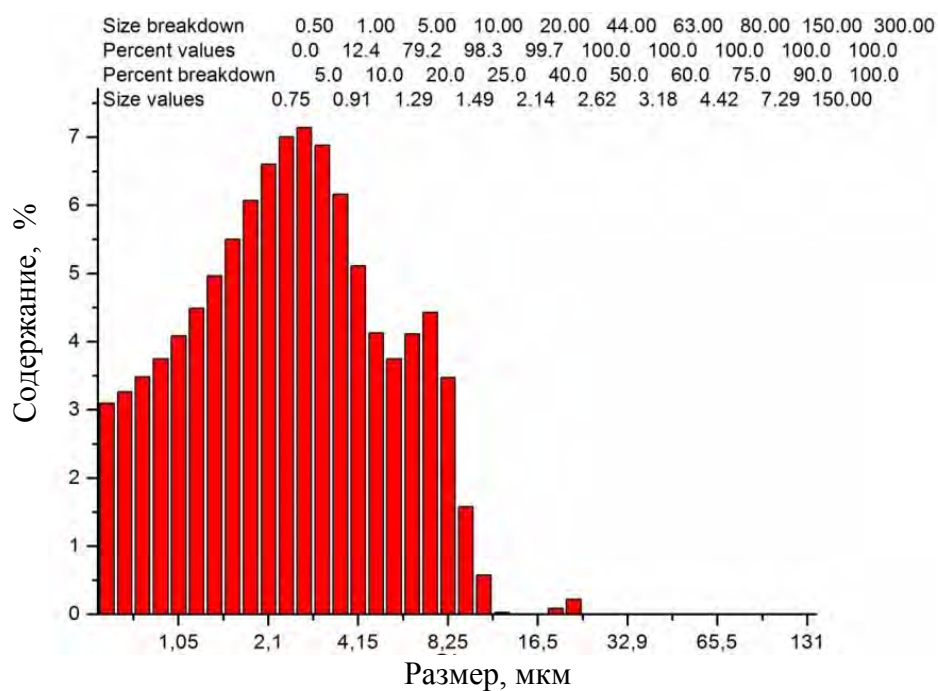


Рисунок 12 – Гранулометрический анализ ТДФ с ПВП, полученной с использованием механохимической технологии (1/10)

Термический анализ оказался неинформативным. На термограмме регистрировали только низко-температурные 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 различных супрамолекулярных комплексов фенбендазола при введении в желудок белым мышам приведены в таблице 4.

**Таблица 4 – Показатели острой токсичности СМКФ различного состава
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. 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 также рассчитать было невозможно в связи с тем, что от максимально вводимой дозы препаратов – 20000 мг/кг, не отмечали падежа животных и признаков интоксикации организма. В связи с этим, максимально переносимой дозой СМКФ с ПВП, АГ (фармакопейным), ЭС и ГЭК можно считать дозу 20000 мг/кг. 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 и 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 животных.

При патологоанатомическом вскрытии павших животных отмечали гиперемию стенок желудка, двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника; в предсердиях обнаружили темную несвернувшуюся кровь, на поверхности печени и почек имели место 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 [34]. Таким образом, СМКФ с НДОСС, Na₂ГК и АГ (Алт.) оказались более токсичными для организма млекопитающих 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 установления параметров острой токсичности СМКФ с ПВП при введении в желудок белым крысам приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели острой токсичности СМКФ с ПВП (1/10) при введении в желудок белым крысам

Доза, мг/кг	Пало/выжило после введения препарата	
	СМКФ с ПВП	Баз. фенбендазол
7000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6
15000	0/6	0/6
20000	0/6	0/6

У крыс после введения базового препарата – фенбендазола не отмечали гибели животных после введения в желудок препарата в дозах 7000; 10000; 15000 и 20000 мг/кг. Большую дозу препарата животным ввести не удалось.

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 оценки раздражающего действия СМКФ на кожу не установлено отрицательного воздействия на неповрежденную кожу крыс. Такие признаки раздражающего действия, как эритемы, трещины, изъязвления, увеличения кожной складки и локальное повышение температуры, отсутствовали. Спустя 10 суток после нанесения препарата кожа покрылась ровным шерстным покровом.

При введении 1%-й суспензии СМКФ в конъюнктивальный мешок глаза кроликов отмечали кратковременную физиологическую реакцию на внесение инородного тела; иных признаков раздражающего действия, таких как слезотечение, отечность, покраснение и др., не наблюдали.

Следовательно, можно сделать обоснованное заключение 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, точнее от максимально возможной для перорального введения, суммарная доза вводимого препарата за этот период составила 257368 мг/кг (таблица 6). Случаи падежа животных и признаки интоксикации у крыс отсутствовали, значение коэффициента кумуляции определить не удалось.

Таблица 6 – Кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Стадия опыта, сутки	Суточная доза, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Пало/живые	
			опыт	контроль
1–4	2000	8000	0/10	0/10
5–8	3000	12000	0/10	0/10
9–12	4500	18000	0/10	0/10
13–16	6750	27000	0/10	0/10
17–20	10125	40500	0/10	0/10
21–24	15187	60748	0/10	0/10
25–28	22780	91120	0/10	0/10
Итого за 28 сут	64342,5	257368		

В соответствии с принятой классификацией супрамолекулярный комплекс фенбендазола относится к группе веществ, не обладающих кумулятивными свойствами.

2.2.2.4. Субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола

В опыте по исследованию субхронической токсичности установлено, что при введении СМКФ в трех тестируемых дозах в течение 7 суток общее состояние и поведение животных соответствовало физиологической норме; животные активно потребляли корм и воду, признаков интоксикации зарегистрировано не было.

В таблице 7 представлена динамика прироста массы тела крыс трех опытных групп и контрольной группы в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – среднее квадратическое отклонение. По проценту прироста к исходной массе тела можно сделать вывод о том, что СМКФ критически не влияет на данный показатель.

С учетом небольшой продолжительности опыта трудно было ожидать больших показателей привесов, однако важно отметить, что отсутствовали отвесы, и относительный прирост массы тела в опытных и контрольных группах не различался (таблица 7).

**Таблица 7 – 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 установлено не было: размер, форма, поверхность, консистенция, степень наполнения кровеносных сосудов, расположение органа, вид поверхности разреза

соответствовали параметрам в контрольной группе животных. Массовые коэффициенты внутренних органов крыс опытных и контрольной группы достоверно не отличались друг от друга. Результаты определения представлены в таблице 8 в виде $M \pm m$.

Таблица 8 – **Влияние СМКФ на относительную массу внутренних органов крыс**

Орган	Масса органа у крыс, получавших препарат в дозе (мг/кг)			Контроль
	4000	2000	1000	
Печень	12,45±0,84	12,27±0,86	12,10±0,80	11,55±0,75
Почки	2,06±0,10	1,96±0,09	1,90±0,09	1,72±0,07
Сердце	1,09±0,12	1,00±0,10	0,98±0,10	0,96±0,10
Легкие	2,76±0,26	2,80±0,32	2,60±0,20	2,39±0,33
Селезенка	1,22±0,16	1,20±0,28	1,11±0,11	1,09±0,10
Головной мозг	1,77±0,05	1,68±0,14	1,67±0,11	1,63±0,10

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

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

Печень. При гистологическом исследовании образцов микроскопических препаратов печени крыс, получавших СМКФ в дозе 4000 мг/кг, 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 13).

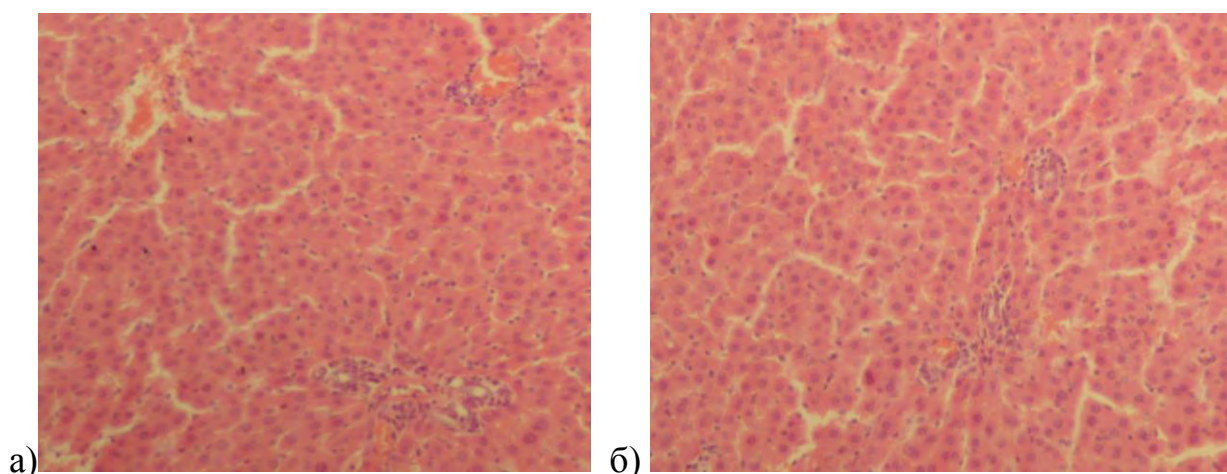


Рисунок 13 – Микрофотография гистологических срезов печени контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40х10

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 14).

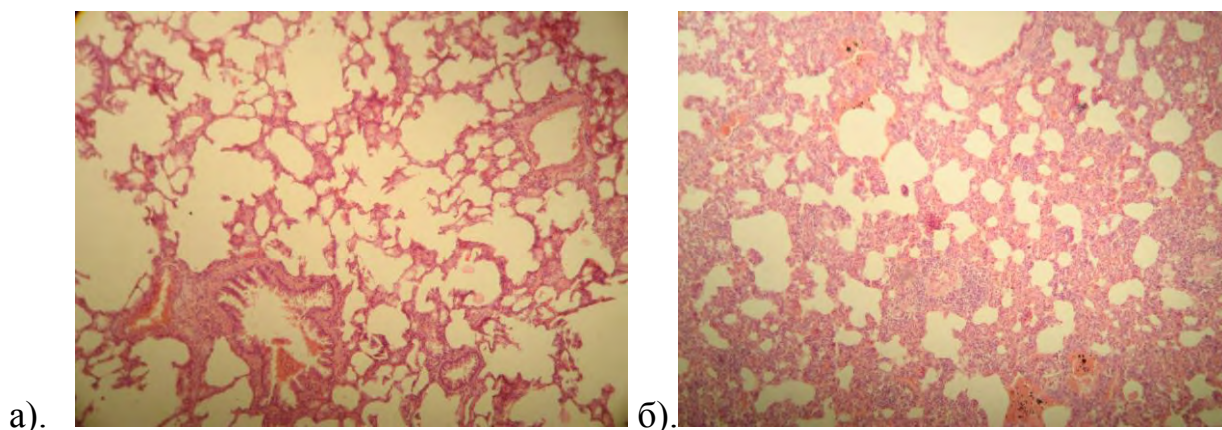


Рисунок 14 – Микрофотография гистологических срезов легких контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40х10

Селезенка. На гистосрезях селезенки животных контрольной и подопытной группы видна белая и красная пульпа, трабекулы. В составе белой пульпы лимфоидные узелки округлой или удлинённой формы с лимфоидными муфтами вокруг артериол; маргинальная зона белой пульпы представлена крупными лимфоцитами и макрофагами. Красная пульпа состоит из форменных элементов крови и ретикулярных клеток, пронизана синусоидными капиллярами, на срезах хорошо виден просвет (рисунок 15).

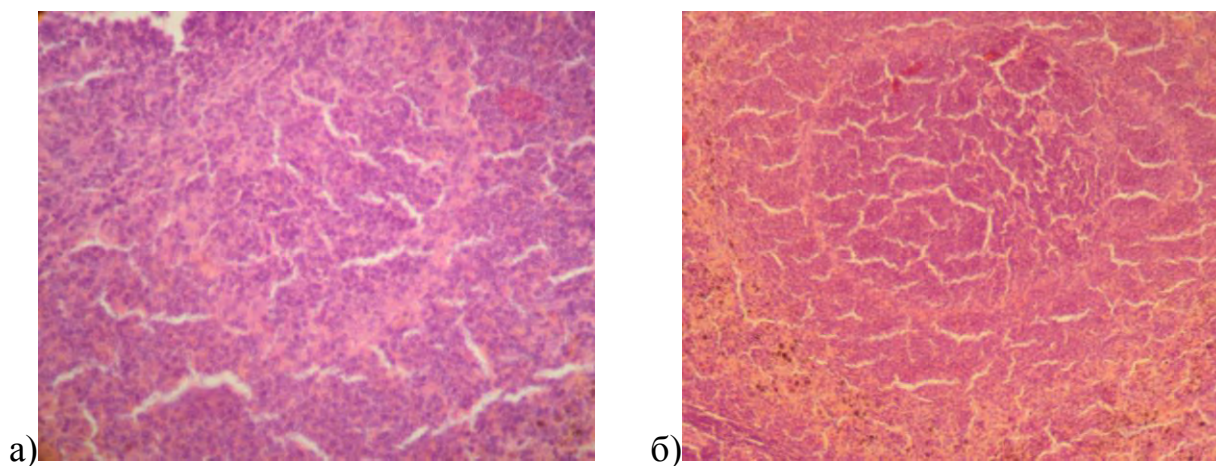


Рисунок 15 – Микрофотография гистологических срезов селезенки контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40х10

Сердце. Кардиомиоциты вытянутой прямоугольной формы с умеренно окрашенным одним или двумя ядрами и контурируемым рисунком миофибрил по периферии, расположены параллельно друг другу. В опытной группе белых крыс патологии не выявлено (рисунок 16).

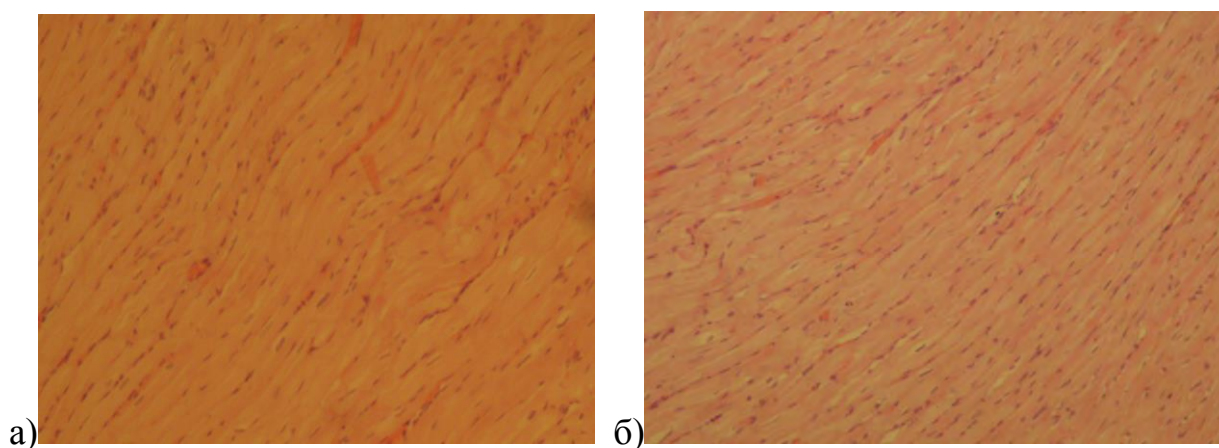


Рисунок 16 – Микрофотографии гистологических срезов сердечной мышцы контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40х10

Почки. На микропрепаратах почек крыс контрольной группы и группы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (рисунок 17) патологических изменений не обнаружено. Визуализируется корковое и мозговое вещество почки. В корковом присутствуют почечные тельца округлой формы и извитые канальцы нефронов в виде поперечно перерезанных канальцев-трубочек, стенки которых состоят из одного слоя клеток с круглыми крупными ядрами. Мозговое вещество почки в форме пирамид, состоит из петель Генле и собирательных трубочек, идущих в одном направлении. Между канальцами в прослойках соединительной ткани лежат кровеносные сосуды с эритроцитами.

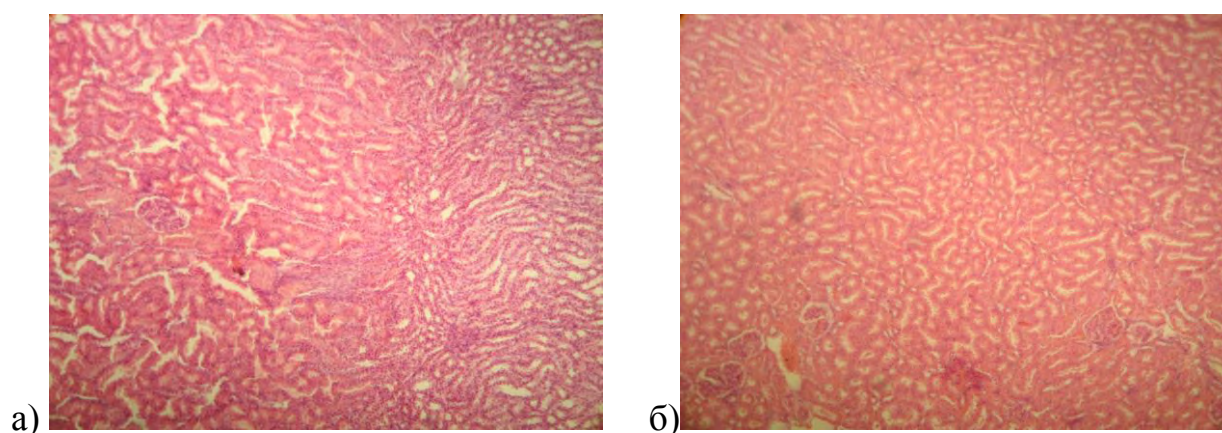


Рисунок 17 – Микрофотографии гистологических срезов почек контрольной крысы (а) и крысы, получавшей СМКФ в дозе 4000 мг/кг (б). Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 40х10

На основании результатов гистологического исследования тканей опытной группы, получавшей СМКФ и контрольной группы, 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.

Результаты определения гематологических показателей приведены в таблице 9. У опытных и контрольных животных такие гематологические показатели как, гемоглобин, количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, гематокрит и другие показатели колеблются, не выходя за рамки

физиологической нормы, статистически значимых различий между группами не установлено (таблица 9).

**Таблица 9 – Влияние СМКФ на гематологические показатели крыс
(n = 10)**

Показатель	Значение показателя для крыс, получивших препарат в дозе (мг/кг)			Контроль
	4000	2000	1000	
Гематокрит, %	42,52±2,24	44,48±2,47	47,46±1,64	46,04±2,10
Гемоглобин, г/л	112,8±3,56	117,3±4,16	120,1±4,38	119,4±4,28
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,04±0,58	7,17±0,72	7,64±0,69	7,20±0,18
СОЭ, мм/ч	1,91±0,33	1,83±0,37	1,85±0,41	1,95±0,43
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	534,7±46,20	512,2±49,58	555,4±43,04	529,92±40,60
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,90±0,28	6,17±0,42	6,02±0,83	5,98±0,44
Лейкоцитарная формула				
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2,92±0,17	1,90±0,22	2,16±0,28	2,50±0,26
Сегментоядерные нейтрофилы, %	25,87±1,05	24,40±1,32	21,10±1,86	22,66±1,95
Эозинофилы, %	0	0	0	0
Моноциты, %	1,62±0,28	1,4±0,07	1,3±0,16	1,6±0,32
Базофилы, %	0	0	0	0
Лимфоциты, %	69,59±5,14	72,30±5,82	75,44±5,41	73,24±5,23

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Результаты биохимического анализа приведены в таблице 10. 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 различаются, что свидетельствует об

отсутствии гепатотоксического действия СМКФ (таблица 10). Содержание мочевины после введения СМКФ в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀ в сыворотке крови крыс составило соответственно $7,40 \pm 0,65$ ммоль/л, $7,61 \pm 0,46$ и $7,44 \pm 0,82$ ммоль/л при $7,31 \pm 0,60$ ммоль/л в контрольной группе; уровень креатинина – $48,36 \pm 1,92$; $47,10 \pm 1,64$ и $44,50 \pm 1,24$ мкмоль/л при концентрации $45,62 \pm 2,06$ мкмоль/л в контрольной группе животных. Таким образом, введение испытуемого препарата в течение 7 суток не оказало нефротоксического действия.

Таблица 10 – Влияние СМКФ на биохимические показатели крови у крыс (n = 10)

Показатель	Значение показателя для крыс, получивших препарат в дозе			Контроль
	4000	2000	1000	
Билирубин общий, мкмоль/л	$2,18 \pm 0,24$	$1,95 \pm 0,26$	$2,33 \pm 0,20$	$2,25 \pm 0,34$
Билирубин прямой, мкмоль/л	$0,77 \pm 0,12$	$0,84 \pm 0,16$	$0,79 \pm 0,14$	$0,81 \pm 0,11$
АСТ, Ед/л	$170,46 \pm 12,25$	$172,43 \pm 13,60$	$183,34 \pm 12,30$	$177,7 \pm 13,64$
АЛТ, Ед/л	$64,23 \pm 6,47$	$66,41 \pm 7,45$	$59,68 \pm 6,52$	$60,24 \pm 8,40$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$332,42 \pm 60,64$	$328,53 \pm 51,68$	$343,33 \pm 61,44$	$344,41 \pm 69,14$
Креатинин, мкмоль/л	$48,36 \pm 1,92$	$47,10 \pm 1,64$	$44,50 \pm 1,24$	$45,62 \pm 2,06$
Мочевина, ммоль/л	$7,40 \pm 0,65$	$7,61 \pm 0,46$	$7,44 \pm 0,82$	$7,31 \pm 0,60$
Глюкоза, ммоль/л	$3,88 \pm 0,49$	$3,09 \pm 0,44$	$3,62 \pm 0,42$	$3,59 \pm 0,38$
ЛДГ, Ед/л	$394,98 \pm 42,52$	$366,35 \pm 44,60$	$378,84 \pm 51,42$	$398,73 \pm 43,53$
Общий белок, г/л	$69,20 \pm 3,95$	$67,6 \pm 3,36$	$69,9 \pm 3,13$	$65,24 \pm 3,22$

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Данные результаты свидетельствовали об отсутствии токсического влияния препарата при ежедневном пероральном введении в течение 7 суток в трех тестированных дозах на физиологический статус, привесы массы тела, морфологический состав и функциональное состояние периферической крови экспериментальных животных, а также не оказывали патологического действия на состояние внутренних органов крыс.

2.2.2.5. Эмбриотоксическое и тератогенное действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Исследование СМКФ на возможное эмбриотоксическое и тератогенное действие имеет особое значение, поскольку, как было отмечено в литературном обзоре, многие препараты, производные бензимидазолкарбаматов оказывают негативное влияние на эмбриогенез крыс, кроликов, мышей, овец и т.д.

Результаты оценки СМКФ на эмбриотоксическое и тератогенное действие представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Влияние СМКФ на эмбриогенез белых беспородных крыс в дозе 6,0 мг/кг по ДВ

Показатель	Сутки эмбриогенеза, в которые вводили препарат			Контрольная группа
	1–6	7–14	15–19	1–19
Число самок	10	10	10	10
Число живых плодов на одну самку	10,74±0,68	9,43±0,63	11,50±0,64	10,92±0,73
Предимплантационная гибель, %	9,27±3,17	10,24±3,96	9,70±3,41	9,30±3,02
Постимплантационная гибель, %	2,34±0,94	2,13±0,97	1,34±0,93	2,09±1,96

Общая эмбриональная смертность, %	12,72±3,43	11,16±3,12	10,78±3,24	10,04±3,36
Масса плода, г	2,67±0,31	2,78±0,04	2,80±0,34	2,69±0,23
Краниокаудальный размер плода, см	2,90±0,08	2,93±0,07	2,89±0,06	2,94±0,06
Масса плаценты, г	0,72±0,04	0,75±0,05	0,70±0,04	0,71±0,05
Диаметр плаценты, см	1,47±0,09	1,50±0,06	1,46±0,05	1,48±0,04
Плодоплацентарный коэффициент, %	26,96	26,97	25,00	26,39
Плоды с внешними и внутренними аномалиями развития, %	—	—	—	—

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Оценку СМКФ на эмбриотоксическое и тератогенное действие проводили с учетом воздействия препарата на различные стадии эмбриогенеза: доимплантационный период, период органогенеза и фетогенеза, которые включают критические периоды эмбрионального развития.

Как показали результаты исследований, 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 (таблица 11, $P \geq 0,05$). При введении СМКФ с 7–14 сутки и с 15–19 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 не было отмечено. Так, размер плодов в опытной группе при введении СМКФ в

первый период эмбриогенеза составил $2,90 \pm 0,08$ см, в контроле $2,94 \pm 0,06$ см. Масса плодов была равна $2,67 \pm 0,31$ г, в контроле $2,69 \pm 0,23$ г (таблица 11, $P \geq 0,05$). Размер и масса плаценты статистически значимо не различались в опытных и контрольных группах. Аналогичные результаты были получены по данным показателям на 7–14 сутки и 15–19 сутки эмбриогенеза. Соотношение самцов и самок было примерно одинаковым в потомстве от крыс в опытных и контрольных группах.

При исследовании эмбрионального материала на наличие аномалий развития (метод Вильсона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР) показано, что внешних и внутренних аномалий развития у плодов не было зарегистрировано. Внешний осмотр плодов под бинокулярной лупой не выявил аномалий глаз, мозга, конечностей, позвоночника, хвоста и передней брюшной стенки. После анализа проведенных последовательных сагиттальных срезов не выявлено нарушений топографии и патологии сердца, легких, крупных сосудов, спинного мозга, органов брюшной полости, мочевыделительной и половой системы. Анатомические структуры нижней челюсти, переднего отдела твердого неба, носовой полости, глазных яблок и обонятельных луковиц, больших полушарий головного мозга, 4-го желудочка были без аномалий развития и симметрично расположены. Размеры зачатков плечевой, лопаточной, локтевой, лучевой, а также бедренной, большой и малой берцовых костей у опытных и контрольных плодов находились в пределах нормы (таблица 12).

Таблица № 12 – Средние размеры зачатков костной системы у плодов после введения СМКФ в дозе 6,0 мг/кг по ДВ в различные периоды эмбриогенеза

Название кости		Длина зачатков костей эмбрионов (мм) при введении препарата в различные периоды эмбриогенеза:			Контроль
		1-6	7-14	15-19	
Плечевая	левая	3,34±0,04	3,39±0,03	3,40±0,05	3,36±0,04
	правая	3,32±0,07	3,36±0,04	3,40±0,06	3,34±0,08
Локтевая	левая	3,32±0,06	3,34±0,05	3,36±0,07	3,38±0,04
	правая	3,39±0,08	3,36±0,06	3,34±0,08	3,38±0,07
Лучевая	левая	2,93±0,04	2,94±0,04	2,90±0,05	2,94±0,04
	правая	2,94±0,05	2,93±0,04	2,92±0,03	2,89±0,04
Бедренная	левая	2,68±0,04	2,69±0,06	2,70±0,04	2,69±0,05
	правая	2,64±0,06	2,65±0,05	2,68±0,04	2,67±0,08
Большая берцовая	левая	3,05±0,08	3,02±0,04	3,04±0,05	3,05±0,05
	правая	3,05±0,07	3,03±0,04	3,05±0,03	3,06±0,04
Малая берцовая	левая	2,96±0,04	3,02±0,04	2,99±0,03	3,01±0,05
	правая	2,96±0,03	2,99±0,05	2,97±0,04	2,01±0,12
Лопатка	левая	3,49±0,08	3,53±0,07	3,54±0,08	3,52±0,06
	правая	3,49±0,06	3,54±0,07	3,57±0,04	3,55±0,08
Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$					

Таким образом, СМКФ не проявил эмбриотоксического и тератогенного эффекта при введении в три раза повышенной терапевтической дозе – 6 мг/кг по ДВ на разные сроки эмбриогенеза.

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 $7,67 \pm 1,53$ ($\log_2$) (таблица 13). 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.

Таблица 13 – Влияние препарата СМКФ и фенбендазола на антителопродукцию у мышей

Группа	Вариант опыта	Кратность введения	Титр антител ($\log_2$)	Индекс реакции
1	СМКФ в дозе 20 мг/кг	Однократно	$6,50 \pm 1,42$	0,85
2	СМКФ в дозе 200 мг/кг	Однократно	$6,17 \pm 1,50$	0,80
3	Фенбендазол в дозе 20 мг/кг	Однократно	$7,75 \pm 1,72$	1,01
Контроль	—	—	$7,67 \pm 1,53$	—

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Для изучения действия СМКФ на клеточное звено иммунного ответа применяли реакцию гиперчувствительности замедленного типа. Сенсибилизация организма белковыми антигенами ЭБ вызывает образование антигенспецифических Т-лимфоцитов. При повторном введении эритроцитов барана (разрешающее введение) на месте введения развивалась воспалительная реакция, интенсивность которой можно оценить [53, 98]. Результаты исследования по изучению влияния испытуемого препарата на индукцию ГЗТ приведены в таблице 14.

Как видно из результатов исследования СМКФ, введенный мышам перорально однократно в терапевтической (20 мг/кг) и десятикратно увеличенной дозах (200 мг/кг) не оказывал влияния на клеточное звено иммунитета, 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.

**Таблица 14 – Реакция гиперчувствительности замедленного типа
у мышей при введении препарата СМКФ**

Группа	Доза препарата, мг/кг	Кратность введения	ИБ, %
1	СМКФ в дозе 20 мг/кг	Однократно	9,05±3,47
2	СМКФ в дозе 200 мг/кг	Однократно	10,05±2,25
3	Фенбендазол в дозе 20 мг/кг	Однократно	21,06±3,32*
Контроль	-		9,27±3,91

Примечание: * различие между опытной и контрольной группой статистически достоверно $P \leq 0,05$

Базовый препарат в десятикратной дозе оказывал стимулирующее действие на процесс образования Т-лимфоцитов, что проявилось увеличением индекса воспаления 21,06±3,32% по сравнению с контрольной группой 9,27±3,91%.

Таким образом, однократное введение супрамолекулярного комплекса фенбендазола в терапевтической и десятикратно увеличенной дозах не оказывает угнетающего влияния на антителообразование. Индекс реакции 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 между опытными и контрольными животными также не установлено.

По результатам проведенных исследований можно сделать заключение 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 15.

Таблица 15 – 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: НДОСС 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	–	–

СМКФ с ПВП (1:10) и в сочетании с НДОСС (10:89,9:0,1) в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показали 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±6,7 экз. *T. spiralis*.

Таким образом, эффективность модифицированного фенбендазола с ПВП и в комбинации НДОСС по сравнению с базовым препаратом повысилась в 4,1 раза.

2.2.3.2. Испытание на модели *Hymenolepis nana*

Результаты испытания образцов СМКФ с разными компонентами при экспериментальном гименолелидозе белых мышей приведены в таблице 16 и свидетельствуют об их различной эффективности против *H. nana*.

Таблица 16 – Цестодоцидная эффективность СМКФ с различными компонентами при гименолелидозе белых мышей в дозе 2,0 мг/кг по ДВ

Группа животных	Антигельминтное средство, его состав	Число животных	Обнаружено <i>H. nana</i> при вскрытии, экз./гол.	ИЭ, %	Повышение эффекта, раз
Опытная	ФБЗ:ПВП 1:10	6	0,5±0,2	85,0	3,5
Опытная	ФБЗ:Na ₂ ГК 1:10	6	0,5±0,2	85,0	3,5
Опытная	ФБЗ:ЭС 1:10	6	1,2±0,3	65,0	2,7
Опытная	ФБЗ:ГЭК 1:10	6	1,8±0,3	48,0	2,0
Опытная	ФБЗ:АГ 1:10	6	0,8±0,2	77,0	3,2
Опытная	ФБЗ:ПВП: НДОСС 10:89,9:0,1	6	0	100,0	4,1
Опытная	ФБЗ исходный	6	2,7±0,4	24,0	—
Контрольная	—	6	3,5±0,4	—	—

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 НДОСС – 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 арабиногалактаном приведены в таблице 17 и свидетельствуют о различной степени эффективности СМКФ в разных дозах против различных видов гельминтов.

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. Животные полностью освободились от нематодирусов после применения комплекса в дозе 3,0 мг/кг (ЭЭ 100 %). 6 из 8 овец также оказались свободными от нематод после введения препарата в дозе 2,0 мг/кг по ДВ, а число яиц нематодирусов в фекалиях снизилось на 97,57%. После дачи комплекса в дозе 1,0 мг/кг 5 из 8 животных оказались свободными от инвазии. Эффективность составила 94,94%. 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 ($P \geq 0,05$). На основании полученных результатов терапевтической дозой СМКФ при нематодирозе рекомендуем считать дозу 3,0 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; 97,66 и 94,83%-ную эффективность (таблица 17). Субстанция фенбендазола в дозах 5,0 и 1,0 мг/кг показала соответственно 95,26 и 9,12%-ную активность. Число яиц стронгилят в 1 г фекалий в начале и конце опыта составило соответственно

158,2±5,1 и 162,3±6,4 экз. ($P > 0,05$). 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. При сравнении активности СМКФ и субстанции фенбендазола в дозе по 1,0 мг/кг по ДВ установлено повышение в 6 раз действия СМКФ против диктиокаул. Дозу СМКФ 3,0 мг/кг по ДВ рекомендуем как терапевтическую, так как она обеспечивает 100%-ный эффект.

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. Инвазированность животных контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

Таким образом, СМКФ в дозе 3,0 мг/кг по ДВ показал 100%-ную эффективность при стронгилоидозе ягнят.

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. При сравнении активности СМКФ и субстанции фенбендазола в дозе по 1,0 мг/кг по ДВ действие СМКФ было в 2 раза выше.

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%. Отмечено значительное повышение эффективности СМКФ по сравнению с субстанцией фенбендазола.

Таким образом, СМКФ показал максимальную эффективность при основных нематодозах овец в дозе 3,0 мг/кг по ДВ. Эффективность СМКФ оказалась в 2–3 раза выше активности субстанции фенбендазола.

Таблица 17 – **Активность СМКФ с арабиногалактаном при гельминтозах овец**

Препарат	Доза, мг/кг, по ДВ	Число овец	Освобо-дилось от инвазии, гол.	Среднее число яиц/личинки гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц/личинки гельминтов в фекалиях, %
				до опыта	после лечения	
1	2	3	4	5	6	7
<i>Нематодироз</i>						
СМКФ	3,0	8	8	140,2±5,0	0	100
СМКФ	2,0	8	6	138,7±4,8	3,5	97,57
СМКФ	1,0	8	5	139,5±5,1	7,3±1,7	94,94
ФБЗ	1,0	8	0	141,2±4,9	131,6±4,3	8,62
ФБЗ	5,0	8	5	140,6±4,8	6,8±1,8	95,28
Контроль	—	8	0	139,6±4,7	144,0±5,7	—
<i>Другие желудочно-кишечные стронгилятозы</i>						
СМКФ	3,0	8	8	157,4±5,3	0	100
СМКФ	2,0	9	6	156,6±5,4	3,8±1,1	97,66
СМКФ	1,0	9	5	158,2±5,1	8,4±1,8	94,83
ФБЗ	1,0	8	0	158,4±4,9	147,5±5,2	9,12
ФБЗ	5,0	9	6	156,9±5,0	7,7±1,5	95,26
Контроль	—	9	0	158,2±5,1	162,3±6,4	—
<i>Диктиокаулез</i>						
СМКФ	3,0	8	8	117,4±6,7	0	100
СМКФ	2,0	9	8	116,0±6,5	4,0	96,73
СМКФ	1,0	9	5	118,5±7,0	17,6±2,1	85,61
ФБЗ	1,0	8	0	119,3±6,9	105,4±6,4	13,82
ФБЗ	5,0	8	6	120,4±6,8	4,5	96,32
Контроль	—	8	0	117,2±6,7	122,3±6,8	—

<i>Стронгилоидоз</i>						
СМКФ	3,0	7	7	110,2±6,4	0	100
СМКФ	2,0	7	4	109,6±5,8	32,0±2,8	71,98
СМКФ	1,0	7	1	108,2±5,7	75,4±5,2	33,98
ФБЗ	1,0	7	0	111,0±5,9	94,8±5,5	16,99
ФБЗ	5,0	7	4	109,3±5,8	5,3±1,0	95,36
Контроль	—	7	0	108,8±5,7	114,2±6,5	—
<i>Мониезиоз</i>						
СМКФ	3,0	9	7	168,7±7,4	3,0±0,8	98,28
СМКФ	2,0	9	3	167,3±7,3	65,3±4,6	62,54
СМКФ	1,0	9	0	169,2±7,0	118,5±6,6	32,02
ФБЗ	1,0	9	0	170,3±6,9	147,9±6,7	15,15
ФБЗ	7,5	9	5	171,6±6,8	16,7±2,0	90,42
Контроль	—	9	0	170,2±6,7	174,3±7,2	—
<i>Трихоцефалез</i>						
СМКФ	3,0	8	5	119,6±6,3	3,5±0,8	97,18
СМКФ	2,0	8	3	120,3±6,2	45,8±4,1	63,07
СМКФ	1,0	7	1	117,8±6,0	85,6±5,7	31,00
ФБЗ	1,0	7	0	118,2±5,7	105,4±5,3	15,00
ФБЗ	5,0	7	3	119,0±5,8	14,0±1,4	88,71
Контроль	—	7	0	120,2±5,7	124,0±5,8	—

2.2.4.2. Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном

Полученные результаты испытания СМКФ с ПВП представлены в таблице 18 и свидетельствуют о повышении эффективности комплекса против гельминтов у овец в сравнении с базовым препаратом.

Таблица 18 – Эффективность СМКФ с ПВП в соотношении 1:10 при гельминтозах овец (n = 10)

Препарат	До- за, мг/ кг, по ДВ	Освобо- дилось от инвазии, гол.	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц гельмин- тов в фекалиях, %
			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	2,0	0	130,6±5,1	120,0±5,2	12,22
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	2,0	0	152,1±6,5	132,3±5,6	15,20
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
ФБЗ	2,0	0	180,2±7,0	157,3±7,2	13,72
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	—

Примечание: * – физическая смесь

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. Овцы полностью освободились от нематодирусов после применения препарата в дозе 3,0 мг/кг. 8 из 10 животных также оказались свободными от нематод после введения препарата в дозе 2,0 мг/кг по ДВ, а число яиц *Nematodirus* spp. в фекалиях снизилось на 97,8%. После введения препарата в дозе 1,0 мг/кг по ДВ 6 из 10 овец оказались свободными от инвазии. Эффективность составила 95,18%. Эффективность базового препарата - субстанции фенбендазола составила 12,22% в дозе 2,0 мг/кг, а механической смеси ФБЗ:ПВП в этой дозе – 17,05%. 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 18). Субстанция фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг показала 15,20%-ную активность, а механическая смесь фенбендазола и ПВП в дозе 2 мг/кг по ДВ проявила 19,88%-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.

Мониезиоз. 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 НДОСС в соотношении 10:89,9:0,1 на овцах приведены в таблице 19 и свидетельствуют о различной степени эффективности препарата в разных дозах против различных видов гельминтов.

Нематодироз. СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ проявил соответственно 100; 98,19 и 95,15%-ную эффективность по результатам исследований проб фекалий методом флотации. Животные полностью освободились от нематодирозов после применения комплекса в дозе 3,0 мг/кг (ЭЭ 100%). 7 из 10 овец также оказались свободными от нематод после введения препарата в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. После дачи комплекса в дозе 1,0 мг/кг 5 из 10 животных оказались свободными от инвазии. Эффективность составила 95,15% (таблица 19).

Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола составила в дозе 2,0 мг/кг 21,35%, а механической смеси фенбендазола с ПВП и НДОСС в этой же дозе 37,39%.

Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

На основании полученных результатов терапевтической дозой СМКФ при нематодирозе рекомендуем считать дозу 2,0 мг/кг по ДВ.

Таблица 19 – Эффективность СМКФ с ПВП и НДОСС в соотношении
10:89,9:0,10 при гельминтозах овец (n = 10)

Препарат	Доза, мг/кг, по ДВ	Осво- боди- лось от инва- зии, гол.	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц гельминтов в фекалиях, %
			до опыта	после лечения	
Нематодироз					
СМКФ	3,0	10	142,8±5,0	0	100
СМКФ	2,0	7	148,2±4,8	2,8±0,3	98,19
СМКФ	1,0	5	149,5±5,2	7,5±1,8	95,15
Фенбендазол субстанция	2,0	0	144,2±5,9	121,6±4,2	21,35
Механическая смесь ФБЗ:ПВП:НДОСС	2,0	0	146,6±4,8	96,8±4,8	37,39
Контроль	—	0	149,6±4,8	154,6±5,4	—
Другие желудочно-кишечные стронгилятозы					
СМКФ	3,0	10	167,2±5,8	0	100
СМКФ	2,0	7	166,6±5,2	3,9±1,0	97,75
СМКФ	1,0	6	168,3±5,4	9,2±1,6	94,70
Фенбендазол субстанция	2,0	0	168,4±5,9	127,6±5,3	26,38
Механическая смесь ФБЗ:ПВП:НДОСС	2,0	0	166,9±5,6	107,8±4,5	37,80
Контроль	—	0	168,2±5,4	173,3±6,2	—
Мониезиоз					
СМКФ	3,0	10	198,8±7,4	0	100
СМКФ	2,0	3	197,3±7,6	15,0±4,6	92,44
СМКФ	1,0	0	169,2±7,0	110,6±6,8	44,23
Фенбендазол субстанция	2,0	0	170,3±6,9	147,9±6,8	25,42
Механическая смесь ФБЗ:ПВП:НДОСС	2,0	5	171,6±6,8	126,7±4,0	36,11
Контроль	—	0	190,2±6,7	198,3±7,0	—

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 (таблица 19). Субстанция фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг показала 26,38%-ную активность. Число яиц стронгилят в 1 г фекалий в начале и конце опыта составило соответственно $168,2 \pm 5,4$ и $173,3 \pm 6,2$ экз. ($P \geq 0,05$).

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

Мониезиоз. 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 дозах 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ составила соответственно 92,44 и 44,23%. Отмечено значительное повышение эффективности СМКФ по сравнению с субстанцией фенбендазола.

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

Была изучена антигельминтная эффективность СМКФ с $\text{Na}_2\text{ГК}$ в полевых условиях на овцах, зараженных *Nematodirus* spp., желудочно-кишечными стронгилятами и *Moniezia* spp. (табл. 20). По результатам копроовоскопических исследований было установлено значительное повышение эффективности СМКФ 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 нематодирусов, 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 слабую эффективность.

Таблица 20 – Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с динатриевой солью глицирризиновой кислоты при гельминтозах овец ($M \pm m$)

Препарат	До- за по ДВ, мг/к г	Заражено до опыта, гол.			Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.						Эффективность (%) против		
		<i>Ne- ma- todi- rus spp.</i>	<i>Stro- ngy- lata</i>	<i>Mo- nie- zia spp.</i>	до опыта			после лечения			<i>Nemato- dirus spp.</i>	<i>Stron- gylata</i>	<i>Monie- zia spp.</i>
					<i>Nematodi- rus spp.</i>	<i>Strongy- lata</i>	<i>Moniezia spp.</i>	<i>Ne- mato- dirus spp.</i>	<i>Stro- ngy- lata</i>	<i>Monie- zia spp.</i>			
ФБЗ:Na ₂ ГК	3,0	10	9	7	266,0±9,8	328,3±8,9	356,2±9,3	0	0	13,6±1,4	100*	100*	96,44*
ФБЗ:Na ₂ ГК	2,0	10	12	8	260,8±9,3	334,0±9,5	364,0±9,4	12,1	15,3	32,0±2,3	95,54*	95,54*	91,61*
ФБЗ:Na ₂ ГК	1,0	11	10	9	257,2±9,6	341,4±9,8	357,8±9,2	20,4	31,6	72,0±4,7	92,48*	90,77*	81,12
ФБЗ	2,0	10	11	8	270,4±8,8	325,3±8,9	370,3±9,1	180,3	198,0	314,3±8,8	33,47**	42,16**	17,55**
субстанция													
Контроль	-	19	10	7	265,4±9,0	330,6±9,2	364,0±8,9	271,0 ±8,8	342,3 ±9,6	381,2±9,4	-	-	-

Примечание: *, ** – различия с контролем (животные, не получавшие лекарственного вещества) статистически значимы соответственно при $P < 0,001$ и $P < 0,01$

2.2.4.5. Антигельминтная активность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с экстрактом солодки

Полученные результаты испытания антигельминтного действия СМКФ с ЭС приведены в таблице 21 и свидетельствуют о различной степени эффективности препарата в разных формах и соотношениях против различных видов гельминтов.

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.

Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола составила в дозе 2,0 мг/кг 22,75%, а механической смеси фенбендазола с ЭС в этой же дозе 27,98%.

Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменялась ($P \geq 0,05$).

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.

Таблица 21 – Эффективность СМКФ с ЭС (10%) в дозе 2,0 мг/кг по ДВ при нематодозах овец

Препарат, соотношение компонентов, концентрация (%), время обработки	Заражено до опыта, овец	Освободилось от инвазии, гол.	Среднее число яиц нематод в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц гельминтов в фекалиях, %
			до опыта	после лечения	
Нематодироз					
ФБЗ:ЭС (1:10) 10%-ный порошок 4 ч	10	9	90,6±7,5	9,8±2,1	89,96
ФБЗ:ЭС (1:10) 17%-ный порошок 4 ч	9	6	85,3±6,3	14,1±3,0	85,56
ФБЗ:ЭС (1:10) 2,4%-ная суспензия	8	7	89,3±7,5	16,0±4,0	83,61
ФБЗ:ЭС (1:5) 4,5%-ная суспензия	11	7	92,0±5,7	15,1±3,2	84,53
ФБЗ:ЭС (1:10) мех. смесь	9	0	87,8±6,3	70,3±3,6	27,98
ФБЗ базовый 98%-ный порошок	10	0	81,4±7,0	75,4±4,8	22,75
Контроль	9	0	91,2±7,3	97,6±7,7	—
Другие стронгилятозы пищеварительного тракта					
ФБЗ:ЭС (1:10) 10%-ный порошок 4 ч	9	8	81,6±7,0	9,2±1,8	88,73
ФБЗ:ЭС (1:5) 17%-ный порошок 4 ч	8	6	68,8±5,9	22,5±4,2	72,43
ФБЗ:ЭС (1:10) 2,4%-ная суспензия	8	7	68,9±5,7	11,1±2,4	86,40
ФБЗ:ЭС (1:5) 4,5%-ная суспензия	11	7	73,4±5,3	10,0±3,1	87,75
ФБЗ:ЭС (1:10) мех. смесь	8	0	77,2±5,6	58,4±5,0	28,44
ФБЗ базовый 98%-ный порошок	9	0	75,6±5,7	63,7±6,5	21,94
Контроль	8	0	76,8±5,8	81,6±7,0	—

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.

Таким образом, в опытах на овцах, спонтанно инвазированных нематодирусами и другими видами стронгилят пищеварительного тракта, антигельминтная эффективность СМКФ с ЭС в дозе 2,0 мг/кг по ДВ составила 83,6–89,9% против *Nematodirus* spp. и 72,4–88,7% против других видов желудочно-кишечных стронгилят, что в 3–4 раза выше активности субстанции фенбендазола.

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 (таблица 22). 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 копровоскопических исследований методом McMaster. После введения комплекса в дозе 2,0 мг/кг по ДВ 8 из 10 леченых овец освободились от гельминтов, и число яиц нематодирусов снизилось на 98,22%. Эффективность введения комплекса в дозе 1 мг/кг составила 95,64%, и 6 из 10 животных освободились от инвазии. Значения эффективности введения базового препарата – субстанции ФБЗ в дозах 5 и 1 мг/кг по ДВ – составили соответственно 95,59 и 16,22%.

СФБЗ 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 введения 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.

Таблица 22 – Эффективность супрамолекулярного фенбендазола с экстрактом солодки и диоктилсульфосукцинатом натрия при желудочно-кишечных стронгилятозах овец

Препарат	Доза по ДВ, мг/кг	Число овец в группе	Число овец, освобожденных от инвазии	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий		Снижение числа яиц гельминтов в фекалиях, %
				до лечения	после лечения	
Нематодироз						
ФБЗ:ЭС:НДОСС	3,0	10	10	174,5 ± 7,1	0	100*
»	2,0	10	8	178,6 ± 6,8	3,2	98,22*
»	1,0	10	6	180,2 ± 7,2	7,8 ± 1,2	95,64*
ФБЗ	1,0	10	0	177,0 ± 6,9	149,8 ± 5,7	16,22
»	5,0	10	5	171,6 ± 6,8	7,9 ± 1,2	95,59*
Контроль	—	10	0	173,7 ± 6,9	178,8 ± 7,7	—
Другие стронгилятозы пищеварительного тракта						
ФБЗ:ЭС:НДОСС	3,0	10	10	193,4 ± 7,2	0	100*
»	2,0	9	7	191,6 ± 6,9	4,1 ± 1,0	97,94*
»	1,0	9	4	198,2 ± 7,0	9,0 ± 1,2	95,47*
ФБЗ	1,0	9	0	189,6 ± 7,1	158,4 ± 5,6	20,25
»	5,0	9	5	195,3 ± 7,2	8,6 ± 1,4	95,67*
Контроль	—	9	0	192,6 ± 7,3	198,6 ± 7,4	—

Примечание: «–» – препарат не вводили; * – статистически значимая разница при $P \leq 0,05$ при сравнении среднего количества с плацебо (контроль).

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 приведены в таблице 23 и свидетельствуют о значительном повышении числа нежизнеспособных яиц мониезий после дегельминтизации овец.

Таблица 23 – Действие супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном на яйца мониезий

Препарат	Доза по ДВ, мг/кг	Обнаружено яиц мониезий в 1 г фекалий, экз.	Из них нежизнеспособных, экз.	% нежизнеспособных
<i>1-е сутки после дегельминтизации овец</i>				
СМКФ	2,0	143,4±7,5	54,2±4,7	37,79
ФБЗ	5,0	141,2±7,3	47,3±5,1	33,49
субстанция	–	140,8±7,4	6,8±0,9	4,82
Контрольная группа				
<i>2-е сутки после дегельминтизации овец</i>				
СМКФ	2,0	187,6±8,7	147,3±4,6	78,52
ФБЗ	5,0	183,4±8,3	130,2±5,0	71,00
субстанция	–	141,5±7,5	7,0±0,9	4,94
Контрольная группа				
<i>3-и сутки после дегельминтизации овец</i>				
СМКФ	2,0	23,6±2,8	19,1±2,1	80,93
ФБЗ	5,0	25,2±3,1	18,6±1,7	73,81
субстанция	–	142,7±7,3	7,2±0,8	5,04
Контрольная группа				

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. Яйца мониезий в фекалиях леченых овец обнаруживали в течение первых трех суток. При этом 33,49; 71,00 и 73,81% яиц мониезий соответственно на 1, 2 и 3-и сутки после дегельминтизации овец субстанцией фенбендазола оказались

нежизнеспособными. В последующие сроки яиц цестод не обнаруживали в фекалиях овец после дегельминтизации.

Обобщая полученные результаты можно отметить, что на первые сутки после дегельминтизации овец получали недостаточный эффект антигельминтиков на жизнеспособность яиц мониезий, что, по-видимому, обусловлено недостаточной их экспозицией на яйца или самих цестод.

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, приведены в таблице 24 и 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.

Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

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%. После введения указанных композиций не все животные полностью освободились от нематод. Единичные экземпляры яиц стронгилят обнаруживали в фекалиях некоторых овец после введения препаратов.

Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола в этой же дозе составила 30,27%, что в 2,8-3,5 раза ниже эффективности СМКФ, приготовленных по механохимической технологии.

Инвазированность овец контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

Таблица 24 – Эффективность СМКФ с различными компонентами в дозе 2,0 мг/кг по ДВ при стронгилятозах овец («контрольный тест»)

Препарат	Число овец в группе	Осво-боди-лось от инва-зии, гол.	Среднее число яиц нематод в 1 г фекалий, экз.		Снижение числа яиц нематод в фекалиях, %
			до опыта	после лечения	
Нематодироз					
СМКФ с ПВП	10	8	165,3±6,7	1,5±0,3	99,15
СМКФ с Na ₂ ГК	9	6	169,2±6,8	3,3±0,5	98,12
СМКФ с НДОСС	10	6	171,4±7,0	3,0±0,4	98,29
СМКФ с ЭС	8	3	167,7±6,8	17,4±2,3	90,06
СМКФ с ГЭК	9	3	172,3±7,1	19,3±2,7	88,98
СМКФ с АГ	10	6	168,2±6,9	6,6±1,0	96,23
Фенбендазол субст.	8	0	170,6±7,0	133,4±6,3	23,78
Контроль	9	0	167,3±6,5	175,0±7,2	—
Другие желудочно-кишечные стронгилятозы					
СМКФ с ПВП	9	6	187,3±7,4	2,6±0,4	98,67
СМКФ с Na ₂ ГК	10	6	185,6±7,3	3,6±0,6	98,15
СМКФ с НДОСС	8	5	190,2±7,5	3,3±0,6	98,31
СМКФ с ЭС	9	3	192,3±6,8	21,4±1,7	89,01
СМКФ с ГЭК	10	3	188,5±7,2	27,3±1,9	85,98
СМКФ с АГ	9	5	191,6±7,6	10,6±1,1	94,56
Фенбендазол субст.	8	0	186,2±7,3	135,7±6,7	30,27
Контроль	9	0	187,4±7,4	194,6±7,5	—

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

Сведения об эффективности СМКФ с ПВП при желудочно-кишечных стронгилятозах и диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота приведены в таблице 25. Данный комплекс в дозе 3,0 мг/кг по ДВ после введения животным I группы способствовал их полному освобождению от стронгилят (ЭЭ 100%). Во II-й группе, телятам которой препарат вводили в дозе 2,0 мг/кг, 7 голов также были свободными от нематод. После использования СМКФ в дозе 1,0 мг/кг только у 5 голов не обнаружили стронгилят (эффект – 79,7%). Эффективность базового препарата – субстанции фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг составила 96,1%. Инвазированность животных контрольной группы в период опыта существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

При диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота препарат в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100; 96,7 и 85,0%-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.

Таблица 25 – Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола с поливинилпирролидоном при желудочно-кишечных стронгилятозах и диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота

Группа	Доза, мг/кг, по ДВ	Число живот- ных	Освободи- лось от инвазии, гол.	Среднее число яиц/личинок нематод в 1 г фекалий, экз.		Снижения числа яиц/личинок нематод, %
				до опыта	после лечения	
Желудочно-кишечные стронгилятозы						
I. СМКФ с ПВП	3,0	10	10	142,3±7,4	0	100
II. СМКФ с ПВП	2,0	10	7	140,2±7,3	5,8±1,7	96,05
III. СМКФ с ПВП	1,0	10	5	140,8±7,5	29,8±2,4	79,71
IV. ФБЗ субстанция	7,5	10	7	138,4±7,1	5,7±1,7	96,12
Контроль	—	10	0	141,2±8,4	146,8±8,2	—
Диктиокаулез						
I. СМКФ с ПВП	3,0	10	10	118,3±6,8	0	100
II. СМКФ с ПВП	2,0	10	9	117,2±6,7	4,0	96,76
III. СМКФ с ПВП	1,0	10	6	119,6±7,1	18,5±2,3	85,01
IV. ФБЗ субстанция	7,5	10	8	120,5±7,0	4,5	96,36
Контроль	—	10	0	117,0±6,8	123,4±6,9	—

При стронгилоидозе телят эффективность СМКФ (таблица 26) в выбранной терапевтической дозе 3,0 мг/кг по ДВ была 100%-ной. Базовый препарат – субстанция фенбендазола в дозе 10,0 мг/кг при данной инвазии проявил 95,4%-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 ($P > 0,05$).

Таблица 26 – **Эффективность СМКФ с ПВП при стронгилоидозе и трихоцефалезе телят**

Препарат	Доза, мг/кг, по ДВ	Число телят	Освобо-дилось от инвазии, гол.	Среднее число яиц нематод в 1 г фекалий, экз.		Снижения числа яиц нематод, %
				до опыта	после лечения	
Стронгилоидоз						
СМКФ	3,0	8	8	108,2±6,3	0	100
ФБЗ	10,0	8	5	107,4±6,7	5,0±0,7	95,47
Контроль	—	8	0	106,8±6,5	110,2±6,3	—
Трихоцефалез						
СМКФ	4,0	8	6	110,9±8,3	3,0±0,9	97,42
ФБЗ	10,0	8	4	109,8±8,8	7,2±1,8	93,80
Контроль	—	8	0	107,8±8,7	116,1±9,0	—

При трихоцефалезе молодняка крупного рогатого скота СМКФ в дозе 4,0 мг/кг проявил 97,4%-ную активность (таблица 26). Эффективность базового препарата в дозе 10,0 мг/кг была 93,8%-ной. Зараженность животных контрольной группы за период наблюдений существенно не изменилась ($P \geq 0,05$).

Таким образом, СМКФ в дозах 3,0; 2,0 и 1,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 100; 96,0 и 79,7%-ную эффективность при стронгилятозах пищеварительного тракта, 100; 96,7 и 85,0%-ную – при диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота; в дозе 3,0 мг/кг при стронгилоидозе телят – 100%-ную, а при трихоцефалезе – 97,4%-ную активность в дозе 4 мг/кг. Доза СМКФ – 3,0 мг/кг по ДВ, оптимальная для лечения молодняка крупного рогатого скота при основных нематодозах.

2.2.6. Влияние супрамолекулярного комплекса фенбендазола на организм сельскохозяйственных животных

2.2.6.1. Влияние повышенных доз препарата на организм овец

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

Таблица 27 – Показатели клинического состояния овец после введения СМКФ с ПВП ($n = 5$; $M \pm m$)

Показатель	Доза, мг/кг, по ДВ	Сутки после введения препарата			
		0	1	3	5
Температура, $^{\circ}\text{C}$	2	$39,6 \pm 0,5$	$39,1 \pm 0,4$	$39,5 \pm 0,3$	$39,6 \pm 0,3$
	6	$38,9 \pm 0,3$	$38,9 \pm 0,4$	$39,2 \pm 0,4$	$39,1 \pm 0,3$
	10	$39,5 \pm 0,2$	$39,6 \pm 0,3$	$39,7 \pm 0,3$	$39,6 \pm 0,3$
Пульс, уд./мин.	2	$72,4 \pm 3,3$	$78,5 \pm 3,3$	$72,7 \pm 3,5$	$72,6 \pm 3,4$
	6	$73,0 \pm 3,2$	$77,7 \pm 3,3$	$77,8 \pm 3,4$	$75,4 \pm 3,2$
	10	$75,6 \pm 3,1$	$72,6 \pm 3,2$	$71,7 \pm 3,3$	$72,2 \pm 3,3$
Число дых. движений	2	$26,7 \pm 2,6$	$23,9 \pm 2,5$	$26,6 \pm 2,4$	$24,9 \pm 2,1$
	6	$27,0 \pm 2,5$	$27,1 \pm 3,1$	$24,9 \pm 2,7$	$26,8 \pm 2,4$
	10	$26,8 \pm 3,4$	$25,0 \pm 3,4$	$29,2 \pm 2,5$	$26,9 \pm 2,3$
Число сокращений рубца за 2 мин.	2	$4,8 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,3$
	6	$4,9 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,3$
	10	$4,8 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$.

Показатели клинического состояния овец контрольной группы в период опыта существенно не изменялись ($P \geq 0,05$) (таблица 28).

**Таблица 28 – Показатели клинического состояния овец
контрольной группы**

Показатель	Сутки после начала опыта			
	0	1	3	5
Температура, °С	39,5±0,4	39,4±0,3	39,1±0,4	39,6±0,3
Пульс, уд./мин.	77,5±4,2	75,6±4,3	71,4±4,1	76,6±4,1
Число дых. движений	26,7±2,5	23,5±2,6	26,8±2,4	25,3±2,4
Число сокращений рубца за 2 мин.	4,8±0,4	4,7±0,3	4,9±0,4	4,7±0,3

Таким образом, введение СМКФ овцам в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах не вызывает изменений в клинических показателях животных, овцы хорошо переносили препарат.

Результаты оценки влияния СМКФ на морфологические показатели крови овец приведены в таблице 29 и свидетельствуют о безопасности применения препарата, который в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенной дозах не оказывал отрицательного влияния на морфологические показатели крови овец. Не установлено существенной разницы в показателях крови овец опытных и контрольной групп ($P \geq 0,05$).

Таблица 29 – Влияние СМКФ с ПВП на гематологические показатели овец (n = 5; M±m)

Показатель	Доза, мг/кг, по ЛВ	Сутки после введения препарата			
		0	1	3	5
Эритроциты, $10^{12}/л$	2	9,05±0,30	9,00±0,35	9,16±0,25	9,08±0,28
	6	8,96±0,24	9,02±0,37	9,06±0,31	9,10±0,30
	10	8,99±0,40	8,92±0,42	9,13±0,37	9,12±0,32
	Контроль	9,07±0,38	9,10±0,40	9,04±0,36	9,06±0,33
Лейкоциты, $10^9/л$	2	9,64±0,40	9,60±0,44	9,57±0,45	9,58±0,44
	6	9,52±0,38	9,54±0,41	9,58±0,42	9,57±0,43
	10	9,50±0,42	9,48±0,36	9,51±0,40	9,52±0,39
	Контроль	9,55±0,41	9,50±0,40	9,52±0,38	9,56±0,43

Гемоглобин, г/л	2	98,5±3,3	98,9±3,7	99,1±3,4	99,1±3,3
	6	106,4±4,1	106,5±3,5	104,5±4,4	105,6±4,3
	10	99,6±3,4	103,4±3,4	102,6±4,1	101,4±3,9
	Контроль	106,6±4,4	105,5±4,4	104,5±4,4	105,5±4,1
Базофилы, %	2	0,52±0,10	0,54±0,11	0,56±0,12	0,58±0,13
	6	0,56±0,12	0,58±0,13	0,60±0,10	0,62±0,12
	10	0,60±0,14	0,62±0,14	0,61±0,13	0,64±0,10
	Контроль	0,55±0,10	0,58±0,12	0,56±0,12	0,60±0,11
Лейкоцитарная формула					
Эозинофилы, %	2	1,56±0,14	1,60±0,17	1,64±0,16	1,60±0,17
	6	1,60±0,16	1,57±0,15	1,70±0,14	1,64±0,14
	10	1,62±0,13	1,62±0,16	1,66±0,16	1,68±0,16
	Контроль	1,58±0,15	1,60±0,14	1,72±0,17	1,70±0,13
Нейтрофилы палочкоядерные, %	2	2,06±0,18	2,14±0,15	2,21±0,20	2,17±0,18
	6	2,17±0,17	2,21±0,17	2,26±0,21	2,24±0,21
	10	2,20±0,20	2,28±0,20	2,18±0,17	2,25±0,22
	Контроль	2,18±0,18	2,30±0,22	2,20±0,20	2,30±0,24
Нейтрофилы сегментоядер- ные, %	2	36,24±3,08	35,70±3,14	36,48±3,27	36,25±3,12
	6	36,44±3,16	36,28±3,06	36,50±3,18	36,63±2,98
	10	35,52±3,20	36,16±3,25	36,60±3,17	36,34±3,04
	Контроль	36,20±3,32	36,24±3,18	36,27±3,05	36,52±3,26
Лимфоциты, %	2	57,26±4,72	57,62±4,46	56,79±4,55	57,02±4,83
	6	56,83±4,60	56,98±4,62	56,54±4,63	56,47±4,75
	10	57,48±4,74	56,91±4,70	56,60±4,70	56,74±4,63
	Контроль	57,15±4,80	56,84±4,63	56,95±4,72	56,51±4,70
Моноциты, %	2	2,36±0,20	2,40±0,26	2,32±0,22	2,38±0,23
	6	2,40±0,22	2,38±0,21	2,40±0,25	2,40±0,25
	10	2,58±0,26	2,41±0,25	2,35±0,26	2,35±0,30
	Контроль	2,34±0,23	2,44±0,30	2,30±0,30	2,37±0,31

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$.

В таблице 30 приведены результаты биохимического исследования крови овец после введения СМКФ в терапевтической дозе (2 мг/кг по ДВ), в 3 и 5 раз повышенных дозах, которые 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±5,8; 252,6±5,6 и 254,7±6,2 Ед/л к 253,8±6,3; 253,2±5,6 и 253,6±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.

Таблица 30 – Влияние СМКФ с ПВП на биохимические показатели крови овец (n =5; M±m)

Показатель	Группа животных и доза	Период после введения препарата, сут			
		0	1	3	5
Амилаза, Ед/л	Контрольная	251,0±3,52	253,8±6,3	253,2±5,6	253,6±5,9
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	253,2±5,6	252,2±6,4	253,4±6,4	252,8±6,8
	2. Опытная (6 мг/кг)	252,8±6,0	251,8±6,2	252,3±5,4	252,8±5,4
	3. Опытная (10 мг/кг)	251,2±6,7	252,2±5,8	252,6±5,6	254,7±6,2
Щелочная фосфатаза, Ед/л	Контрольная	60,8±4,3	61,2±3,8	60,2±4,8	59,2±4,6
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	61,2±4,8	61,4±3,0	62,2±4,4	60,3±4,2
	2. Опытная (6 мг/кг)	61,4±4,0	62,3±4,0	62,8±6,4	62,6±4,2
	3. Опытная (10 мг/кг)	62,2±4,1	60,9±4,4	61,8±3,9	59,6±3,8
Билирубин общий, ммоль/л	Контрольная	3,4±0,5	3,5±0,3	3,6±0,4	3,2±0,4
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	3,3±0,4	3,4±0,2	3,2±0,2	3,2±0,2
	2. Опытная (6 мг/кг)	3,3±0,3	3,3±0,2	3,2±0,3	3,4±0,2
	3. Опытная (10 мг/кг)	3,2±0,3	3,3±0,2	3,3±0,4	3,2±0,3

Креатинин, мкмоль/л	Контрольная	87,4±6,2	88,3±6,4	89,2±6,5	88,2±6,8
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	88,5±6,1	89,3±6,6	89,6±6,8	89,0±6,4
	2. Опытная (6 мг/кг)	87,9±6,6	90,2±6,6	90,3±6,8	89,4±6,3
	3. Опытная (10 мг/кг)	88,0±6,2	91,8±6,8	91,0±6,4	90,3±6,1
Мочевина, ммоль/л	Контрольная	4,6±0,4	4,5±0,4	4,4±0,4	4,4±0,3
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	4,4±0,3	4,4±0,2	4,5±0,3	4,5±0,3
	2. Опытная (6 мг/кг)	4,5±0,3	4,3±0,3	4,5±0,4	4,3±0,4
	3. Опытная (10 мг/кг)	4,3±0,3	4,4±0,3	4,4±0,4	4,3±0,3
Общий белок, г/л	Контрольная	64,2±6,0	60,6±6,2	63,2±5,8	62,8±5,4
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	63,6±6,4	65,2±5,8	65,4±5,2	64,2±5,6
	2. Опытная (6 мг/кг)	63,3±4,6	64,2±4,4	64,2±3,8	63,3±5,2
	3. Опытная (10 мг/кг)	64,8±4,5	64,2±4,6	64,7±4,2	65,0±4,3
Фосфор неорган., ммоль/л	Контрольная	1,5±0,2	1,5±0,2	1,6±0,2	1,6±0,2
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	1,6±0,3	1,6±0,2	1,6±0,3	1,6±0,2
	2. Опытная (6 мг/кг)	1,5±0,2	1,6±0,2	1,5±0,2	1,6±0,2
	3. Опытная (10 мг/кг)	1,7±0,2	1,6±0,3	1,6±0,2	1,6±0,2
Кальций общий, ммоль/л	Контрольная	2,6±0,2	2,6±0,2	2,6±0,3	2,6±0,2
	1.Опытная (2,0 мг/кг)	2,6±0,3	2,6±0,3	2,6±0,2	2,6±0,3

	2. Опытная (6 мг/кг)	2,6±0,2	2,7±0,2	2,7±0,3	2,6±0,3
	3. Опытная (10 мг/кг)	2,6±0,3	2,7±0,3	2,8±0,4	2,6±0,2
Глюкоза, ммоль/л	Контрольная	2,6±0,2	2,6±0,2	2,6±0,2	2,6±0,2
	1. Опытная (2,0 мг/кг)	2,6±0,2	2,7±0,2	2,7±0,2	2,6±0,2
	2. Опытная (6 мг/кг)	2,6±0,2	2,7±0,3	2,6±0,2	2,6±0,2
	3. Опытная (10 мг/кг)	2,6±0,3	2,7±0,3	2,7±0,3	2,6±0,3

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$

Таким образом, СМКФ в терапевтической, в 3 и 5 раз повышенных дозах (6 и 10 мг/кг по ДВ) не оказывает отрицательного влияния на клинический статус, гематологические, биохимические показатели овец, что свидетельствует об отсутствии его токсичности и хорошей переносимости препарата животными.

2.2.6.2. Влияние повышенных доз препарата на организм крупного рогатого скота

Результаты изучения клинического состояния крупного рогатого скота отражены в таблице и свидетельствуют о том, что после перорального введения СМКФ с ПВП в терапевтической и в увеличенных 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 сокращения рубца (4,6–4,8) находились в пределах нормы и не отличались от показателей у животных контрольной группы ($P \geq 0,05$).

Таблица 31 – Показатели клинического состояния крупного рогатого скота после введения СМКФ с ПВП (n = 5; M±m)

Показатель	Доза, мг/кг, по ДВ	Сутки после дачи препарата			
		0	1	3	5
Температура, °С	2	38,0±0,2	37,9±0,3	38,0±0,2	38,0±0,3
	6	37,8±0,3	38,2±0,2	38,1±0,2	37,8±0,2
	10	37,9±0,2	38,0±0,2	38,0±0,2	38,0±0,2
Пульс, уд./мин.	2	59,1±4,2	52,3±4,2	59,1±4,2	59,1±4,1
	6	58,0±5,2	59,2±4,8	66,7±4,8	63,0±5,2
	10	61,0±4,9	60,0±4,3	59,0±5,1	59,0±4,6
Число дых. движений	2	17,9±0,6	17,9±0,4	18,1±0,3	17,9±0,3
	6	18,0±0,4	17,8±0,3	17,9±0,3	18,0±0,4
	10	18,0±0,4	18,0±0,4	17,7±0,3	17,8±0,3
Число сокращений рубца за 2 мин.	2	4,7±0,2	4,6±0,2	4,7±0,2	4,8±0,2
	6	4,6±0,2	4,7±0,2	4,8±0,3	4,8±0,3
	10	4,6±0,3	4,7±0,3	4,8±0,2	4,7±0,3

Показатели клинического состояния крупного рогатого скота контрольной группы в период опыта существенно не изменялись ($P \geq 0,05$) (таблица 32).

Таблица 32 – Показатели клинического состояния крупного рогатого скота контрольной группы

Показатель	Сутки после начала опыта			
	0	1	3	5
Температура, °С	38,1±0,2	38,2±0,3	38,1 ±0,2	38,2±0,2
Пульс, уд./мин.	57,8±2,3	57,5±2,2	58,2±2,3	58,2±2,3
Число сокращений рубца за 2 мин.	4,7±0,2	4,6±0,2	4,7±0,2	4,7±0,2

Результаты оценки влияния СМКФ на морфологические показатели крови крупного рогатого скота приведены в таблице 33 и свидетельствуют о том, что препарат в терапевтической и в повышенных дозах (3, 9 и 15 мг/по ДВ) не оказывал патологического влияния на гематологические показатели крупного рогатого скота.

**Таблица 33. – Влияние СМКФ с ПВП на гематологические показатели
крупного рогатого скота (n = 5; M±m)**

Показатель	Доза, мг/кг, по ДВ	Сутки после дачи препарата			
		0	1	3	5
Эритроциты, 10 ¹² /л	3	5,76±0,23	5,66±0,24	5,72±0,26	5,80±0,30
	9	5,76±0,24	5,62±0,23	5,70±0,30	5,76±0,28
	15	5,78±0,23	5,74±0,26	5,74±0,23	5,78±0,24
	Контроль	5,74±0,25	5,70±0,23	5,72±0,26	5,76±0,30
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	3	8,62±0,28	8,66±0,28	8,64±0,26	8,64±0,24
	9	8,70±0,26	8,70±0,30	8,70±0,28	8,70±0,26
	15	8,63±0,25	8,68±0,26	8,66±0,28	8,72±0,30
	Контроль	8,64±0,27	8,70±0,27	8,64±0,30	8,62±0,30
Гемоглобин, г/л	3	101,1±0,2	102,2±0,2	102,3±0,2	102,3±0,2
	9	100,2±0,2	100,3±0,2	99,9±0,3	100,0±0,2
	15	101,3±0,2	100,4±0,2	100,1±0,2	100,3±0,2
	Контроль	100,4±0,2	101,2±0,1	101,2±0,2	100,8±0,2
Лейкоцитарная формула					
Базофилы, %	3	0,72±0,09	0,68±0,10	0,70±0,09	0,68±0,10
	9	0,70±0,10	0,70±0,10	0,68±0,10	0,70±0,10
	15	0,71±0,10	0,69±0,09	0,70±0,10	0,70±0,09
	Контроль	0,69±0,10	0,68±0,10	0,71±0,10	0,69±0,10
Эозинофилы, %	3	6,50±0,25	6,60±0,30	6,66±0,32	6,65±0,28
	9	6,49±0,29	6,52±0,32	6,63±0,30	6,70±0,32
	15	6,46±0,28	6,48±0,25	6,62±0,31	6,68±0,29
	Контроль	6,30±0,40	6,52±0,40	6,70±0,38	6,70±0,27
Нейтрофилы палочко- ядерные, %	3	6,19±0,26	6,23±0,36	6,22±0,28	6,28±0,30
	9	6,23±0,30	6,30±0,30	6,24±0,26	6,20±0,26
	15	6,24±0,30	6,24±0,29	6,30±0,28	6,23±0,25
	Контроль	6,24±0,29	6,26±0,26	6,31±0,30	6,26±0,28
Нейтрофилы сегменто- ядерные, %	3	21,20±2,20	21,26±2,26	21,62±2,24	21,30±2,28
	9	21,18±2,34	21,30±2,32	21,30±2,20	20,98±2,30
	15	20,64±2,22	21,04±2,36	21,23±2,38	21,18±2,26
	Контроль	21,40±2,28	21,32±2,20	21,30±2,26	21,30±2,42
Лимфоциты, %	3	61,29±5,26	61,23±4,23	60,70±3,76	60,89±4,46
	9	61,20±4,42	61,08±4,48	61,05±4,84	61,32±4,24
	15	61,75±4,16	61,35±3,65	60,95±5,20	61,11±3,26
	Контроль	61,27±4,26	61,12±3,22	60,78±3,62	60,85±4,25
Моноциты, %	3	4,1±0,1	4,0±0,2	4,1±0,1	4,2±0,2
	9	4,2±0,2	4,1±0,2	4,1±0,2	4,1±0,2
	15	4,2±0,2	4,2±0,2	4,2±0,2	4,1±0,2
	Контроль	4,1±0,2	4,1±0,1	4,2±0,2	4,2±0,2

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$.

СМКФ в терапевтической, в три и пять раз повышенных дозах не оказывал отрицательного влияния на биохимические показатели крови крупного рогатого скота (таблица 34).

При исследовании крови животных опытной группы, получавших дозу 15 мг/кг по ДВ на 1, 3 и 5-е сутки показатели активности амилазы были сравнимы с данными животных контрольной группы. Показатели активности щелочной фосфатазы подопытной группы животных, получавших препарат в дозе 15 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, в 3 и 5 раз увеличенных дозах не оказывает токсического влияния на функции печени, почек, поджелудочной железы и работу других внутренних органов телок.

Таблица 34 – Влияние СМКФ с ПВП на биохимические показатели крови крупного рогатого скота ($n = 5$; $M \pm m$)

Показатель	Группа животных и доза	Период после введения препарата, сут			
		0	1	3	5
Амилаза, Ед/л	Контрольная	41,0 $\pm$ 3,52	41,6 $\pm$ 3,52	40,2 $\pm$ 3,59	41,1 $\pm$ 3,90
	1. Опытная (3 мг/кг)	41,3 $\pm$ 3,50	41,4 $\pm$ 3,54	41,7 $\pm$ 3,48	41,9 $\pm$ 3,44
	2. Опытная (9 мг/кг)	41,8 $\pm$ 3,60	41,7 $\pm$ 3,56	42,0 $\pm$ 3,61	41,8 $\pm$ 3,72
	3. Опытная (15 мг/кг)	41,5 $\pm$ 4,05	41,6 $\pm$ 4,02	41,2 $\pm$ 3,75	41,9 $\pm$ 3,80
Щелочная фосфатаза, Ед/л	Контрольная	74,5 $\pm$ 5,47	75,2 $\pm$ 5,42	71,7 $\pm$ 5,33	73,0 $\pm$ 5,40
	1. Опытная (3 мг/кг)	75,0 $\pm$ 5,42	75,4 $\pm$ 5,56	73,6 $\pm$ 5,60	74,2 $\pm$ 5,52
	2. Опытная (9 мг/кг)	74,7 $\pm$ 5,20	72,2 $\pm$ 4,80	74,8 $\pm$ 5,21	75,0 $\pm$ 5,16

	3. Опытная (15 мг/кг)	75,3±5,23	75,6±4,69	70,2±4,96	74,3±5,24
Билирубин общий, ммоль/л	Контрольная	13,0±1,27	12,8±1,25	12,9±1,20	12,8±1,30
	1. Опытная (3 мг/кг)	12,8±1,26	12,7±1,30	12,06±1,31	13,1±1,34
	2. Опытная (9 мг/кг)	12,6±1,31	12,8±1,28	12,9±1,42	13,2±1,27
	3. Опытная (15 мг/кг)	13,1±1,25	12,9±1,32	12,8±1,36	12,9±1,30
Креатинин, мкмоль/л	Контрольная	76,3±5,14	76,0±5,40	77,0±4,83	77,4±5,25
	1. Опытная (3 мг/кг)	77,2±5,30	76,5±5,16	77,1±4,90	75,2±5,31
	2. Опытная (9 мг/кг)	77,4±5,42	75,0±5,32	73,8±5,15	74,6±5,17
	3. Опытная (15 мг/кг)	76,5±7,96	77,8±5,16	74,9±5,41	76,8±5,42
Мочевина, ммоль/л	Контрольная	4,4±0,42	4,9± 0,40	4,8±0,38	7,8±0,40
	1. Опытная (3 мг/кг)	5,0±0,36	4,8±0,42	4,4±0,40	4,8±0,38
	2. Опытная (9 мг/кг)	5,0±0,40	4,8±0,39	4,8±0,41	4,8±0,38
	3. Опытная (15 мг/кг)	5,0±0,44	4,9±0,45	4,9±0,42	4,9±0,43
Общий белок, г/л	Контрольная	73,4±5,62	74,3±5,16	73,7±5,20	74,0±5,15
	1. Опытная (3 мг/кг)	75,0±5,16	75,2±5,4	74,7±5,32	74,4±5,21
	2. Опытная (9 мг/кг)	74,2±5,23	75,0±5,3	75,3±5,43	74,4±5,33
	3. Опытная (15 мг/кг)	74,5±5,17	74,8±5,25	74,7±5,30	75,0±5,27

Фосфор неорг., ммоль/л	Контрольная	1,8±0,21	1,7±0,22	1,7±0,2	1,8±0,22
	1. Опытная (3 мг/кг)	1,7±0,20	1,7±0,17	1,8±0,21	1,7±0,19
	2. Опытная (9 мг/кг)	1,7±0,19	1,7±0,18	1,7±0,20	1,7±0,18
	3. Опытная (15 мг/кг)	1,8±0,22	1,8±0,17	1,7±0,17	1,7±0,16
Кальций общий, ммоль/л	Контрольная	2,5±0,20	2,5±0,19	2,4±0,22	2,4±0,21
	1. Опытная (3 мг/кг)	2,4±0,17	2,5±0,18	2,5±0,20	2,4±0,18
	2. Опытная (9 мг/кг)	2,5±0,20	2,5±0,17	2,5±0,17	2,5±0,19
	3. Опытная (15 мг/кг)	2,5±0,21	2,4±0,18	2,4±0,19	2,5±0,20
Глюкоза, ммоль/л	Контрольная	2,9±0,17	2,9±0,18	2,9±0,20	2,9±0,21
	1. Опытная (3 мг/кг)	2,9±0,20	3,0±0,21	2,9±0,21	2,9±0,20
	2. Опытная (9 мг/кг)	3,0±0,21	3,0±0,20	3,0±0,21	2,9±0,20
	3. Опытная (15 мг/кг)	3,0±0,20	3,0±0,22	3,0±0,19	2,9±0,19

Примечание: во всех случаях $P \geq 0,05$.

Таким образом, СМКФ в терапевтической и в 3 и 5 раз повышенных дозах (9 и 15 мг/кг по ДВ) не оказывал отрицательного влияния на клинический статус, гематологические, биохимические показатели молодняка крупного рогатого скота, что свидетельствует 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

В связи с тем, что фенбендазол достаточно плохо растворим в воде, то при пероральном введении обладает слабой абсорбцией. После абсорбции фенбендазол последовательно метаболизируется в печени за счет окисления до сульфоксида ФБЗ – его основного метаболита и затем до сульфона ФБЗ микросомальными ферментами печени семейства цитохрома P450 (CYP) и флавинсодержащей монооксигеназой. За счет энтерогепатической циркуляции сульфоксид попадает в рубец, где микрофлора обратно трансформирует его в фенбендазол, что повышает биодоступность препарата у жвачных. Поэтому существует относительно высокая корреляция между уровнем препарата в плазме крови и содержанием пищеварительного тракта жвачных, что является следствием процесса рециркуляции, который потенциально может подвергать гельминтов воздействию фенбендазола и его метаболитов в течение довольно продолжительного времени. Выведение происходит в основном с фекалиями. У овец и крупного рогатого скота через 6 суток после приема фенбендазола внутрь около 35% введенной дозы выводится в неизменном состоянии и только 5% метаболизируется. Небольшое количество препарата выводится с мочой, в основном в виде метаболитов [203, 229].

Для проведения анализа по определению содержания фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови и органах и тканях овец методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) была проведена валидация методики.

Для количественного определения фенбендазола, фенбендазола сульфоксида и фенбендазола сульфона методом MRM (Multiple reaction

monitoring) было проведено исследование распада ионов под действием бомбардирующего потока молекул азота с последующим разрешением продуктов распада. Было установлено, что основные фрагменты фенбендазола имеют массы с m/z равные 268 Da и 159 Da, их использовали в дальнейшем для количественного определения его количества по методу MRM (m/z 268 Da) и качественного подтверждения принадлежности пика (m/z 159 Da). Для фенбендазола сульфоксида для количественного определения был использован фрагмент с m/z 159 Da, а для качественного подтверждения были использованы фрагменты с m/z 191 Da. Для фенбендазола сульфона для количественного определения был использован фрагмент с m/z 300 Da, а для качественного подтверждения были использован фрагмент с m/z 159 Da. Для количественного подтверждения внутреннего стандарта был использован фрагмент с m/z 264.1 Da (таблица 35).

Таблица 35 – **Параметры ионизации фенбендазола и его метаболитов**

Соединение	MRM-переход	Параметры ионизации/фрагментации	Назначение
Фенбендазол	300,1→268	FR=140, CE=20	Количественное определение
	300,1→159	FR=140, CE=30	Качественное подтверждение
Фенбендазола сульфоксид	316,0→159	FR=140, CE=30	Количественное подтверждение
	316,0→191	FR=140, CE=15	Качественное подтверждение
Фенбендазола сульфон	332,0→300	FR=100, CE=15	Количественное определение
	332,0→159	FR=100, CE=30	Качественное подтверждение
Фенбендазол (внутренний стандарт)	296,0→264,1	FR=135, CE=40	Количественное определение

Для определения времени удерживания анализируемых компонентов для последующей идентификации и определения концентрации аналитов использовали процедуру калибровки хроматографических данных.

Полученные результаты калибровки в биоматрицах приведены в таблицах 36–47 и на рисунках 18–29. Так как матричный эффект экстрактов сыворотки крови и экстрактов мышечной ткани оказался одинаков, то для дальнейшего расчёта концентраций в опытных образцах сыворотки крови использовалась калибровочная зависимость для мышечной ткани.

Таблица 36 – Калибровка фенбендазола в мышечной ткани

C_{FEN} , нг/г	Площадь пика _(FEN) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	1,4293	1.5096	1.3142	1.4177	6.9	11.4
25	2.1689	2.2308	2.2194	2.2064	1.5	-9.1
100	5.8998	5.8919	6.0048	5.9321	1.1	3.8
250	13.1812	12.4051	12.7121	12.7661	3.1	1.0
500	24.0022	23.7335	23.6988	23.8115	0.7	-1.4
1000	47.6457	47.8798	46.2199	47.2484	1.9	0.3

Таблица 37 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в мышечной ткани

$C_{FEN SO}$, нг/г	Площадь пика _(FEN SO) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	7.6178	7.5114	7.4712	7.5335	1.0	4.5
25	8.6911	8.8520	9.1092	8.8841	2.4	-4.8
100	13.5220	13.3499	13.4111	13.4277	0.6	-13.7
250	24.5000	26.3139	24.1439	24.9859	4.7	-1.8
500	45.5474	47.4269	45.2680	46.0807	2.5	7.2
1000	80.0663	78.6786	77.3803	78.7084	1.7	-1.5

Таблица 38 – Калибровка фенбендазола сульфона в мышечной ткани

$C_{FEN SO_2}$, нг/г	Площадь пика _(FEN SO_2) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	4.0286	4.0018	4.0140	4.0148	0.3	-5.9
25	5.3185	5.4469	5.4128	5.3928	1.2	-11.5
100	11.7103	11.7266	11.4231	11.6200	1.5	0.9
250	22.2184	21.5172	21.4121	21.7159	2.0	-8.6
500	45.4526	47.7616	45.0257	46.0800	3.2	7.3
1000	82.1914	82.3356	80.5244	81.6838	1.2	-1.3

Таблица 39 – Калибровка фенбендазола в печени

C _{FEN} , нг/г	Площадь пика _(FEN) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	5.1834	4.8276	4.7202	4.9104	4.9	-2.2
25	6.9252	6.5296	8.3967	7.2838	13.5	11.5
100	14.6461	14.3203	14.5289	14.4984	1.1	-2.3
250	31.8121	32.3844	32.2761	32.1575	0.9	7.5
500	54.0525	54.7173	52.6624	53.8108	1.9	-4.3
1000	95.7874	99.1311	96.8538	97.2574	1.8	-10.1

Таблица 40 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в печени

C _{FEN SO} , нг/г	Площадь пика _(FEN SO) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	5.9147	5.8805	5.8761	5.8904	0.4	-16.5
25	6.8779	6.8759	7.1322	6.9620	2.1	-11.1
100	10.9190	10.7616	10.9714	10.8840	1.0	-11.8
250	20.9605	21.3143	21.1393	21.1380	0.8	4.3
500	36.9716	35.9693	35.2228	36.0546	2.4	2.4
1000	63.8441	66.0391	63.9282	64.6038	1.9	-0.7

Таблица 41 – Калибровка фенбендазола сульфона в печени

C _{FEN SO2} , нг/г	Площадь пика _(FEN SO2) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	5.5117	5.5494	5.5069	5.5227	0.4	9.8
25	6.6763	6.7864	6.9719	6.8116	2.2	-7.8
100	11.4443	11.4773	11.6421	11.5213	0.9	-12.7
250	23.7645	23.8950	23.9279	23.8625	0.4	2.2
500	43.7972	43.2056	42.2452	43.0827	1.8	3.5
1000	76.8861	79.6118	77.0000	77.8326	2.0	-0.9

Таблица 42 – Калибровка фенбендазола в почках

C _{FEN} , нг/г	Площадь пика _(FEN) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	2.2775	2.3501	2.1572	2.2616	4.3	-0.5
25	4.1749	4.2698	4.2046	4.2164	1.2	1.3
100	12.4018	11.3643	11.9165	11.8942	4.4	5.3
250	24.7660	25.6430	25.3189	25.2426	1.8	-2.3
500	50.0157	48.9435	48.9884	49.3159	1.2	-1.0
1000	95.4598	96.2787	93.5373	95.0919	1.5	-2.8

Таблица 43 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в почках

C _{FEN SO₂} , нг/г	Площадь пика _(FEN SO₂) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	1.1696	1.2254	1.1509	1.1820	3.3	-0.7
25	3.8356	3.8636	4.0427	3.9140	2.9	4.0
100	13.5828	12.6500	13.0981	13.1103	3.6	-3.2
250	33.6283	36.0000	35.4488	35.0257	3.5	6.2
500	64.4026	63.7047	64.4324	64.1799	0.6	-2.0
1000	126.1701	126.1099	122.8261	125.0353	1.5	-4.2

Таблица 44 – Калибровка фенбендазола сульфона в почках

C _{FEN SO₂} , нг/г	Площадь пика _(FEN SO₂) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε, %
	1	2	3	Среднее		
5	1.2379	1.1663	1.1572	1.1871	3.7	-0.2
25	4.0777	3.9648	4.2855	4.1093	4.0	1.8
100	14.6503	13.5957	14.4949	14.2470	4.0	-3.6
250	35.7009	38.3904	37.5446	37.2120	3.7	2.9
500	72.8627	71.3248	72.2960	72.1612	1.1	0.4
1000	141.6630	142.7197	139.9425	141.4418	1.0	-1.3

Таблица 45 – Калибровка фенбендазола в коже с подкожной жировой клетчаткой

C_{FEN} , нг/г	Площадь пика _(FEN) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	1.3879	1.2479	1.2420	1.2926	6.4	0.3
25	3.2095	2.8480	3.1946	3.0840	6.6	0.3
100	8.0296	9.4790	9.2551	8.9212	8.7	-9.6
250	23.2240	25.6043	24.9145	24.5810	5.0	6.3
500	46.7273	48.0280	49.5496	48.1016	2.9	5.8
1000	76.1358	94.9564	91.4824	87.5248	11.4	-3.0

Таблица 46 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в коже с подкожной жировой клетчаткой

$C_{FEN SO_2}$, нг/г	Площадь пика _(FEN SO_2) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	0.6308	0.5598	0.5434	0.5780	8.0	-0.1
25	2.7601	2.4377	2.6913	2.6297	6.5	3.2
100	8.2815	9.2269	9.0769	8.8618	5.7	-11.0
250	22.4480	24.6522	24.2650	23.7884	4.9	-3.8
500	47.4509	50.4560	49.2290	49.0453	3.1	-0.7
1000	102.4648	116.6073	113.6972	110.9231	6.7	12.4

Таблица 47 – Калибровка фенбендазола сульфона в коже с подкожной жировой клетчаткой

$C_{FEN SO_2}$, нг/г	Площадь пика _(FEN SO_2) / Площадь пика _(IS)				RSD, %	ε , %
	1	2	3	Среднее		
5	0.6542	0.5897	0.6256	0.6232	5.2	0.1
25	2.8480	2.5380	2.8087	2.7316	6.2	2.3
100	8.5963	9.5000	9.2105	9.1023	5.1	-12.3
250	24.7160	26.4348	25.7265	25.6258	3.4	-0.5
500	51.6291	56.3040	54.4198	54.1176	4.3	5.3
1000	102.3870	120.7200	116.5493	113.2188	8.5	10.3

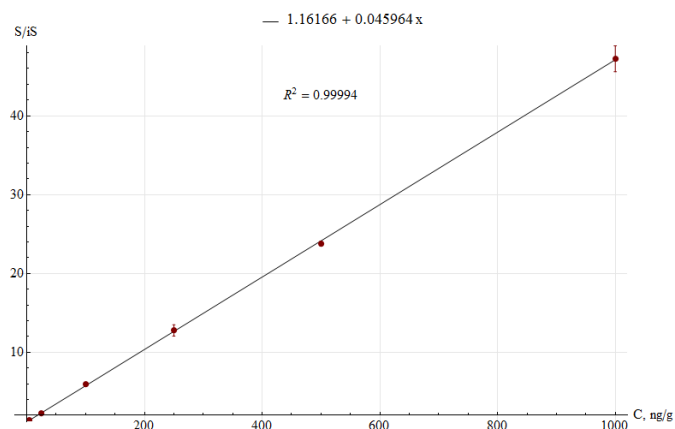


Рисунок 18 – Калибровка фенбендазола в мышечной ткани

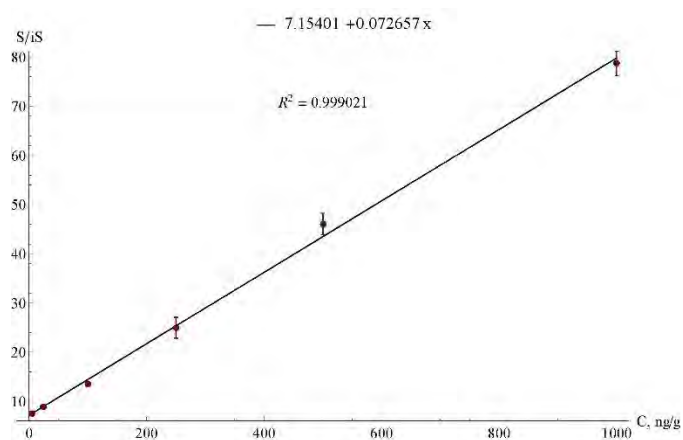


Рисунок 19 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в мышечной ткани

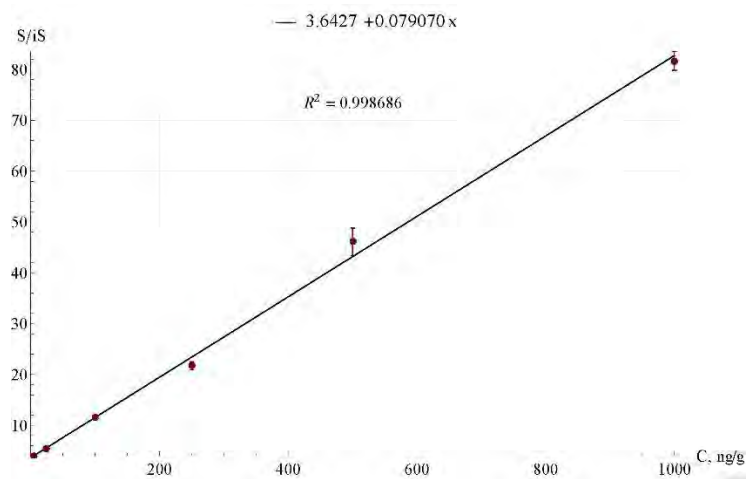


Рисунок 20 – Калибровка фенбендазола сульфона в мышечной ткани

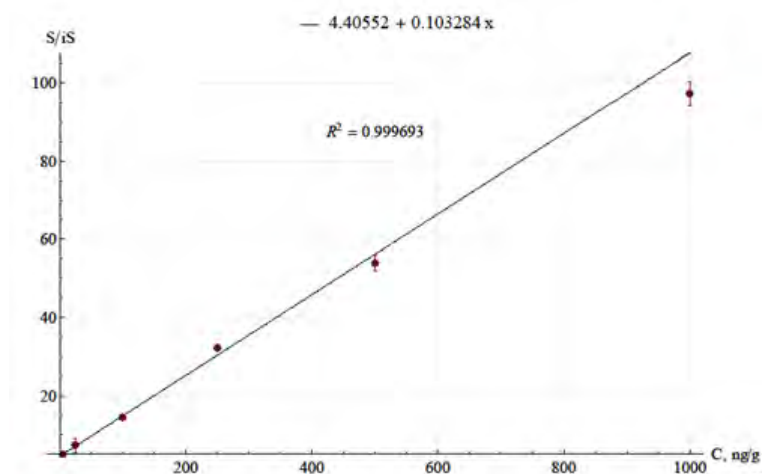


Рисунок 21 – Калибровка фенбендазола в печени

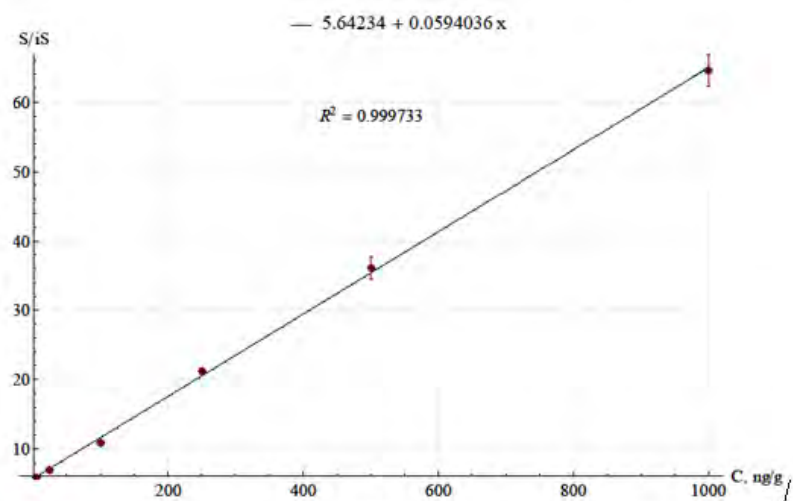


Рисунок 22 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в печени

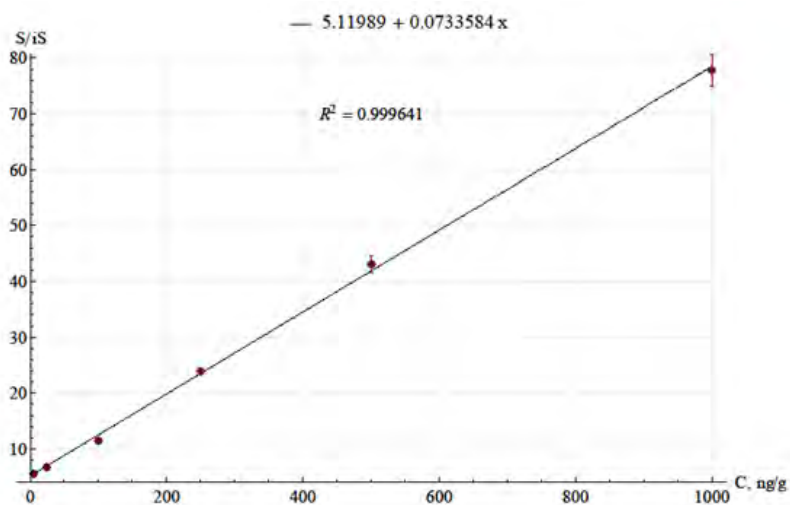


Рисунок 23 – Калибровка фенбендазола сульфона в печени

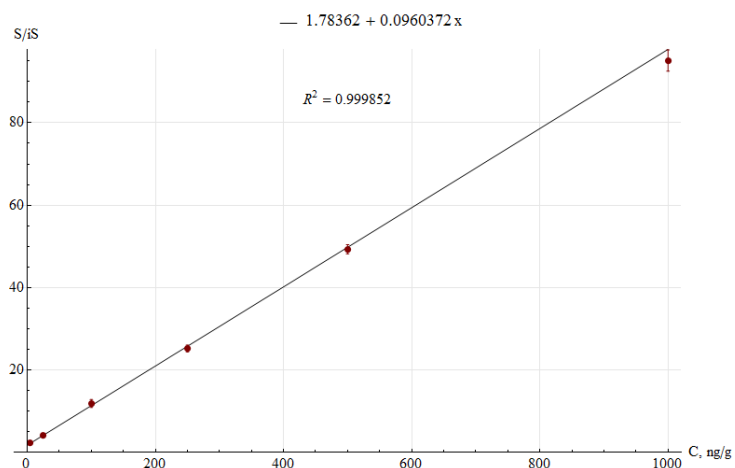


Рисунок 24 – Калибровка фенбендазола в почках

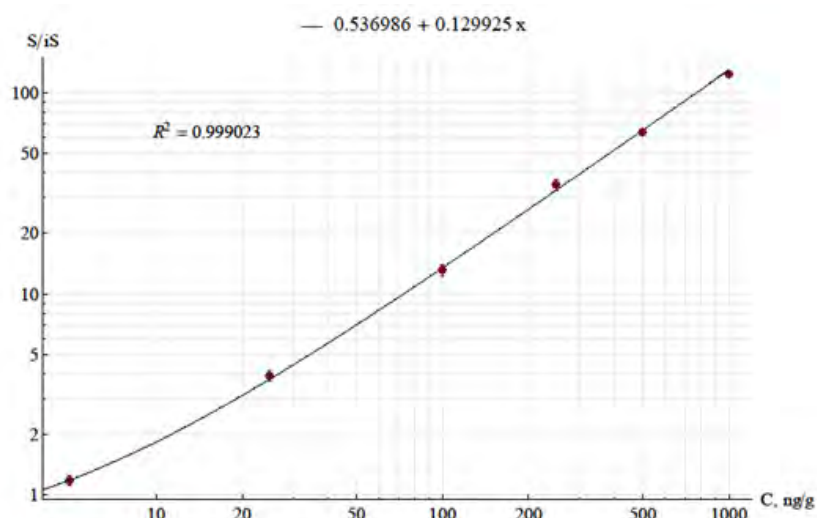


Рисунок 25 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в почках

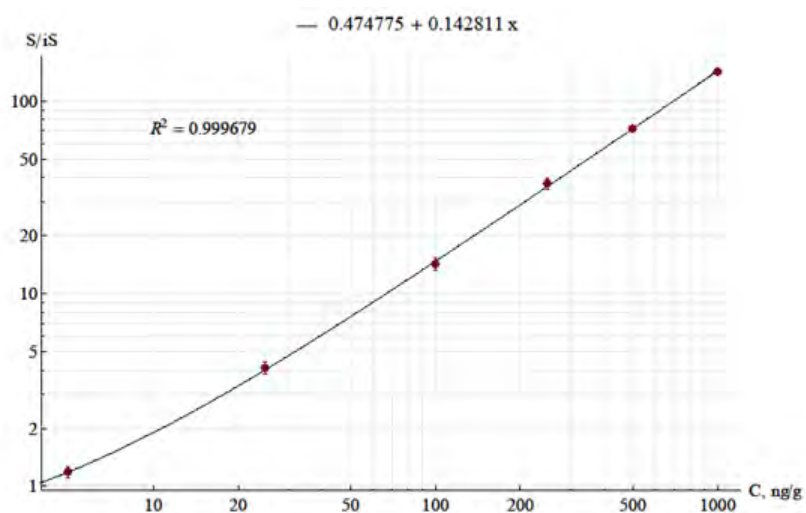


Рисунок 26 – Калибровка фенбендазола сульфона в почках

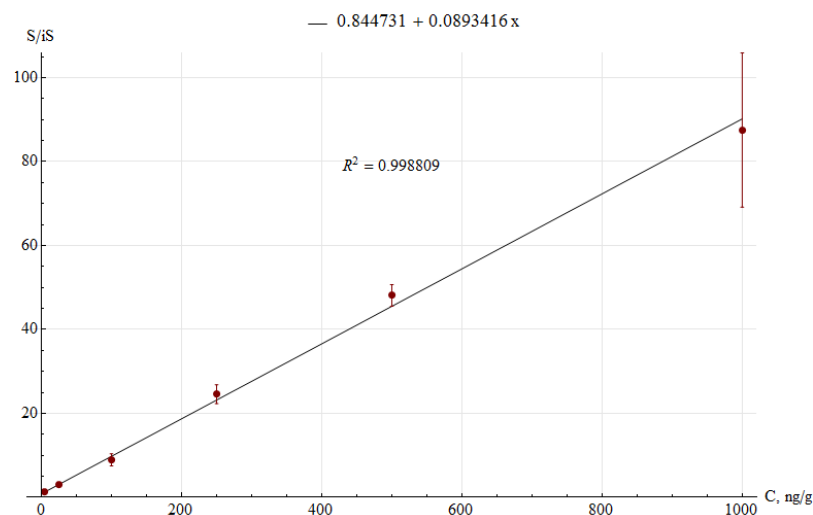


Рисунок 27 – Калибровка фенбендазола в коже с подкожной жировой клетчаткой

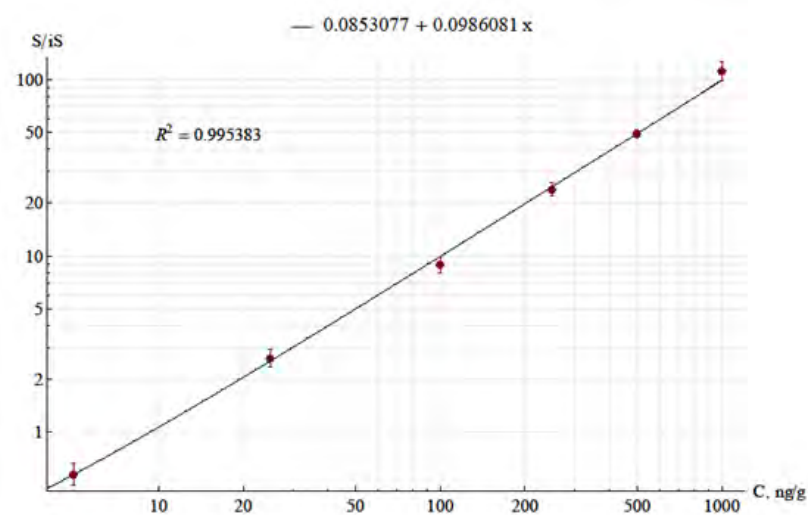


Рисунок 28 – Калибровка фенбендазола сульфоксида в коже с подкожной жировой клетчаткой

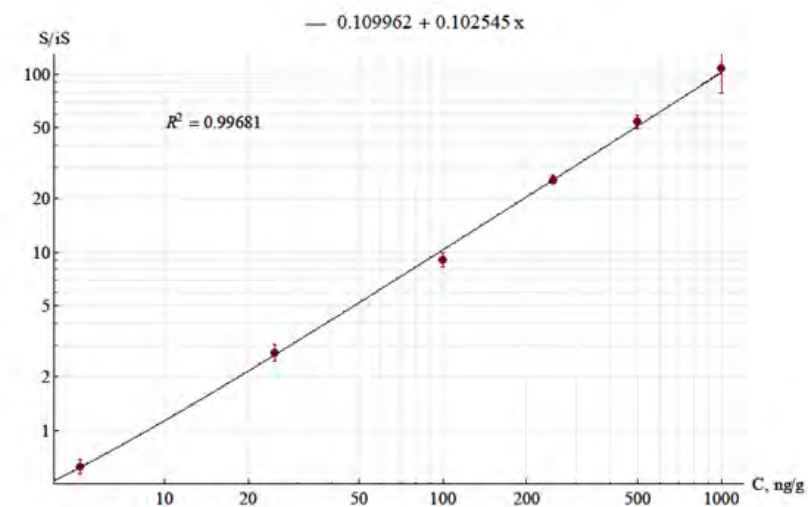


Рисунок 29. – Калибровка фенбендазола сульфона в коже с подкожной жировой клетчаткой

Полученные коэффициенты корреляции свидетельствуют о высокой степени линейности откликов хромато-масс-спектрометрической системы в данном диапазоне концентраций.

Коэффициенты интерполяции (таблица 48) найденных линейных зависимостей использовали в дальнейшем при определении содержания аналитов в опытных образцах органов и тканей овец, а также контрольных образцах биоматриц.

Таблица 48 – Коэффициенты интерполяции калибровочных зависимостей

Матрица / Коэффициент*	Фенбендазол		Фенбендазола сульфоксид		Фенбендазола сульфон	
	k	b	k	b	k	b
Мышцы и сыворотка крови	0.0460	1.1617	0.0727	7.1540	0.0791	3.6427
Печень	0.1033	4.4055	0.0594	5.6423	0.0734	5.1199
Почки	0.0960	1.7836	0.1299	0.5370	0.1428	0.4748
Кожа и жир	0.0893	0.8447	0.0986	0.0853	0.1025	0.1100

Примечание: * k – угловой коэффициент; b – свободный коэффициент

Для оценки потерь аналитов в процессе пробоподготовки и оценки влияния матрицы экстракта на отклики, были изучены степени извлечения аналитов. Значения средних степеней извлечения фенбендазола из биоматриц составили 85,7% – для мышечной ткани, 82,7% – для печени, 88,5% – для почек и 78,0% – для кожи с подкожной жировой клетчаткой, для фенбендазола сульфоксида 99,9% – для мышечной ткани, 103,5% – для печени, 89,5% – для почек и 96,5% – для кожи с подкожной жировой клетчаткой, для фенбендазола сульфона 81,8 % – для мышечной ткани, 103,9% – для печени, 85,8% – для почек и 102,6% – для кожи с подкожной жировой клетчаткой.

Полученные результаты определения степеней извлечения аналитов представлены в таблицах 49–51.

Таблица 49 – Степени извлечения фенбендазола из органов и тканей овец

Матрица	Концентрация, нг/г	Степень извлечения (<i>E</i>), %				RSD, %
		Номер инъекции			<i>E</i> _{ср}	
		1	2	3		
Мышечная ткань	5	100.8	106.4	92.7	100.0	6.9
	250	85.8	80.7	82.7	83.1	3.1
	1000	74.7	75.0	72.4	74.0	1.9
Печень	5	101.1	94.1	92.1	95.8	4.9
	250	69.5	70.7	70.5	70.2	0.9
	1000	80.9	83.7	81.8	82.1	1.7
Почки	5	79.9	86.2	79.1	81.7	4.8
	250	93.6	96.1	98.3	96.0	2.4
	1000	87.6	87.0	88.8	87.8	1.0
Кожа с подкожной жировой клетчаткой	5	90.7	81.5	81.2	84.5	6.4
	250	68.1	75	73	72.0	4.9
	1000	67.5	84.2	81.1	77.6	11.4

Таблица 50 – Степени извлечения фенбендазола сульфоксида из органов и тканей овец

Матрица	Концентрация, нг/г	Степень извлечения (<i>E</i>), %				RSD, %
		Номер инъекции			<i>E</i> _{ср}	
		1	2	3		
Мышечная ткань	5	106.5	105	104.5	105.3	1.0
	250	102.1	109.7	100.6	104.1	4.7
	1000	91.9	90.3	88.8	90.3	1.7
Печень	5	105.1	104.5	104.5	104.7	0.3
	250	102.5	104.2	103.4	103.4	0.8
	1000	101.1	104.6	101.2	102.3	1.9
Почки	5	74.3	74.5	74.6	74.5	0.2
	250	95.5	101.5	103.9	100.3	4.3
	1000	95.3	95.0	91.0	93.8	2.6
Кожа с подкожной жировой клетчаткой	5	94.1	99.3	90	94.5	4.9
	250	103	92.9	105.7	100.5	6.7
	1000	82.9	97.2	103.0	94.4	11.0

Таблица 51 – Степени извлечения фенбендазола сульфона из органов и тканей овец

Матрица	Концентрация, нг/г	Степень извлечения (<i>E</i>), %				RSD, %
		Номер инъекции			<i>E</i> _{ср}	
		1	2	3		
Мышечная ткань	5	76	75.5	75.7	75.7	0.3
	250	78.7	76.3	75.9	77.0	2
	1000	93.2	93.3	91.3	92.6	1.2
Печень	5	98	98.6	97.9	98.2	0.4
	250	104.6	109.4	107.6	107.2	2.3
	1000	106.0	108.8	104.0	106.3	2.3
Почки	5	73.9	71.7	76.8	74.1	3.5
	250	86.3	85.6	92.7	88.2	4.4
	1000	95.9	96.4	92.9	95.1	2.0
Кожа с подкожной жировой клетчаткой	5	96.3	103.2	90.1	96.5	6.8
	250	99.4	105.2	103.2	102.6	2.9
	1000	116.4	109.1	100.4	108.6	7.4

Подтверждение специфичности методики было выполнено на основании хроматограмм экстрактов холостых проб тканей и сыворотки крови овец (без добавления аналита). Было установлено, что остаточные пики шума сигналов в области времён удерживания анализируемых соединений не влияют на результаты количественного определения в диапазоне калибровки (5-1000 нг/г). Методика позволяет достоверно отделять отклики аналита от матричных за счёт использования высокоселективного масс-спектрометрического детектирования, хроматографического разделения и подтверждения принадлежности пиков с помощью ионного отношения.

Примеры хроматограмм холостого образца, использованного для подтверждения специфичности, приведены на рисунках 30–32. На хроматограммах выделены пики шума при времени удерживания, соответствующему времени удерживания анализируемых соединений.

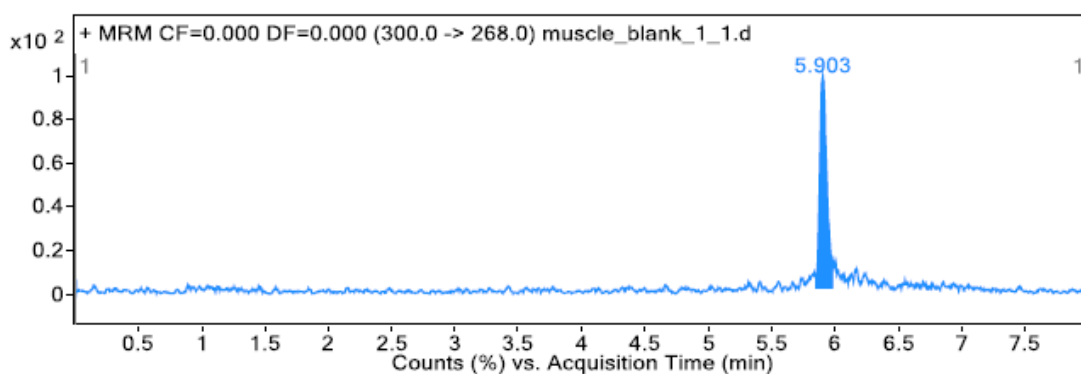


Рисунок 30 – Пример хроматограммы экстракта холостой пробы мышечной ткани с выделенным пиком шума базовой линии на времени удерживания фенбендазола

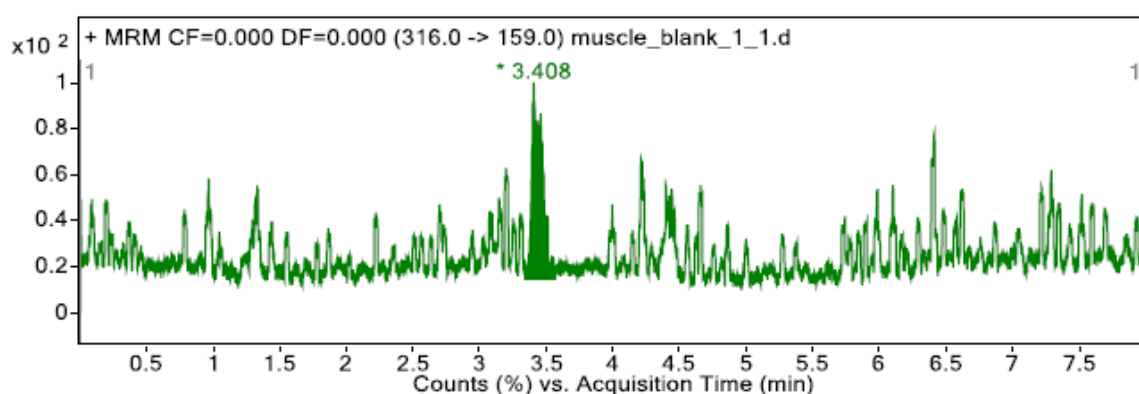


Рисунок 31 – Пример хроматограммы экстракта холостой пробы мышечной ткани с выделенным пиком шума базовой линии на времени удерживания фенбендазола сульфоксида

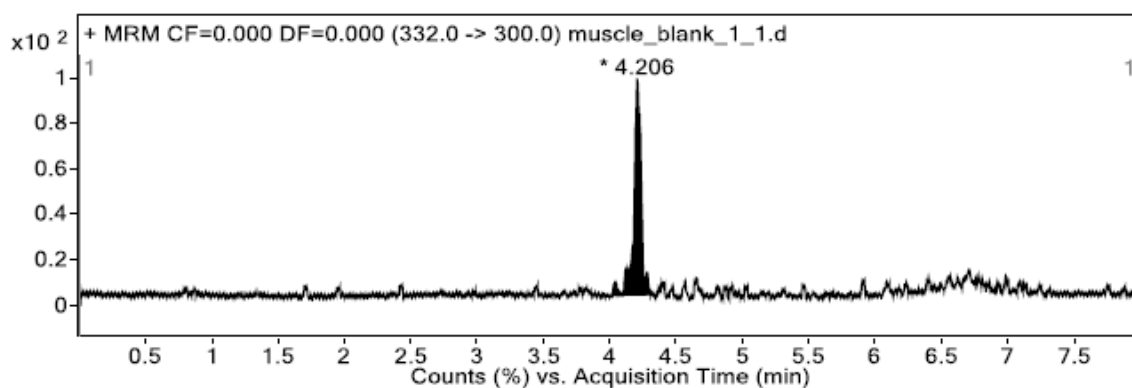


Рисунок 32 – Пример хроматограммы экстракта холостой пробы мышечной ткани с выделенным пиком шума базовой линии на времени удерживания фенбендазола сульфона

Рассчитанные значения пределов качественного и количественного (LOD и LOQ, соответственно) определения фенбендазола и его метаболитов в органах тканей и сыворотке крови приведены в таблице 52.

Таблица 52 – Определение LOD и LOQ аналитов в органах и тканях

Матрица / Параметр	Фенбендазол		Фенбендазола сульфоксид		Фенбендазола сульфон	
	LOD, нг/г	LOQ, нг/г	LOD, нг/г	LOQ, нг/г	LOD, нг/г	LOQ, нг/г
Мышцы и сыворотка крови	1.5	4.5	1.2	3.5	1.2	3.7
Печень	1.4	4.2	1.3	4.0	1.4	4.3
Почки	1.6	4.8	1.3	4.1	1.4	4.2
Кожа и жир	1.3	4.4	1.5	4.5	1.6	4.8

Данные по оценке показателей правильности, прецизионности и стабильности калибровочной зависимости методики, представлены в таблицах 53–64.

Таблица 53 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола в мышечной ткани

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.7	5.5	5.1	243.6	250.7	247.5	1039.0	1000.2	1003.5
2	5.2	5.2	4.7	264.3	248.5	246.2	954.4	1027.0	1077.5
3	5.4	5.7	4.9	253.8	253.1	256.6	958.7	1046.4	1083.4
Среднее значение	5.4	5.5	4.9	253.9	250.7	250.1	984.0	1024.5	1054.8
СКО, %	4.7	4.6	4.1	4.1	0.9	2.3	4.8	2.3	4.2
Внутригрупповое смещение ϵ , %	8.0	10.0	-2.0	1.6	0.3	0.0	-1.6	2.5	5.5
Общее среднее	5.3			251.6			1021.1		
Среднее смещение ϵ , %	6.0			0.6			2.1		
σ_r , %СКО повторяемости	4.5			2.8			3.9		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	10.5			1.4			6.0		

Таблица 54 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфоксида в мышечной ткани

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	4.2	4.5	4.7	244.0	251.4	253.3	1094.5	1009.1	1045.6
2	5.4	4.3	5.0	245.1	260.3	249.2	983.1	1039.5	1012.1
3	5.6	4.7	5.9	247.2	246.6	249.1	931.1	1052.5	985.8
Среднее значение	5.1	4.5	5.2	245.4	252.8	250.5	1002.9	1033.7	1014.5
СКО, %	14.8	4.4	12.0	0.7	2.7	0.9	8.3	2.2	3.0
Внутригрупповое смещение ϵ , %	2.0	-10.0	4.0	-1.8	1.1	0.2	0.3	3.4	1.5
Общее среднее	4.9			249.6			1017.0		
Среднее смещение ϵ , %	-2.0			-0.2			1.7		
σ_r , %СКО повторяемости	11.7			1.7			5.2		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	13.1			2.6			2.7		

Таблица 55 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфона в мышечной ткани

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.5	5.1	4.9	252.4	251.4	243.3	1004.3	1006.1	1011.3
2	4.9	5.0	4.9	253.2	262.5	229.6	965.3	1008.6	1001.1
3	4.9	5.5	5.6	247.7	247.5	240.1	967.5	1032.7	1022.4
Среднее значение	5.1	5.2	5.1	251.1	253.8	237.7	979.0	1015.8	1011.6
СКО, %	6.8	5.1	7.9	1.2	3.1	3.0	2.2	1.4	1.1
Внутригрупповое смещение ϵ , %	2.0	4.0	2.0	0.4	1.5	-4.9	-2.1	1.6	1.2
Общее среднее	5.1			247.5			1002.2		
Среднее смещение ϵ , %	2.0			-1.0			0.2		
σ_r , %СКО повторяемости	6.7			2.6			1.6		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	1.7			6.0			3.5		

Таблица 56 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола в печени

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.9	5.2	5.3	243.9	255.9	270.5	1000.5	899.2	987.1
2	4.1	5.2	5.7	260.8	273.8	275.8	927.4	928.8	981.1
3	4.6	4.5	5.1	226.3	267.6	284.4	958.3	888.1	933.2
Среднее значение	4.9	5.0	5.4	243.7	265.8	276.9	962.1	905.3	967.1
СКО, %	19.0	8.1	5.7	7.1	3.4	2.5	3.8	2.3	3.1
Внутригрупповое смещение ε , %	-2.0	0.0	8.0	-2.5	6.3	10.8	-3.8	-9.5	-3.3
Общее среднее	5.1			262.1			944.9		
Среднее смещение ε , %	2.0			4.8			-5.5		
σ_r , %СКО повторяемости	12.1			4.6			3.2		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	9.0			11.2			6.3		

Таблица 57 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфоксида в печени

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.5	5.5	4.5	245.6	266.2	250.4	1055.6	1108.6	935.5
2	5.3	5.8	5.6	238.0	253.9	254.1	961.3	1059.5	969.2
3	5.5	5.5	5.6	240.4	278.7	252.8	993.3	1030.5	951.1
Среднее значение	5.4	5.6	5.2	241.3	266.3	252.4	1003.4	1066.2	951.9
СКО, %	2.1	3.1	12.2	1.6	4.7	0.7	4.8	3.7	1.8
Внутригрупповое смещение ε , %	8.0	12.0	4.0	-3.5	6.5	1.0	0.3	6.6	-4.8
Общее среднее	5.4			253.4			1007.2		
Среднее смещение ε , %	8.0			1.4			0.7		
σ_r , %СКО повторяемости	7.1			3.0			3.7		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	5.9			8.5			9.8		

Таблица 58 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфона в печени

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.7	5.8	4.6	256.6	263.0	279.0	1085.6	1075.6	1021.4
2	5.4	5.6	5.2	241.1	252.6	271.9	993.9	1140.2	1016.8
3	5.7	4.5	4.8	233.0	274.6	269.9	1027.6	1052.0	1016.4
Среднее значение	5.6	5.3	4.9	243.6	263.4	273.6	1035.7	1089.2	1018.2
СКО, %	3.1	13.2	6.2	4.9	4.2	1.7	4.5	4.2	0.3
Внутригрупповое смещение ε , %	12.0	6.0	-2.0	-2.6	5.4	9.4	3.6	8.9	1.8
Общее среднее	5.3			260.2			1047.7		
Среднее смещение ε , %	6.0			4.1			4.8		
σ_r , %СКО повторяемости	8.6			3.8			3.6		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	12.2			10.2			6.1		

Таблица 59 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола в почках

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.7	4.5	4.5	239.6	240.3	245.7	931.5	937.2	954.8
2	4.5	5.2	4.9	242.1	244.0	248.0	858.9	873.4	962.4
3	4.8	5.0	4.8	224.5	245.7	267.9	860.4	893.6	935.3
Среднее значение	5.0	4.9	4.7	235.4	243.3	253.9	883.6	901.4	950.8
СКО, %	12.5	7.4	4.4	4.0	1.1	4.8	4.7	3.6	1.5
Внутригрупповое смещение ε , %	0.0	-2.0	-6.0	-5.8	-2.7	1.6	-11.6	-9.9	-4.9
Общее среднее	4.9			244.2			911.9		
Среднее смещение ε , %	-2.0			-2.3			-8.8		
σ_r , %СКО повторяемости	8.9			3.7			3.5		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	4.8			6.6			6.6		

Таблица 60 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфоксида в почках

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.4	5.0	5.2	244.5	228.3	251.3	1050.6	978.1	1011.0
2	5.0	4.2	5.2	244.7	235.7	251.7	949.4	928.0	1039.2
3	4.9	5.0	5.8	233.8	236.7	257.3	965.8	950.2	983.7
Среднее значение	5.1	4.7	5.4	241.0	233.5	253.4	988.6	952.1	1011.3
СКО, %	5.2	9.8	6.4	2.6	2.0	1.3	5.5	2.6	2.7
Внутригрупповое смещение ε , %	2.0	-6.0	8.0	-3.6	-6.6	1.4	-1.1	-4.8	1.1
Общее среднее	5.1			242.7			984.0		
Среднее смещение ε , %	2.0			-2.9			-1.6		
σ_r , %СКО повторяемости	7.2			2.0			3.9		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	11.4			7.2			5.3		

Таблица 61 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфона в почках

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.4	4.9	5.5	240.3	228.3	225.4	957.7	979.8	1021.0
2	5.1	5.0	5.1	238.9	235.8	224.7	928.7	924.7	1001.0
3	5.0	5.2	5.3	232.9	237.4	238.7	964.3	947.4	992.5
Среднее значение	5.2	5.0	5.3	237.3	233.8	229.6	950.2	950.6	1004.8
СКО, %	4.0	3.1	3.8	1.7	2.1	3.4	2.0	2.9	1.5
Внутригрупповое смещение ε , %	4.0	0.0	6.0	-5.1	-6.5	-8.2	-5.0	-4.9	0.5
Общее среднее	5.2			233.6			968.6		
Среднее смещение ε , %	4.0			-6.6			-3.1		
σ_r , %СКО повторяемости	3.6			2.5			2.2		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	4.5			2.9			5.6		

Таблица 62 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола в коже и жире

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.6	4.4	4.7	238.6	232.2	241.4	1019.8	1066.7	923.9
2	5.7	5.9	5.0	252.1	244.5	238.4	998.9	1002.7	913.7
3	5.0	5.2	4.6	258.3	242.0	260.3	950.3	1041.3	938.1
Среднее значение	5.4	5.2	4.8	249.7	239.6	246.7	989.7	1036.9	925.2
СКО, %	7.0	14.4	4.3	4.0	2.7	4.8	3.6	3.1	1.3
Внутригрупповое смещение ε , %	8.0	4.0	-4.0	-0.1	-4.2	-1.3	-1.0	3.7	-7.5
Общее среднее	5.1			245.3			983.9		
Среднее смещение ε , %	2.0			-1.9			-1.6		
σ_r , %СКО повторяемости	9.8			4.0			2.9		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	11.3			3.7			9.9		

Таблица 63 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфоксида в коже и жире

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	6.2	4.5	5.8	214.5	238.0	257.9	1098.4	981.0	1056.9
2	4.9	4.5	5.3	224.7	246.2	227.7	1082.4	929.4	1045.3
3	4.6	4.8	4.7	231.2	247.6	251.1	990.5	963.5	1070.2
Среднее значение	5.2	4.6	5.3	223.5	243.9	245.6	1057.1	958.0	1057.5
СКО, %	16.4	3.8	10.4	3.8	2.1	6.4	5.5	2.7	1.2
Внутригрупповое смещение ε , %	4.0	-8.0	6.0	-10.6	-2.4	-1.8	5.7	-4.2	5.8
Общее среднее	5.0			237.7			1024.2		
Среднее смещение ε , %	0.0			-4.9			2.4		
σ_r , %СКО повторяемости	11.8			4.5			3.7		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	12.9			9.0			9.7		

Таблица 64 – Результаты оценки правильности, прецизионности и стабильности определения фенбендазола сульфона в коже и жире

Уровень QC	LQC 5 нг/г			MQC 250 нг/г			HQC 1000 нг/г		
№ измерения/Серия	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
	Вычисленные концентрации, нг/г								
1	5.2	5.3	5.0	236.8	260.2	245.3	1082.5	1018.4	1093.4
2	5.4	5.5	4.6	249.7	268.8	221.5	1072.2	989.0	1068.4
3	5.8	5.5	5.5	249.3	267.8	258.0	1018.1	1058.6	1063.2
Среднее значение	5.5	5.4	5.0	245.3	265.6	241.6	1057.6	1022.0	1075.0
СКО, %	5.6	2.1	9.0	3.0	1.8	7.7	3.3	3.4	1.5
Внутригрупповое смещение ϵ , %	10.0	8.0	0.0	-1.9	6.2	-3.4	5.8	2.2	7.5
Общее среднее	5.3			250.8			1051.5		
Среднее смещение ϵ , %	6.0			0.3			5.2		
σ_r , %СКО повторяемости	6.1			4.7			2.8		
σ_R , %СКО внутрилабораторной воспроизводимости	7.9			8.9			4.4		

Таким образом, предложенная методика определения фенбендазола и его метаболитов в биоматрицах овец 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 перапарата. 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 она составила 57,5; 63,3 и 53,1 нг/мл соответственно фенбендазола, сульфоксида и сульфона фенбендазола, а после

введения базовой субстанции фенбендазола обнаружено 22,3; 18,7 и 16,2 нг/мл соответственно фенбендазола, сульфоксида и сульфона фенбендазола. 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 65).

Фармакокинетические параметры фенбендазола и его метаболитов, представленные в таблицах 66 и 67, свидетельствуют о значительном повышении в 2,3 раза скорости абсорбции и поступления фенбендазола в кровь после введения СМКФ по сравнению с показателем базового препарата. 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. О высокой скорости метаболизма фенбендазола после введения СМКФ указывают следующие показатели: площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время»; площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до ∞ ; площадь под кривой «произведение времени на концентрацию препарата, tC ». 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 AUMC 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 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.

Таблица 65 – Содержание фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения базового фенбендазола (ФБЗ) и супрамолекулярного комплекса фенбендазола СМКФ с ПВП 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 66 – Фармакокинетические параметры фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения СМКФ с ПВП 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, %;

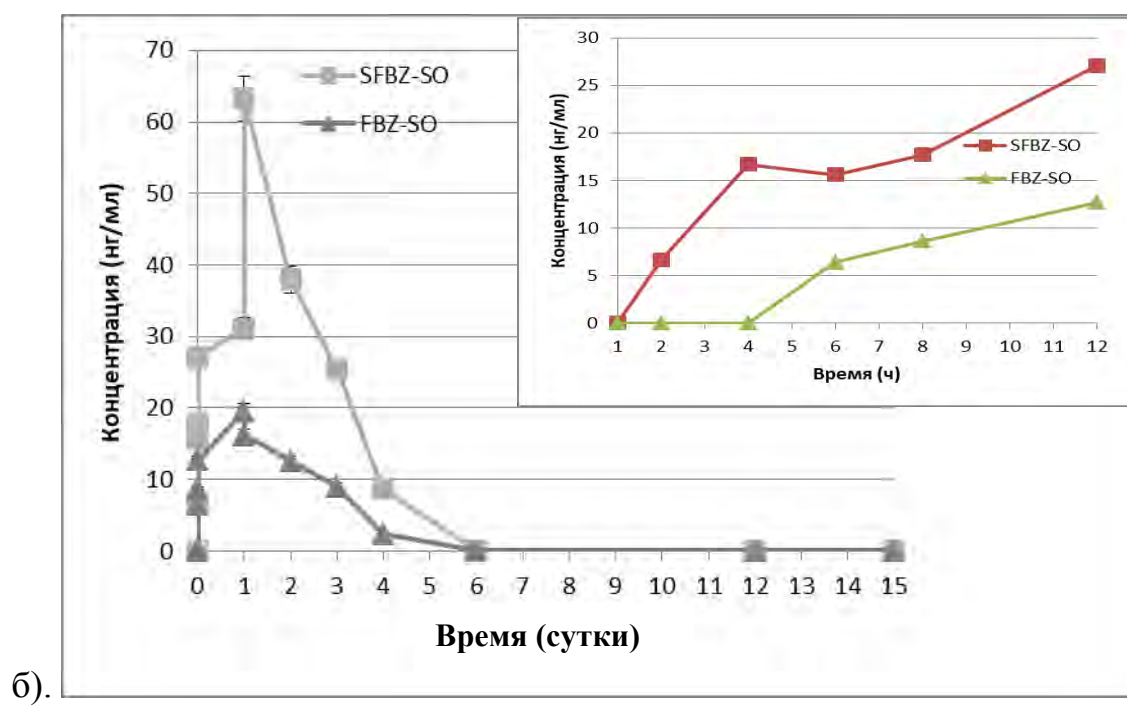
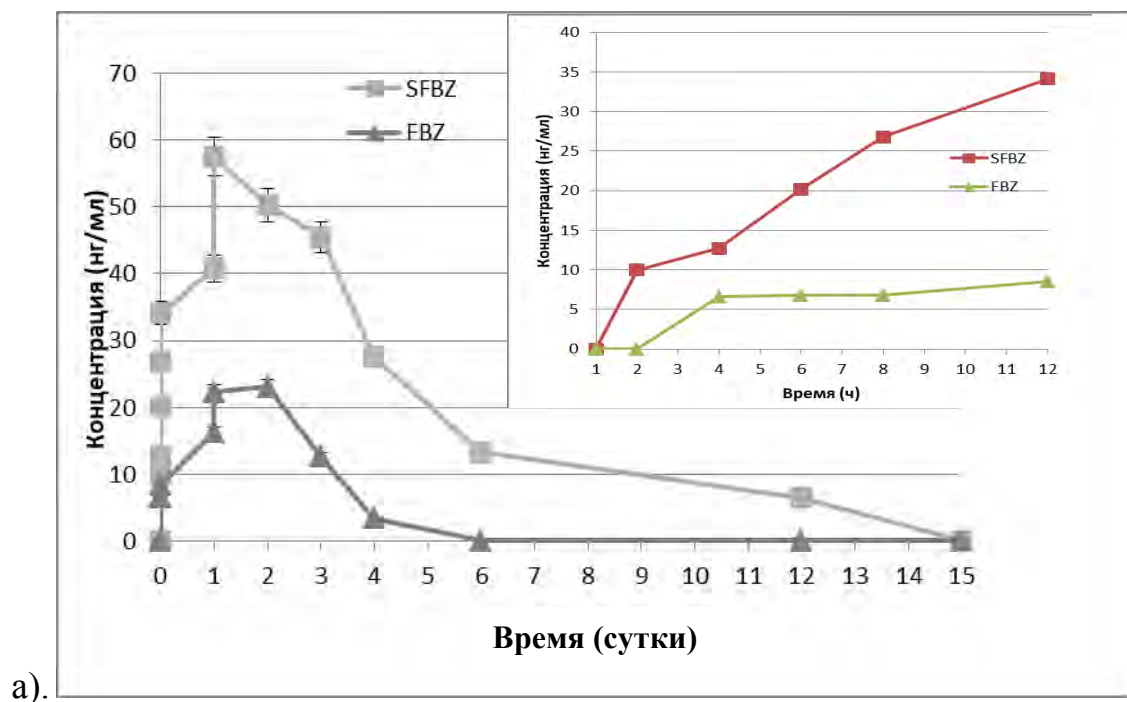
k_a – константа скорости абсорбции; k_{10} – константа элиминации; $t_{1/2ka}$ – время всасывания в кровь $^{1/2}$ введенной дозы; $t_{1/2k10}$ – время исчезновения из организма лекарства путём биотрансформации и экскреции $^{1/2}$ введенной или поступившей и всосавшейся дозы; V – объем распределения; 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

Таблица 67 – Фармакокинетические параметры фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения базового ФБЗ в дозе 2 мг/кг по ДВ

Показатель	Фенбендазол		Сульфоксид		Сульфон	
	М	RSD	М	RSD	М	RSD
$k_a, \text{ч}^{-1}$	0.0259	6.6	0.0376	1.8	0.0362	3.4
$k_{10}, \text{ч}^{-1}$	0.0239	3.3	0.0345	3.7	0.0335	3.3
$t_{1/2ka}, \text{ч}$	26.88	6.8	18.42	1.8	19.14	3.4
$t_{1/2k10}, \text{ч}$	29.65	6.0	20.19	3.6	20.73	3.2
$V, \text{л/кг}$	38.78	2.0	45.8	2.4	42.03	1.7
$CL, \text{л/ч}$	0.91	6.7	1.58	3.4	1.41	3.6
$T_{\max}, \text{ч}$	40.71	6.4	27.74	2.6	28.73	3.3
$C_{\max}, \text{нг/мл}$	19.92	1.7	16.77	1.8	18.21	1.8
$AUC_{0-t}, \text{нг/мл} \cdot \text{ч}$	1162.07	1.6	925.07	2.1	1015.19	1.9
$AUC_{0-\infty}, \text{нг/мл} \cdot \text{ч}$	2207.45	7.1	1265.6	3.4	1423.47	3.6
$AUMC, \text{нг/мл} \cdot \text{ч}^2$	180616	13.6	70347	5.8	81943	6.7
$MRT, \text{ч}$	62.17	6.4	55.55	2.7	57.52	3.3

Примечание: М – 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»; $AUC_{0-\infty}$ – 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



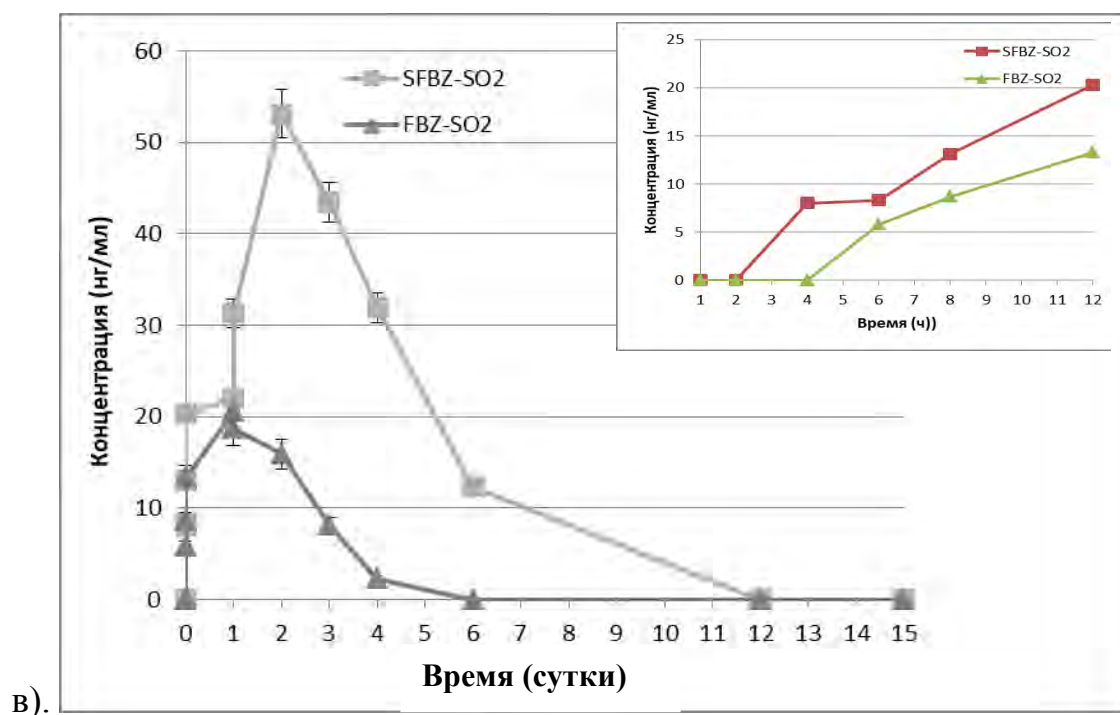


Рисунок 33 – Динамика изменения концентрации фенбендазола (FBZ) (а), сульфоксида фенбендазола (FBZ-SO) (б) и сульфона фенбендазола (FBZ-SO₂) (в) в сыворотке крови овец после введения СМКФ и базового фенбендазола в дозе 2 мг/кг по ДВ (на рисунке внутри – динамика в течение первых 12 ч)

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

Результаты анализа динамики выведения ФБЗ и его метаболитов из органов и тканей овец после применения СМКФ с ПВП и базового препарата – субстанции ФБЗ в дозе 2 мг/кг по ДВ, представленные в таблицах 68 и 69, 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-и сутки. Содержание ФБЗ, а также сульфоксида и сульфона фенбендазола было максимальным в

печени овец на 3-и 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 и 16 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-и сутки и сульфоксид ФБЗ – на 3-и и 6-е 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-и 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. Период полного выведения остаточных количеств фенбендазола и его метаболитов из органов и тканей овец составляет 16 суток после окончания обработки. Однако 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 обнаружены, 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 были в органах и тканях овец были детектированы 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.

Таблица 68 – Концентрация фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов в органах и тканях овец после введения СМКФ с ПВП в дозе 2 мг/кг по ДВ (нг/г) (n=4)

Время (сут)	Метаболит	Органы и ткани						
		Почки	Печень	Мышечная ткань	Подкожный жир	Сердце	Легкие	Фекалии
1	Фенбендазол	709.4±54.8	3073.7±218.6	376.5±29.6	1055.9±67.3	1074.3±63.4	1104.9±71.8	779.2±8.5
	Сульфоксид	60.9±5.9	2782.5±142.3	74.6±8.2	83.8±9.2	24.4±3.2	695.2±54.9	< LOQ
	Сульфон	369.8±20.6	697.8±46.7	32.8±3.8	137.6±10.4	102.6±9.5	183.1±21.6	19.7±2.3
3	Фенбендазол	726.5±31.4	4878.0±312.0	378.8±41.2	161.8±12.7	1460.3±42.2	138.4±15.6	483.2±32.6
	Сульфоксид	106.7±7.7	18682.4±546.7	90.6±9.4	53.1±6.8	250.4±17.0	98.1±9.7	148.4±13.7
	Сульфон	533.4±26.8	2483.5±156.2	120.3±9.8	118.7±7.6	272.2±18.4	68.0±7.0	249.5±20.3
6	Фенбендазол	13.7±3.3	157.3±12.3	< LOQ	3.5±0.6	< LOQ	< LOQ	101.7±9.8
	Сульфоксид	302.6±11.4	3180.8±174.5	< LOQ	11.1±1.7	< LOQ	195.5±21.4	191.6±21.2
	Сульфон	206.6±11.2	20.5±3.7	< LOQ	7.1±0.9	< LOQ	5.2±0.9	6.3±1.1
11	Фенбендазол	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	14.0±1.1
	Сульфоксид	< LOQ	124.4±9.8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	14.6±2.1	638.2±45.6
	Сульфон	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
16	Фенбендазол	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	Сульфоксид	< LOQ	16.3±2.5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	78.6±9.2
	Сульфон	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
21	Фенбендазол и его метаболиты	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

Примечание: Данные представлены в виде mean±SD; LOQ – предел количественного определения вещества –

1 нг/г

Таблица 69 – Концентрация фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов в органах и тканях овец после введения базового препарата – фенбендазола в дозе 2 мг/кг по ДВ (нг/г) (n=4)

Время (сут)	Метаболит	Органы и ткани						
		Почки	Печень	Мышечная ткань	Подкожный жир	Сердце	Легкие	Фекалии
1	Фенбендазол	25.4±4.7	69.7±8.3	31.2±4.3	25.8±5.6	15.6±3.4	17.3±3.1	< LOQ
	Сульфоксид	10.3±2.1	148.4±15.3	20.6±3.0	9.2±2.7	3.6±1.0	24.7±4.2	< LOQ
	Сульфон	31.2±4.4	71.5±9.6	7.3±2.1	5.6±1.0	11.2±1.7	21.3±3.6	< LOQ
3	Фенбендазол	20.3±3.3	126.5±12.3	27.4±3.8	31.6±4.5	30.8±4.7	11.6±1.3	47.3±5.6
	Сульфоксид	17.8±2.1	314.1±21.7	12.1±2.1	7.7±1.0	26.0±3.6	9.5±1.0	27.2±3.8
	Сульфон	51.4±6.8	142.3±14.5	14.6±2.2	12.3±1.2	27.3±3.8	7.2±0.9	31.6±3.7
6	Фенбендазол	< LOQ	13.4±1.7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	21.3±3.2
	Сульфоксид	17.8±2.3	124.6±22.3	5.6±0.7	5.5±0.7	7.4±0.9	6.3±0.8	27.2±3.3
	Сульфон	27.8±3.5	7.1±1.0	< LOQ	5.2±0.7	< LOQ	< LOQ	13.3±1.7
11	Фенбендазол	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	7.8±1.0
	Сульфоксид	< LOQ	14.4±1.7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	14.6±2.1	13.4±2.1
	Сульфон	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
16	Фенбендазол и его метаболиты	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
21	Фенбендазол и его метаболиты	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

Примечание: Данные представлены в виде mean±SD; LOQ – предел количественного определения вещества – 1 нг/г

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.

Нами отмечено влияние повышения концентрации ФБЗ и его метаболитов в крови, органах и тканях овец на антигельминтную активность. СМКФ в дозе 2,0 мг/кг проявил 98,0% эффективность против желудочно-кишечных стронгилят овец, а базовый препарат – субстанция ФБЗ в этой дозе показала только 15,0% активность. Изменения показателей фармакокинетики ФБЗ и его метаболитов в организме овец после применения СМКФ обусловлены также повышением в 21 раз растворимости препарата в воде. При этом увеличивается всасываемость ФБЗ в пищеварительном тракте, о чем свидетельствует повышение концентрации препарата в крови, органах и тканях овец.

Как известно, основным способом проникновения бензимидазолов в организм нематод является пассивная диффузия через кутикулу, которая зависит от липофильности препарата [204, 251, 252]. С повышением растворимости СМКФ, вероятно, повышается и его проницаемость и концентрация в тканях гельминтов.

Hansen et al., 2017 показали, что оксфендазол достигает *Trichuris suis* после абсорбции из желудочно-кишечного тракта проникает в ткани гельминтов через систему кровообращения и энтероциты; фенбендазола сульфон может попадать в ткани гельминтов аналогичным образом, возможно, с участием энтерогепатической циркуляции [199]. Отмечена корреляция между концентрацией фенбендазола сульфоксида в плазме, в содержимом желудочно-кишечного тракта и тканях паразита. Метаболит сульфон обнаруживается в плазме не ранее, чем через 15 мин после применения препарата, т.е. происходит образование сульфона из сульфоксида за счет последовательной реакции окисления, которая катализируется микросомальными ферментами печени животных [190, 277].

Также этот процесс происходит между плазмой крови и пищеварительным трактом происходит благодаря энтерогепатотической циркуляции и реабсорбции через желудочно-кишечный тракт жвачных, что обеспечивает длительное антигельминтное воздействие на гельминтов [203; 229].

Полученные нами результаты подтверждают, что после применения овцам СМКФ значительно повышается концентрация ФБЗ в крови животных по сравнению с введением базового препарата – субстанции ФБЗ, что по нашему мнению обусловлено механохимической технологией и вследствие этого повышением растворимости, уменьшением размеров и структуры частиц субстанции. Об изменении уровня метаболизма ФБЗ в организме животных свидетельствует увеличение продолжительности удержания ФБЗ в крови овец, получавших СМКФ. Значительное повышение концентрации ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после введения СМКФ происходит за счет более быстрой абсорбции и поступления ФБЗ в органы и ткани животных, что приводит в конечном результате к повышению антигельминтной эффективности.

2.2.7.3. Содержание фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после применения супрамолекулярного комплекса фенбендазола с различными полимерами для адресной доставки

Для доказательства адресной доставки СМКФ проведен опыт на 70 мышах, по 10 голов в группе, которые получали СМКФ с ПВП, Na₂ГК, НДОСС, АГ и ГЭК и субстанцию ФБЗ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. На 2-е сутки после введения препаратов животных убивали декапитацией и тонкий отдел кишечника исследовали методом ВЭЖХ–МС/МС. Полученные результаты представлены в таблице 70.

Таблица 70 – 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

В результате проведенных исследований было установлено, что максимальная концентрация фенбендазола и его метаболитов: сульфона и сульфоксида в тонком кишечнике животных отмечается после введения СМКФ с НДОСС. Следует отметить, что наиболее высокая антигельминтная эффективность получена после применения этого комплекса, что свидетельствует 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.

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

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

Результаты комиссионного испытания СМКФ с ПВП, приведенные в таблице 71, указывают на его высокую эффективность при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец.

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.

Базовый препарат – субстанция фенбендазола в дозе 5,0 мг/кг проявила при нематодирозе 98,5%-ную эффективность, а при других стронгилятозах пищеварительного тракта - 99,0%. Инвазированность животных контрольных групп в течение опыта существенно не менялась ($P \geq 0,05$). Животные опытных и контрольных групп хорошо переносили СМКФ и побочного действия не было установлено.

Таблица 71 – Результаты комиссионного испытания СМКФ с ПВП при стронгилятозах пищеварительного тракта овец

Препарат	До- за, мг/к г по ДВ	Число овец в группе	Освобод илось от инвазии, гол.	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Эффек- тивность, %
				до опыта	после лечения	
Нематодироз						
СМКФ	2,0	20	17	167,8±8,3	2,3±0,5	98,7
ФБЗ	5,0	20	15	170,4±8,5	2,6±0,5	98,5
Контроль	-	20	0	171,2±7,8	177,6±8,4	0
Другие стронгилятозы пищеварительного тракта						
СМКФ	2,0	20	16	179,6±8,6	1,5±0,4	99,2
ФБЗ	5,0	20	14	181,7±8,8	2,0±0,4	99,0
Контроль	-	20	0	182,3±8,5	191,6±9,0	0

Результаты комиссионного испытания СМКФ на молодняке крупного рогатого скота приведены в таблице 72 и свидетельствуют о его высокой эффективности при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах.

При нематодирозе животных число яиц нематодирусов в фекалиях после дегельминтизации СМКФ в дозе 3,0 мг/кг 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 овец. Субстанция фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг проявила при нематодирозе 95,6%-ную эффективность, а при других стронгилятозах пищеварительного тракта – 95,2%. Инвазированность животных контрольных групп в течение опыта существенно не менялась ($P \geq 0,05$). Животные опытных и контрольных групп хорошо переносили СМКФ и побочного действия не было зарегистрировано.

Таблица 72 – Результаты комиссионного испытания СМКФ с ПВП при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

Препарат	До- за, мг/кг по ДВ	Число овец в груп- пе	Освободил ось от инвазии, гол.	Среднее число яиц гельминтов в 1 г фекалий, экз.		Эффек- тивность, %
				до опыта	после лечения	
Нематодироз						
СМКФ	3,0	20	16	143,2±7,6	2,4±0,4	98,4
ФБЗ	7,5	20	0	141,4±6,8	6,5±1,4	95,6
Контроль	-	20	0	144,1±7,0	148,6±7,1	0
Другие стронгилятозы пищеварительного тракта						
СМКФ	3,0	20	17	147,3±7,4	1,1±0,3	99,3
ФБЗ	7,5	20	0	149,2±8,0	7,3±1,6	95,2
Контроль	-	20	0	146,8±7,5	151,3±7,7	0

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

Результаты производственных испытаний СМКФ с ПВП при стронгилятозах пищеварительного тракта овец, проведенных в этом же хозяйстве на 484 головах, приведены в таблице и говорят о высокой эффективности препарата в рекомендованной дозе 2,0 мг/кг по ДВ.

Таблица 73 – Результаты производственного испытания СМКФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ при стронгилятозах овец («критический тест», n = 484)

Показатель	Возбудители гельминтозов	
	<i>Nematodirus</i> spp.	др. виды стронгилят
ЭИ, %, до опыта	55,3	56,4
ЭИ, %, после лечения	0,41	0,62
ЭЭ, %	99,26	98,91

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 супрамолекулярным фенбендазолом 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 98,91% 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, приведены в таблице 74 и указывают на высокую эффективность препарата в рекомендованной дозе 3,0 мг/кг по ДВ.

ЭИ нематодирусами до опыта составила 51,6% и другими видами стронгилят пищеварительного тракта 53,2% по результатам копроовоскопических исследований. Через 15 суток после дегельминтизации СМКФ у большинства леченых телок полностью отсутствовали инвазионные элементы в фекалиях. ЭИ животных нематодирусами после лечения составила 1,0% и другими видами желудочно-кишечных стронгилят 1,6%.

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.

Таблица 74 – Результаты производственного испытания СМКФ с ПВП в дозе 3,0 мг/кг по ДВ при стронгилятозах телок («критический тест», n = 124)

Показатель	Возбудители гельминтозов	
	Nematodirus spp.	др. виды стронгилят
ЭИ, %, до опыта	51,6	53,2
ЭИ, %, после лечения	0,8	1,6
ЭЭ, %	99,2	98,39

Таким образом, при комиссионном испытании СМКФ при нематодозах овец в дозе 2,0 мг/кг по ДВ в форме 10%-ного порошка показал эффективность, равную 98,7% против нематодирусов и 99,2% против других видов стронгилят пищеварительного тракта. Комиссия рекомендует СМКФ для применения в ветеринарной практике при нематодозах овец.

При производственном испытании СМКФ подтверждена высокая его эффективность в дозах 2,0 и 3,0 мг/кг по ДВ против стронгилят пищеварительного тракта соответственно 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.

Приблизительный расчет стоимости обработки СМКФ С ПВП одной овцы массой 50 кг составляет 1,5-2 руб., в то время как стоимость обработки препаратом фебтал гранулят (22,2 %) – в 2,9-3,9 раза выше и составляет 5,9 руб. Приблизительный расчет дополнительной стоимости, полученной за счет увеличения количества производимой продукции и повышения ее качества в результате применения СМКФ составит 2650 руб на 100 голов овец.

3. ОБСУЖДЕНИЕ

Актуальность проблемы обусловлена широким распространением паразитарных болезней животных и человека, которые причиняют значительный экономический ущерб и вред здоровью. Сельскохозяйственные животные в отдельных регионах страны до 70-80% заражены паразитами, которые вызывают снижение продуктивности и нередко гибель животных.

Работа направлена на решение крупной экономической проблемы – борьбы с паразитарными болезнями животных. Для успешного решения необходима разработка противопаразитарных препаратов, обладающих высокой эффективностью и безопасностью для организма. Фенбендазол – антигельминтик широкого спектра действия из группы бензимидазолкарбаматов [206, 267]. Он проявляет высокую антигельминтную активность в отношении нематод и безопасен для организма животных. В настоящее время фенбендазол широко используется во всем мире в рекомендованных дозах [142, 208, 294, 295]. Согласно Международной классификации FDA фенбендазол принадлежит к IV классу средств с малой проницаемостью и плохой растворимостью, т.е. имеет низкую биодоступность (The Biopharmaceutics Classification System (BCS) guidance) [184, 231, 292]. В связи с этим, повышение его водорастворимости может оказать влияние на антигельминтные свойства. В последние годы повсеместно разрабатывают так называемые средства доставки – Drug Delivery Systems биологически активных молекул с целью повышения растворимости лекарственных веществ и увеличения их биодоступности за счет повышения абсорбции и увеличения концентрации в крови, повышения проницаемости через биологические мембраны и целенаправленной доставки к месту действия. За счет этого можно повысить эффективность применяемых лекарственных средств и снизить их терапевтическую дозу и

возможные побочные эффекты. В качестве средств доставки лекарственных препаратов используют полисахариды, липосомы, мицеллы и наноразмерные частицы [105, 232, 239], а также циклодекстрины, с помощью которых происходит образование супрамолекулярных систем [215]. Для увеличения растворимости препаратов применяют разные методы: измельчение и изменение формы кристаллической решетки, создание твердых дисперсий лекарственных веществ с наполнителями, изменение размеров частиц и кристаллической структуры и т.д. [213, 225, 307].

Одной из технологий DDS является механохимическая модификация твердых лекарственных субстанций и вспомогательных веществ. Под действием давления и сдвиговых деформаций в мельницах кристаллическая структура веществ может разупорядочиваться до полной аморфизации и происходят полиморфные переходы и химические реакции с образованием водорастворимых солей или водорастворимых комплексов и мицелл [41, 42, 274]. Данная технология имеет следующие преимущества: возможность получения твердой дисперсии нерастворимых и термически нестабильных веществ в одну технологическую стадию; отсутствие жидких фаз – расплавов и растворителей и снижение вероятности неблагоприятных химических процессов, связанных с термическим разложением или взаимодействием с растворителями.

В последние годы все большее внимание привлекают безотходные твердофазные т.н. механохимические технологии получения уникальных материалов широкого спектра назначения. Эти технологии наиболее активно разрабатывались Российскими учеными. В последнее десятилетие в совместных работах сотрудников Института химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН и других институтов РАН (в т.ч. в ВНИИП им. К.И. Скрябина) обоснована перспективность применения механохимической технологии для получения усовершенствованных систем доставки лекарств (DDS) [12, 14, 26, 114, 119]. Механохимическая технология позволяет

наиболее эффективно получать твердые композиции лекарственных веществ, образующие при растворении весь спектр систем доставки типа «гость—хозяин». Механохимическая технология дает возможность сочетать вещества независимо от их растворимостей и образовывать более прочные системы «гость—хозяин», по сравнению с известными традиционными жидкофазными технологиями синтеза, а также избегать нежелательных побочных химических реакций, зачастую проявляющихся при использовании традиционных жидкофазных технологий. Российскими учеными исследовано несколько десятков широко используемых лекарственных веществ и в подавляющем большинстве случаев удается добиться значительного повышения терапевтической активности либо снижения действующих лекарственных доз при сохранении базового действия, снижения нежелательных побочных эффектов.

Предложенная нами технология получения противопаразитарных препаратов характеризуется простотой и выполняется в одну технологическую стадию путем интенсивной механохимической обработки смесей порошкообразных субстанций лекарственных средств и водорастворимых полимеров или веществ липофильно-гидрофильной природы в измельчителях ударно-истирающего типа до образования агрегатов измельченных частиц с размерами от 5 до 10 мкм. При этом полученные субстанции представляют собой твердые дисперсии компонентов, образующие супрамолекулярные комплексы при растворении в воде и имеют высокий показатель водорастворимости и фармакологической эффективности. Этот результат достигается и тем, что в процессе обработки молекулы действующих веществ распределяются в порах и на поверхности частиц/макромолекул носителей, что существенно изменяет свойства препарата. При этом обеспечивается улучшенная всасываемость препаратов в ЖКТ при пероральном приеме за счет ускоренного высвобождения действующих веществ и их транспортировки через биологические мембраны [24, 25, 42, 44, 115, 118, 119, 222, 273].

Преимуществами механохимического подхода в получении комплексов типа "гость-хозяин" являются возможность получения этих комплексов для плохо или практически нерастворимых субстанций. При этом, отказ в технологии использования растворителей или расплавов уменьшает вероятность нежелательных побочных реакций. Предлагаемая технология масштабируема и позволяет добиться большой производительности (до 100 кг в час по сухому веществу), она базируется на относительно простом оборудовании, разработанном и производящемся в РФ и безотходном производстве. На примере фенбендазола была показана высокая фармакологическая эффективность препарата, полученного на использовании разработанных подходов. Так, в лабораторных и полевых исследованиях на с/х животных была продемонстрирована возможность повышения терапевтической активности, либо снижения в несколько раз действующих лекарственных доз для использующегося на практике лекарственного средства [14, 16, 27, 28, 116, 132]. Полученные результаты 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 провести значительные замещения использования импортных лекарств.

Нами были проведены исследования по изучению влияния механохимической технологии на антигельминтную эффективность твердой дисперсии фенбендазола с ПВП, в ходе которых было установлено его высокое терапевтическое действие на лабораторных моделях паразитозов и в производственных условиях в сниженной дозе. Данные физико-химических исследований показали повышение растворимости в воде супрамолекулярного фенбендазола с ПВП в 21,2 раза, с натриевой солью глицирризиновой кислоты в 40,6 раза и с диоктилсукцинатом натрия в 28,2 раза, потерю кристалличности и снижение размеров частиц фенбендазола с образованием полидисперсного порошка из частиц размером 5-10 мкм,

которые образуют комплекс за счет Ван-дер-Ваальсовых и гидрофобных связей молекул фенбендазола и полимера по типу гость – хозяинных отношений без химической связи. При этом фенбендазол распределяется в порах и на поверхности молекул полимера, что значительно изменяет свойства препарата и позволяет обеспечить адресную доставку препарата.

Испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола, полученного по механохимической технологии и использованием для адресной доставки ПВП, НДОСС, Na₂ГК, ЭС и ГЭК на белых мышах, экспериментально инвазированных *Trichinella spiralis* и *Hymenolepis nana* и овцах, спонтанно зараженных мониезиями, нематодирусами и другими видами желудочно-кишечных стронгилят показали повышение антигельминтной эффективности СМКФ в сравнении с активностью субстанции фенбендазола в равной дозе по 2 мг/кг по ДВ. Предварительные опыты на лабораторной модели – *Trichinella spiralis* показали повышение эффективности СМКФ в 3,3–4,1 раза по сравнению с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола. Меньшее повышение активности СМКФ отмечено на лабораторной модели цестодозов – *H. nana* (2,0–3,5 раза). В опытах на овцах, спонтанно зараженных нематодирусами, установлено 3,7–4,1-кратное повышение активности СМКФ с использованием в качестве вспомогательных веществ ПВП, Na₂ГК, НДОСС и АГ по сравнению с субстанцией фенбендазола.

Повышение эффективности СМКФ с ПВП отмечено нами при испытании на молодняке крупного рогатого скота, спонтанно инвазированного желудочно-кишечными стронгилятами, диктиокаулами, стронгилоидами и трихоцефалами. Препарат в дозе 3,0 мг/кг по ДВ показал высокую эффективность при основных нематодозах, что в 3 раза меньше дозы субстанции фенбендазола. СМКФ в дозе 2 мг/кг по ДВ эффективен против половозрелых (99,7–100%) и личинок (99,1–100%) стронгилят сычуга овец. Препарат оказывает действие на 2–3-и сутки после его применения животным.

Важный интерес для практики представлял вопрос влияния процесса механохимической технологии на токсические свойства в связи с изменением биохимических параметров фенбендазола после получения супрамолекулярного комплекса. Так, при изучении острой токсичности образцов СМКФ с ПВП, АГ, $\text{Na}_2\text{ГК}$, НДОСС, ЭС и ГЭК в сравнении с базовой субстанцией фенбендазола установлено повышение токсичности образцов супрамолекулярного фенбендазола с АГ алтайского производства и НДОСС. Образцы СМКФ с ПВП, АГ фармакопейным, ЭС и ГЭК в дозе 20000 мг/кг (максимально возможная доза введения) не вызывали падежа животных и в связи с этим ее приняли в качестве LD_{50} . Более высокая токсичность супрамолекулярного фенбендазола с НДОСС и АГ алтайского производства обусловлена повышенной токсичностью перечисленных средств доставки и лучшей абсорбцией их по сравнению с базовым препаратом – фенбендазолом и комплексами с ПВП, ЭС, ГЭК.

По результатам наших исследований СМКФ не обладает раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки, не обладает кумулятивным действием, а также эмбриотоксическими и тератогенными свойствами. Вводимые дозы 1000, 2000 и 4000 мг/кг безопасны для организма белых крыс при многократном введении. Препарат не оказывает влияния на прирост массы тела крыс, гематологические и биохимические показатели.

СМКФ с ПВП в терапевтической, в 3 и 5 раз увеличенных дозах не оказывает отрицательного влияния на клинический статус, гематологические и биохимические показатели овец и крупного рогатого скота.

Однократное введение СМКФ в терапевтической и десятикратно увеличенной дозах не оказывает угнетающего влияния на антителогенез. Препарат не влияет на гуморальный и клеточный иммунный ответ, т.е. не обладает иммунотоксическим действием.

Механохимическая технология получения СМКФ с ПВП позволила изменить его некоторые физико-химические свойства, в частности

растворимость, размеры частиц, кристалличность и др., что могло повлиять на его биотрансформацию в организме животных.

Методом жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией установлена значительная разница в биотрансформации фенбендазола и его метаболитов после введения супрамолекулярного образца и базовой субстанции фенбендазола в равной дозе по 2 мг/кг по ДВ. Фенбендазол и его метаболиты начали обнаруживать в сыворотке крови овец через 2 часа после введения СМКФ и только через 4–6 часов после дачи базового фенбендазола. Содержание фенбендазола и его метаболитов было в 2,6–5,0 раз выше в сыворотке крови овец после введения супрамолекулярного фенбендазола с ПВП. Отмечено повышение в 2,3 раза скорости абсорбции и поступления фенбендазола в кровь после применения СМКФ по сравнению с субстанцией препарата. Время всасывания в кровь половины введенной дозы СМКФ составило 14,01 ч, а базового фенбендазола 26,88 ч. В тоже время среднее время удержания в системном кровотоке фенбендазола после введения СМКФ увеличилось. ФБЗ и его метаболиты в органах и тканях овец после введения базового препарата в дозе 2 мг/кг в органах и тканях овец были в десятки раз в меньшей концентрации, чем после введения СМКФ с ПВП.

Проведена оценка содержания фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника мышей после введения СМКФ с различными компонентами для доказательства адресной доставки. В результате проведенных исследований установлена высокая концентрация действующих веществ после введения СМКФ с НДОСС, СМКФ с ПВП и СМКФ с АГ, что согласуется с их высокой антигельминтной активностью в ранее проведенных опытах, а также может, вероятно, свидетельствовать об их высокой концентрации в тканях гельминтов.

Таким образом, наиболее приемлемыми и перспективными компонентами для адресной доставки фенбендазола являются НДОСС,

Na₂ГК и ПВП, концентрация которых в местах нахождения нематод оказалась высокой.

При проведении комиссионных испытаний СМКФ с ПВП получена 98-99%-ная эффективность при стронгилятозах овец и молодняка крупного рогатого скота, что было подтверждено в производственных опытах.

На основании вышеизложенного и учитывая результаты наших работ, можно говорить о перспективности метода получения СМКФ с различными компонентами для улучшения растворимости субстанций плохо растворимых в воде лекарственных веществ. В настоящее время это направление приобретает особую актуальность для продвижения на фармацевтический рынок новых лекарственных субстанций, с такими улучшенными свойствами, как растворимость, проницаемость и биодоступность.

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 7 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 мониезидозе 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 мониезидозе 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 мониезиозе 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 суток, а в печени и фекалиях в течение 11 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 3-е суток, а в пробах подкожной жировой клетчатки в течение 6 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 с низкой токсичностью и повышенной антигельминтной активностью. Установлена терапевтическая доза препарата при нематодозах овец и крупного рогатого скота, равная соответственно 2 и 3 мг/кг по ДВ, при трихоцефалезе крупного рогатого скота – 4 мг/кг. 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 №3, 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 мая 2015 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 не только производных бензимидазолкарбаматов, но и других химических классов при получении их твердых дисперсий с водорастворимыми полимерами с использованием механохимической обработки. 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 2,5-3 раза. На основании полученных результатов можно говорить о возможности использования предлагаемого способа получения супрамолекулярных комплексов 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 СОКРАЩЕНИЙ

СМКФ – супрамолекулярный комплекс фенбендазола

ПВП – поливинилпирролидон

АГ – арабиногалактан

Na₂ГК – натриевая соль глицирризиновой кислоты

НДОСС – натрия диоктил сульфосукцинат

ЭС – экстракт солодки

ГЭК – гидроксиэтилкрахмал

ОАК – общий анализ крови

РГЗТ – реакция гиперчувствительности замедленного типа

РГА – реакция гемагглютинации

ЭБ – эритроциты барана

ТДФ – твердая дисперсия фенбендазола

ЭИ – экстенсивность инвазии

ИИ – интенсивность инвазии

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

МС/МС – tandemная масс-спектрометрия

DDS – система адресной доставки

MRM – мониторинг множественных реакций

LOD – предел обнаружения вещества

LOQ – предел количественного определения вещества

QC – образец контроля качества

SD – стандартное отклонение;

RSD – относительное стандартное отклонение

ЛД₅₀ – среднелетальная доза, вызывающая гибель 50% подопытных животных

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, К.В. Новые лекарственные формы направленного действия и с регулируемым высвобождением лекарственных веществ / К.В. Алексеев, М.В. Гоголова, А.Е. Добротворский и др. // Фармакология и фармация. – 1987. – Вып. 1. – 67 с.
2. Алексеев, К.В. Основные направления в технологии получения наноносителей лекарственных веществ / К.В. Алексеев // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – № 2. – С. 142-145.
3. Алексеев, К.В. Полимеры для фармацевтической технологии / К.В. Алексеев, И.А. Грицкова, С.А. Кедик. – М., 2011. – 512 с.
4. Аляутдин, Р.Н. Биофармацевтические принципы направленного транспорта лекарственных веществ: дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.00 / Аляутдин Ренад Николаевич. – М., 2000. – 324 с.
5. Архипов, И.А. Биополимерные технологии создания противопаразитарных препаратов / И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2001. – Вып. 1. – С. 14-16.
6. Архипов, И.А. К резистентности нематодирусов овец к действию бензимидазолов в разных хозяйствах Калмыкии / И.А. Архипов, Е.Б. Алексеев, С.Д. Дурдусов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2002. – Вып. 3. – С. 16-18.
7. Архипов, И.А. Изыскание новых препаратов для терапии гельминтозов животных / И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2004. – Вып. 5. – С. 32-35.
8. Архипов, И.А. Этапы создания антигельминтиков и перспективы развития экспериментальной терапии гельминтозов животных в России /

И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 67-73.

9. Архипов, И.А. Антигельминтики: фармакология и применение / И.А. Архипов. – М., 2009. – 415 с.

10. Архипов, И.А. Антигельминтная эффективность вигисокса при гельминтозах овец / И.А. Архипов, А.В. Радионов, Е.Е. Белова, К.М. Садов, А.И. Архипова // Российский паразитологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 89-92.

11. Архипов, И.А. Влияние вигисокса на клинические, гематологические и биохимические показатели телок / И.А. Архипов, А.И. Варламова, Н.В. Данилевская // Российский паразитологический журнал. – 2013. – № 2. – С. 115-119.

12. Архипов, И.А. Инновационная технология приготовления антигельминтных препаратов / И.А. Архипов, Е.С. Енгашева, С.С. Халиков, А.В. Душкин // Ветеринария. – 2016. – № 12. – С. 3-10.

13. Архипов, И.А. Применение нано- и механохимической 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 и др. // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2016. – Вып. 17. - С. 30-36.

14. Архипов, И.А. Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов. Получение и свойства. Монография / 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. – М.: Новые авторы, 2017. – 90 с.

15. Архипов, И.А. Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе лабораторной модели / И.А. Архипов, А.И. Варламова,

И.М. Одоевская // Российский паразитологический журнал. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 58-63.

16. 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 // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 1. – С. 71-74.

17. Астафьев, Б.А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине / Б.А. Астафьев, Л.С. Яроцкий, М.Н. Лебедева. - М.: Наука, 1989. – 279 с.

18. Бабкин, В.А. Биомасса лиственницы от химического состава до инновационных продуктов. Монография. – М.: Изд-во СО РАН, 2011. – 231 с.

19. Беленький, М.Д. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Д. Беленький. – Л.: Госмедиздат, 1963. – 146 с.

20. Бибик, О.И. Адаптация взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» при паразитировании *Paramphistomum cervi* в тонком кишечнике овец / О.И. Бибик, И.А. Архипов, Л.В. Начева, М.С. Боборыкин // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 1. – С. 46-52.

21. Биттиров, А.М. Эффективность новых лекарственных композиций на основе альбендазола и фенбендазола при кишечных нематодозах овец / А.М. Биттиров, С.Ш. Кабардиев, О.А. Магомедов и др. // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2015. – Вып. 16. – С. 57-58.

22. Варламова, А.И. Токсикологические свойства нового комплексного препарата вигисокс / А.И. Варламова, Н.В. Данилевская // Российский паразитологический журнал. - 2012. - № 1. - С. 91-97.

23. Варламова, А.И. Эффективность вигисокса против основных нематодозов крупного рогатого скота при проведении комиссионных и производственных испытаний / А.И. Варламова, И.А. Архипов, Н.В.

Данилевская и др. // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 1. – С. 85-89.

24. 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.

25. Варламова, А.И. Эффективность супрамолекулярных комплексов антигельминтиков при желудочно-кишечных стронгилятозах овец в производственных условиях / А.И. Варламова, И.И. Гламаздин, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин, С.Д. Дурдусов, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. – 2015. – № 1. – С. 71-74.

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

27. Варламова, А.И. Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки / А.И. Варламова, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 2. – С. 83-87.

28. Варламова, А.И. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против нематод при комиссионном и производственном испытании / А.И. Варламова, И.А. Архипов, К.М. Садов, С.С. Халиков // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 2. – С. 93-97.

29. 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». – 2020. – Вып. 21. – С. 72-80.

30. Волков, Ф.А. Экологическая безопасность применения ивомека в свиноводческих хозяйствах / Ф.А. Волков // Ветеринария. – 1993. – № 7. – С. 35–36.
31. Гадаев, Х.Х. Рекомендации по борьбе с протостронгилезом жвачных животных в условиях центрального Кавказа / Х.Х. Гадаев // Российский паразитологический журнал. – 2009. – № 4. – С. 120-125.
32. Гламаздин, И.И. Антигельминтная эффективность лекарственных форм альбендазола, полученных по механохимической технологии и использованием адресной доставки Drug Delivery System на лабораторной модели / И.И. Гламаздин, И.А. Архипов, И.М. Одоевская, Н.В. Хилюта, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Российский паразитологический журнал. – 2013. – № 3. – С. 92-95.
33. Гламаздин, И.И. Эффективность лекарственных форм альбендазола как средств доставки, полученных по механохимической технологии при нематодозах овец / И.И. Гламаздин, И.А. Архипов, О.П. Курносова, С.С. Халиков, Ю.С. Чистяченко, А.В. Душкин // Ветеринария. – 2014. – № 5. – С. 32-36.
34. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – М.: Стандартиформ, 2007. – 7 с.
35. Грицкова, И.А. Полимеры в технологии лекарственных препаратов / И.А. Грицкова, С.А. Кедок, Н.А. Януль. Монография. – М., 2002. – 167 с.
36. Грушинская, В.А. Влияние бенацила на течение суягности овец / В.А. Грушинская // Бюл. Всес. Инст. Гельминтол. – 1983. – Вып. 33. – С. 574.
37. Гулякин, И.Д. Применение фармацевтической технологии для повышения биодоступности лекарственных веществ / И.Д. Гулякин, Л.Л. Николаева, Е.В. Санарова, А.В. Ланцова, Н.А. Оборотова // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 101-108.

38. Гуськов, С.А. Физико-химические основы механохимического получения быстрорастворимых дисперсных систем / С.А. Гуськов, А.В. Душкин, В.В. Болдырев // Химия в интересах устойчивого развития. – 2007. – Т. 15. – С. 35-43.
39. Демидов, Н.В. Антгельминтики в ветеринарии / Н.В. Демидов. – М.: Колос, 1982. – 367 с.
40. Дубинская, А.М. Механохимия лекарственных веществ / А.М. Дубинская // Хим.-фарм. журнал. – 1989. – Т. 23, № 2. – С. 755-764.
41. Душкин, А.В. Возможности механохимической технологии органического синтеза и получения новых материалов / А.В. Душкин // Химия в интересах устойчивого развития. – 2004. – Т. 12, № 3. – С. 251-274.
42. Душкин, А.В. Возможности механохимической технологии в получении быстрорастворимых лекарственных средств и биологически активных добавок / А.В. Душкин, С.А. Гуськов. В монографии «Химия твердого тела – медицине». – Екатеринбург, 2006. – С. 70-98.
43. Душкин, А.В. Механохимическое получение и свойства твердых дисперсий, образующих водорастворимые супрамолекулярные системы / А.В. Душкин, Е.С. Метелева, Ю.С. Чистяченко, С.С. Халиков // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 741-749.
44. Душкин, А.В. Механохимическая технология для повышения растворимости препаратов / А.В. Душкин, Л.Р. Сунцов, С.С. Халиков // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т. 1, № 2. – С. 448-457.
45. Дыбан, А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1970. – № 10. – С. 89–100.
46. Дыбан, А.П. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию / А.П. Дыбан, В.Ф. Пучков, Н.А. Чеботарь и др. М.: МЗ СССР, 1986. – 21 с.

47. Емельянова, Н.Б. Острая пероральная и кожная токсичность гранул с фенбендазолом и празиквантелом для диких животных / Н.Б. Емельянова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2007. – Вып. 8. – С. 129-130.

48. Емельянова, Н.Б. Влияние вигисола на пре- и постанатальное развитие крыс / Н.Б. Емельянова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2010. – Вып. 11. – С. 165-169.

49. Емельянова, Н.Б. Оценка вигисола на кумулятивное и антимиотическое действие / Н.Б. Емельянова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2010. – Вып. 11. – С. 169-171.

50. Емельянова, Н.Б. Подострая токсичность вигисола / Н.Б. Емельянова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2010. – Вып. 11. – С. 171-176.

51. Зубаирова, М.М. Эффективность антгельминтиков при смешанных гельминтозах овец в Дагестане / М.М. Зубаирова, А.М. Атаев, Н.Т. Карсаков // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2018. – Вып. 19. – С. 161-163.

52. Зуев, Д.В. Производственное испытание фезола при аскариозе и эзофагостомозе свиней / Д.В. Зуев // Матер. докл. междунар. науч. конф. всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2005. – Вып. 6. – С. 134-136.

53. Иванова, А.С. Принципы изучения иммунотоксического действия фармакологических препаратов / А.С. Иванова, Т.Б. Мастернак, А.И. Мартынов // Токсикологический вестник. – 2010. – № 5 (104). – С. 26-31.

54. Кабардиев, С.Ш. Опытные данные коммисионного испытання новой композиции Фенбентал гранулят 20 %-ый при моноинвазиях и смешанных инвазиях молодняка овец / С.Ш. Кабардиев, А.М. Биттиров, М.И. Калабеков и др. // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2018. – Вып. 19. – С. 167-170.

55. Каган, Ю.С. Кумуляция. Критерии и методы её оценки. Прогнозирование хронических интоксикаций / Ю.С. Каган. В кн.: Принципы и методы установления предельно допустимых концентрации вредных веществ в воздухе и в производственных помещений. М.: Медицина, 1970. – С. 49–65.

56. Калашников, А.П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. / А.П. Калашникова, В.И. Фисинин, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова и др. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Россельхозакадемия, 2003. – 456 с.

57. Каплун, А.П. Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ / А.П. Каплун, Ле Банг Шон, Ю.М. Краснопольский и др. // Вопросы мед. химии. – 1999. – Т. 45, Вып. 1. – С. 3-13.

58. Карагяур, М.Н. Разработка подходов к биотехнологическому получению вакцин для профилактики тканевых гельминтозов у сельскохозяйственных животных / М.Н. Карагяур, А.В. Успенский, В.Е. Абрамов, И.А. Архипов, С.В. Абрамов, А.В. Балышев // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. л-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2020. – Вып. 21. – С. 123-127.

59. Кармалиев, Р.С. Инвазированность гельминтами диких жвачных в Западно-Казахстанской области и активность супрамолекулярного комплекса альбендазола с поливинилпирролидоном при гельминтозах / Р.С. Кармалиев, И.А. Архипов, Б.М. Сидихов, Ж.Т. Усенов, Б.Т. Ертлеуова, Д.Е.

Габдуллин // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 2. – С. 32-37.

60. Кирш, Ю.Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды / Ю.Э. Кирш. – М.: Наука, 1998. – 156 с.

61. Колесникова, О.П. Испытание иммуноактивных свойств цидектина, аверсектина и ивомека на интактных мышах *in vivo* и в культуре *in vitro* / О.П. Колесникова, П.И. Смирнов // Вестник Новосибирского ГАУ. – 2009. – № 10. – С. 31-34.

62. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И.П. Кондрахин. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.

63. Котельников, Г.А. Диагностика гельминтозов животных / Г.А. Котельников. – М.: Колос, 1974. – 240 с.

64. Кочетков, П.П. Определение фенбендазола и его метаболитов в крови коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим 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 // Российский паразитологический журнал. – 2016. – Т. 38, № 4. – С. 554-562.

65. Кряжев, А.Л. Определение терапевтической эффективности гелмицида, фезола и альбена при цестодозах и нематодозах крупного рогатого скота в Вологодской области / А.Л. Кряжев // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2015. – Вып. 16. – С. 188-190.

66. Лагерева, Е.В. Эффективность супрамолекулярного комплекса на основе албендазола и триклабендазола при фасциолёзе и нематодозах пищеварительного тракта овец / Е.В. Лагерева, В.Е. Абрамов, М.Б. Мусаев, С.С. Халиков // Российский паразитологический журнал. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 82–88.

67. Ларина, И.П. Иммуотропные свойства фензола и фенбендазола / И.П. Ларина // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол.

РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2004. – Вып. 5. – С. 224-225.

68. Ларина, И.П. Влияние фезола на иммунобиологическую реактивность овец / И.П. Ларина // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2006. – Вып. 7. – С. 209-211.

69. Магомедов, О.А. Сравнительная эффективность Фебтал гранулята и Гельмицида гранулята при мониезиозе ягнят методом группового назначения / О.А. Магомедов, А.А. Гадаева, С.Ш. Кабардиев, А.М. Биттиров // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2018. – Вып. 19. – С. 268-270.

70. Малахова, Е.И. Влияние фенасала и ацемидофена на клеточный и гуморальный иммунитет в эксперименте / Е.И. Малахова, Н.П. Фролова // Матер. докл. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. – 1980. – Вып. 32. – С. 59.

71. Мальцев, К.Л. Оценка эффективности антигельминтиков при протостронгилидозах овец / К.Л. Мальцев, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2004. – Вып. 5. – С. 240-244.

72. Мамыкова, О.И. Оценка иммунобиологического статуса животных после дегельминтизации и пути его коррекции: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.20 / Ольга Ивановна Мамыкова. – М., 1989. – 22 с.

73. Медведева, Е.Н. Получение высокочистого арабиногалактана лиственницы и исследование его иммуномодулирующих свойств / Е.Н. Медведева, В.А. Бабкин, О.А. Макаренко и др. // Химия растительного сырья. – 2004. – № 4. – С. 17-23.

74. Метелева, Е.С. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых межмолекулярных комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ / Е.С. Метелева, А.В.

Душкин, Т.Г. Толстикова и др. // Химия и медицина: VI Всерос. науч. сем. – Уфа, 2007. – С. 189-190.

75. Метелева, Е.С. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ / Е.С. Метелева, А.В. Душкин, Т.Г. Толстикова и др. // Известия РАН. Сер. Хим. – 2008. – № 6. – С. 1274-1283.

76. Метелева, Е.С. Физико-химические свойства и противоописторхозное действие механохимически синтезированных твердых композиций празиквантела и динатриевой соли глицирризиновой кислоты / Е.С. Метелева, Ю.С. Чистяченко, Л.П. Сунцова, М.А. Цыганов, Г.Б. Вишнинецкая, Д.Ф. Августинович, М.В. Хвостов, Н.Э. Поляков, Т.Г. Толстикова, В.А. Мордвинов, А.В. Душкин, Н.З. Ляхов // Доклады академии наук. – 2018. – Т. 481, № 6. – С. 694-697.

77. Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны от 11 августа 1980 г. N 2196-80.

78. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств. Ведомости Фармакологического Комитета. – 1998. – № 1. – С. 13–20.

79. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

80. Мусаев, М.Б. Сравнительная оценка эффективности фезола и фенбендазола при дикроцелиозе овец и крупного рогатого скота / М.Б. Мусаев // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2006. – Вып. 7. – С. 256-258.

81. Мусаев, М.Б. Эффективность празифена при гельминтозах овец и коз / М.Б. Мусаев, М.В. Шамхалов, Г.Х. Азаев и др. // Российский паразитологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 93-97.

82. Никанорова, В.Г. Химиопрофилактика гельминтозов при выпасе жвачных животных на низинных заливных пастбищах / В.Г. Никанорова, Е.Н. Крючкова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2019. – Вып. 20. – С. 416-420.

83. Никитин, В.Ф. Определение терапевтической эффективности фаскоцида, гелмицида, фезола и альбена при трематодозах крупного рогатого скота в Вологодской области / В.Ф. Никитин, А.Л. Кряжев // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2015. – Вып. 16. – С. 298-300.

84. Панова, О.А. Опыт воздействия супрамолекулярного альбендазола на соматических личинок *Toxocara canis* у лабораторных мышей / О.А. Панова, А.В. Хрусталева, И.А. Архипов, С.С. Халиков // Российский паразитологический журнал. – 2020. – Вып. 14, № 1. – С. 96-104.

85. Пасечник, В.Е. Эффективность фенбендазола и албендазола при токсаскаридозе зоопарковых и цирковых крупных хищных / В.Е. Пасечник // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2012. – Вып. 13. – С. 303-306.

86. Петров, Ю.Ф. Средства терапии животных при микстинвазиях / Ю.Ф. Петров, В.М. Кузнецов, К.М. Садов и др. // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2004. – Вып. 5. – С. 308-311.

87. Петров, Ю.Ф. Изыскание средств дегельминтизации плотоядных при микстиназиях / Ю.Ф. Петров, А.Н. Шишкаренко, В.И. Роменский, С.А. Акимов, А.Ю. Гудкова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва

гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2005. – Вып. 6. – С. 275-276.

88. Петров, Ю.Ф. Изыскание средств дегельминтизации жвачных животных при микстинвазии / Ю.Ф. Петров, О.Р. Еремеева, К.М. Садов, Х.С. Абдуллаев, А.Ю. Гудкова // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2005. – Вып. 6. – С. 273-274.

89. Пономарь, С.И. Влияние антигельминтиков в терапевтических дозах на иммунобиологическую реактивность поросят при нематодозах / С.И. Пономарь // Бюл. Всес. ин-та гельминтол. – 1990. – Вып. 43. – С. 31-34.

90. Правила Европейской конвенции по защите позвоночных животных, использованных для экспериментальных и научных целей (ETS 123). – Страсбург, 1986.

91. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

92. Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».

93. Приказ МЗ РФ 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

94. Радионов, А.В. Эффективность албендазола и фенбендазола при трихоцефалезе крупного рогатого скота / А.В. Радионов, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2007. – Вып. 8. – С. 288-289.

95. Радионов, А.В. Резистентность *Nematodirus* spp. крупного рогатого скота к действию бензимидазолов в хозяйствах центрального региона России / А.В. Радионов, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2008. – Вып. 9. – С. 390-392.

96. Радионов, А.В. Распространение нематодозов крупного рогатого скота при разной технологии содержания в России / А.В. Радионов, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 54-58.
97. Радионов, А.В. Оценка эффективности антигельминтиков при диктиокаулезе телят / А.В. Радионов, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2012. – Вып. 13. – С. 331-332.
98. Ройт, И. Основы иммунологии / И. Ройт. – М.: Мир, 1991. – С. 281-285.
99. Русаков, С.В. / С.В. Русаков, П.П. Диденко, Д.В. Зуев // Труды Всерос. Ин-та гельминтол. – 2006. – Т. 42. – С. 280-285.
100. Рябова, В. А. Эмбриотоксикологическое и тератогенное действие БМК на зародышей крыс / В.А. Рябова, Л.А. Лаптева // Бюл. Всес. Ин-та гельминтол. – 1981. – Вып. 28. – С. 56-60.
101. Салгириев, И.Р. Оценка празифена на эмбриотоксическое и тератогенное действие / И.Р. Салгириев, М.Б. Мусаев // Российский паразитологический журнал. – 2013. – № 3. – С. 101-105.
102. Сафиуллин, Р.Т. Распространение и экономический ущерб от основных гельминтозов жвачных / Р.Т. Сафиуллин // Ветеринария. – 1997. – № 6. – С. 28-32.
103. Сафиуллин, Р.Т. Ущерб от смешанной инвазии коров и молодняка крупного рогатого скота, вызванный фасциолами и стронгилятами пищеварительного тракта / Р.Т. Сафиуллин, К.А. Хромов // Российский паразитологический журнал. – 2009. - № 2. – С. 81-85.
104. Сафиуллин, Р.Т. Сравнительная эффективность фенбендазола, производимого разными фирмами при гельминтозах свиней / Р.Т. Сафиуллин // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2010. – Вып. 11. – С. 409-413.

105. Селютина, О.Ю. Исследование мембраномодифицирующей активности глицирризиновой кислоты / О.Ю. Селютина, И.Е. Апанасенко, Н.Э. Поляков // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. - № 7. – С. 1555-1559.
106. Сеньюва, Х.З. Простое руководство для пользователей по разработке и валидации методов / Х.З. Сеньюва, Дж. Гилберт. – М: Ториус 77, 2011. – 43 с.
107. Скрыбин, К.И. Определитель паразитических нематод / К.И. Скрыбин. – Стронгилята. Т. III. – М.: Академия наук СССР. – 1952.
108. Тенцова, А.И. Твердые дисперсные системы в фармации / А.И. Тенцова, А.Е. Добротворский // Фармация. – 1981. – № 2. – С. 65-69.
109. Тенцова, А.И. Полимеры в фармации / А.И. Тенцова, М.Т. Алюшина. – М.: Медицина, 1985. – 256 с.
110. Трач, В.Н. Паразитические личинки стронгилят жвачных домашних / В.Н. Ткач. – Киев: Наукова думка, 1982. – 128 с.
111. Успенский, А.В. Перспективы вакцинации животных при эхинококкозе // А.В. Успенский, М.В. Арисов, И.А. Архипов, В.Е. Абрамов, М.Н. Карагяур // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». - 2020. – Вып. 21. – С. 444-449.
112. Фолькер, Б. Коллидон: поливинилпирролидон для фармацевтической промышленности / Б. Фолькер. Монография. – Калининград, 2003. – 310 с.
113. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
114. Халиков, М.С. Механохимическая модификация триклабендазола для получения эффективного противофасциоцидного препарата / С.С. Халиков М.Б. Мусаев, М.М. Ильин, С.С. Халиков, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. л-ва гельминтол. РАН «Теория и

практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2020. – Вып. 21. – С. 450-455.

115. Халиков, С.С. Механохимическая модификация антигельминтных препаратов / С.С. Халиков, М.С. Халиков, Е.С. Метелева и др. // Химия в интересах устойчивого развития. – 2011. – Т. 19, № 6. – С. 699-703.

116. 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, Е.С. Метелева, Н.Э. Поляков, И.А. Архипов, А.И. Варламова, И.И. Гламаздин, Н.В. Данилевская // Химия в интересах устойчивого развития. – 2015. – Т. 23, № 5. – С. 567-577.

117. Халиков, С.С. Способы увеличения растворимости лекарственных веществ: принципы, технологии, свойства / С.С. Халиков, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». - 2017. – Вып. 18. - С. 513-516.

118. Халиков, С.С. Инновационные бензимидазольные антигельминтные препараты: способы получения и свойства / С.С. Халиков, А.В. Душкин, И.А. Архипов // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2018. – Вып. 19. – С. 489-491.

119. 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. Междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». - 2019. – Вып. 20. – С. 663-670.

120. Цолоев, А.Х. Особенности краевой эпизоотологии, биологии и экологии возбудителей мониезиоза и тизаниезиоза овец: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19 / Цолоев Абу Хасанович. – Махачкала, 2002. – 21 с.
121. Шишкарев, С.А. Терапевтическая и экономическая эффективность антгельминтиков иверсекта и фенбендазола при эзофагостомозе овец в СПК ПЗ «Ленинский путь» / С.А. Шишкарев, С.Н. Малунев // Матер. докл. Междунар. науч. конф. Всерос. л-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». - 2019. – Вып. 20. - С. 724-729.
122. Штильман, М.И. Полимеры медико-биологического назначения / М.И. Штильман. – М.: Академкнига, 2006. – 400 с.
123. Шумакович, И.Е. Сроки выведения фенбендазола из организма лошадей после лечения празифеном / И.Е. Шумакович, М.Б. Мусаев, И.Р. Салгириев, И.А. Архипов // Российский паразитологический журнал. – 2013. - № 3. – С. 106-110.
124. Эпштейн, Н. А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) / Н.А. Эпштейн // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – Т. 38, № 4. – С. 40-56.
125. Adams, H.R. Veterinary Pharmaceuticals and Therapeutics / H.R. Adams. – 7th edition. Ames: Iowa State University Press, 1995. – 1181 p.
126. Alexander, L.E. X-ray diffraction methods in polymer science / L.E. Alexander. – N.Y.: Intersci.-John Wiley, 1969. – 119 p.
127. Ali, H.S.M. Preparation of hydrocortisone nanosuspension through a bottom-up nanoprecipitation technique using microfluidic reactors / H. S.M. Ali, P. York, N. Blagden // International Journal of Pharmaceutics. 2009. – V. 375, No 1–2. – P. 107-113.
128. Allen, T.M. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications / T.M. Allen, P.R. Cullis // Adv. Drug Del. Rev. - 2013. - V. 65. - P. 36-48.

129. Almeida, M.P. Optimization and validation method to evaluate the residues of β -lactams and tetracyclines in kidney tissue by UPLC-MS/MS / M.P. Almeida, C.P. Rezende, F.D. Ferreira, L.F. Souza, D.C. Assis, T.C. Figueiredo, M. Oliveira Leite, S.V. Cançado // *Talanta*. – 2015. – V. 144. – P. 922–932.
130. Amin, M.R. Effects of Helmex and Peraclear against gastrointestinal nematodiasis in sheep / M.R. Amin, S.M.A. Khalid, M.O. Alam et al. // *J. Animal and Vet. Adv.* – 2005. – V. 4, No 1. – P. 58-62.
131. 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. Sadov, Y.V. Limova, A.K. Sadova, A.I. Varlamova, S.S. Khalikov, A.V. Dushkin, Y.S. Chistyachenko // *Veterinary Parasitology*. – 2017. – V. 246. – P. 25–29.
132. 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. Sadov et al. // *Journal of advanced veterinary and animal research*. – 2019. – V. 6, No 1. – P. 133-141.
133. Atanasio, A. A survey on the occurrence of resistance to anthelmintics of gastrointestinal nematodes of goats in Mozambique / A. Atanasio, J. Boomker, C. Siteo // *Onderstepoort J. of Vet. Res.* – 2002. – V. 69, No 3. – P. 215-220.
134. Baeder, C. Fenbendazole: A new, highly effective anthelmintics / C. Baeder, H. Bahr, O. Christ, D. Duwel et al. // *Experientia*. – 1974. – V. 39. – P. 753-754.
135. Bartley, D.J. Characterization of two triple resistant field isolates of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farm / D.J. Bartley, E. Jackson, F. Jackson et al. // *Vet. Parasitol.* – 2004. – V. 123, No 3-4. – P. 189-199.
136. Bartley, D.J. Further characterization of a triple resistant field isolate of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farm / D.J. Bartley, E. Jackson, N. Sargison et al. // *Vet. Parasitol.* – 2005. – V. 134, No 3-4. – P. 261-266.

137. Becker, W. Assessment of residues after administration of Panacur / W. Becker // *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 1976. – V. 89, No 23. – P. 453-456.
138. Belicova, A. Antimutagenic effect of heteroxilans, arabinogalactans, pectins and mannans in the euglena assay / A. Belicova, L. Ebringer, J. Krajcovic et al. // *World J. of Microbiol. and Biotechnology*. – 2001. – V. 17, No 3. – P. 293-299.
139. Benz, G.W. Action of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep / G.W. Benz // *Amer. J. Vet. Res.* – 1978. – V. 39, No 9. – P. 1107-1108.
140. Biju, S.S. Vesicular systems: An overview / S.S. Biju, S. Talegaonkar, P.R. Misra, R.K. Khar // *Indian J. Pharm. Sci.* – 2006. – V. 68, No 2. – P. 141-153.
141. Bossche, H. Anthelmintic efficacy of fenbendazole / H. Bossche, F. Rochette, C. Horig // *Vet. Rec.* – 1982. – V. 78, No 3. – P. 876-877.
142. Bushra, M. Efficacy of closantel, fenbendazole and ivermectin against GL helminthes of cattle in central Kashmir / M. Bushra, R.A. Shahardar, I.M. Allaie et al. // *J. Parasit. Dis.* – 2019. – 1-5. <https://doi.org/10.1007/s12639-019-01091-w>
143. Campbell, W.C. Chemotherapy of parasitic diseases / W.C. Campbell, R.S. Rew. – New York and London: Springer, 1986. – 655 p.
144. Carroll, R.J. Transformation and Weighting in Regression / R.J. Carroll, D. Ruppert. – New York: Chapman and Hall, 1988. – 264 p.
145. Carter, N.J. Extended-release intramuscular paliperidone palmitate: a review of its use in the treatment of schizophrenia / N.J. Carter // *Drugs*. – 2012. – V. 72, No 8. – P. 1137-1160.
146. Cawthorne, R.J.G. Anthelmintics for cattle, sheep, goats, pigs, horses and poultry / R.J.G. Cawthorne. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Booklet 2412, Weybridge, Surrey, England, 1984. – 280 p.
147. Chalmers, K. The efficacy of oxfendazole against natural infections of nematodes and cestodes in sheep // *N. Zeland. Vet. J.* – 1977. – V. 25, № 1. – P. 266–269.

148. Chartier, C. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France / C. Chartier, I. Pors, J. Hubert et al. // *Small rumin. Res.* – 1998. – V. 29, No 1. – P. 33-41.

149. Chen, D. Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry with pressurized liquid extraction method for the determination of benzimidazole residues in edible tissues / D. Chen, Y. Tao, H. Zhang, Y. Pan, Z. Liu, L. Huang, Y. Wang, D. Peng, X. Wang, M. Dai, Z. Yuan // *J. Chromatogr.* – 2011. – B 879. – P. 1659–1667.

150. Chiap, P. An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progress and limitations / P. Chiap, B. Boulanger, W. Dewe, J. Crommem, P. Hubert // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – V. 32. – P. 753–765.

151. Chintalwar, G. An immunologically active arabinogalactan from *Tinospora cordifolia* / G. Chintalwar, A. Jain, A. Sipahimalani et al. // *Phytochemistry.* – 1999. – V. 52, No 6. – P. 1089-1093.

152. Chistyachenko, Yu.S. Physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and polysaccharide arabinogalactan from larch wood / Yu.S. Chistyachenko, E.S. Meteleva, M.Y. Pakharukova, A.V. Katokhin, M.V. Khvostov, A.I. Varlamova, I.I. Glamazdin, S.S. Khalikov, N.E. Polyakov, I.A. Arkhipov, T.G. Tolstikova, V.A. Mordvinov, A.V. Dushkin, N.Z. Lyakhov // *Current Drug Delivery.* – 2015. – V. 12, No 5. – P. 477-490.

153. Christ, O. Studies on pharmacokinetics and metabolism with fenbendazole – a new anthelmintic / O. Christ, H. Kellner, G. Klopffer // *Proceedings 3rd International Congress of Parasitology, Munich, 1974.* – V. 3. – P. 1448–1449.

154. Codex Alimentarius Commission, Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for Residues of Veterinary Drugs in Foods, Updated as at the 38th Session of the Codex Alimentarius Commission. – 2015. – 41 p.

155. Coles, G.C. Biochemical mode of action of some modern anthelmintics / G.C. Coles // *Pestic. Sci.* – 1977. – V. 8, No 3. – P. 536-543.
156. Coles, G.C. World Association for the Advancement of Veterinary parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance / G.C. Coles, C. Bauer, F.H. Borgsteede et al. // *Vet. Parasitol.* – 1992. – V. 44, No 1-2. – P. 35-44.
157. Coles, G.C. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance / G.C. Coles, F. Jackson, W.E. Pomroy, R.K. Prichard et al. // *Vet. Parasitol.* – 2006. – V. 136, No 3-4. – P. 167-185.
158. Craig, T.M. Evalution of levamisole and fenbendazole as an anthelmintic for gastrointestinal nematodes of cattle / T.M. Craig, R.R. Bell // *Amer. J. of Vet. Res.* – 1978. – V. 39, No 6. – P. 1037-1038.
159. Cruz, D.G. Anthelmintic efficacy and management practices in sheep farms from the state of Rio de Janeiro, Brazil / D.G. Cruz, L.O. Rosha, S.S. Arruda et al. // *Vet. Parasitol.* – 2010. – V. 170, No 3-4. – P. 340-343.
160. Danaher, M. Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices / M. Danaher, H. De Ruyck, S.R.H. Crooks, G. Dowling, M. O’Keeffe // *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2007. – V. 845. – P. 1–37.
161. De Jong, W.Y. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards / W.Y. De Jong, P.J. Borm // *Jnt. J. Nanomedicine.* – 2008. – V. 3, No 2. – P. 133-149.
162. Delatour, P. The embryotoxic and antimitotic properties of a series of benzimidazoles / P. Delatour, Y. Richard // *Therapie.* – 1976. – V. 31, No 4. – P. 505-515.
163. Delatour, P. Embryotoxicite oomparee du fenbendazole et de ses metabolites / P. Delatour, M. Lapras // *Actual. Toxicol. – Act. I-er Congr. Mond. toxicol. Clin. et Cent, antipoisons.* – Lyon, 1978. – P.145-146.

164. Dogra, N. Fenbendazole acts as moderate microtubule destabilizing agent and causes cancer cell death by modulating multiple cellular pathways / N. Dogra, A. Kumar, T. Mukhopadhyay // Sci. reports. – 2018. – V. 8. – P. 11926.
165. Dowling, G. Multi-residue method for the determination of benzimidazoles in bovine liver / G. Dowling, H. Cantwell, M. O'Keeffe, M.R. Smyth // Anal. Chim. Acta. 2005. – V. 529. – P. 285–292.
166. Dushkin, A.V. Complexes of polysaccharides and glycyrrhizic acid with drug molecules / A.V. Dushkin, T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov et al. // In: D.N. Karunaratne (ed.) The complex world of polysaccharides. In Tech, Rijeka, Croatia, 2012; 573-602.
167. Dushkin, A.V. Mechanochemical preparation of supramolecular delivery systems for biology active molecules / A.V. Dushkin, T.G. Tolstikova, M.I. Khvostov, N.E. Polyakov, S.S. Khalikov // Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies. The Book of Abstracts of the V International Conference, 2018. – 62 p.
168. Dvoroznakova, E. Effect of treatment with free and liposomized albendazole on selected immunological parameters and cyst growth in mice infected with *Echinococcus multilocularis* / E. Dvoroznakova, G. Hreckova, Z. Boroskova, S. Velebny, P. Dubinsky // Parasitol. Int. – 2004. – V. 53, No 4. – P.315-325.
169. Düwel, D. Zur Pharmacokinetic von Fenbendazole / D. Düwel, P. Hajdu, D. Damm // Berl. Munch. Tierarztl. Wschr. – 1975. – V. 88, No 7. – P. 131-134.
170. Düwel, D. Anthelmintic efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes / D. Düwel // Vet. Rec. – 1976. – No 21. – P. 375.
171. Düwel, D. Safety of fenbendazole in animals / D. Düwel // Amer. J. Vet. Res. – 1976. – No 36, No 3. – P. 104-107.
172. Düwel, D. Fenbendazole. II. Biological properties and activity / D. Düwel // Pestic. Sci. – 1977. – V. 8. – P. 550-555.

173. Düwel, D. In vivo studies on the mode of action of fenbendazole / D. Düwel, H. Schleich. // Journal of veterinary medicine. – 1978. – V. 25, No 10. – P. 800-805.
174. Düwell, D. Wirkung von fenbendazole bei parasitischen Krankheiten / D. Düwell, H. Strasser // Dtsch. Tierärztl. Wsch. – 1978. – V. 85, No 2. – P. 239-241.
175. Düwel, D. Treatment of helminthiasis in ruminants – a review. / D. Düwell // Berliner und Munchener tierärztliche Wochenschrift . – 1981. – V. 94, No 19. – P. 378-382.
176. European Medicines Agency. Guideline on validation of bioanalytical methods. Committee for Medicinal Products for Human Use, London. – 2009.
177. Emsley, J.W. High resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy / J.W. Emsley, J. Freeney, L.H. Sutcliffe. - Oxford: Pergamon Press, 1965.
178. Enigk, K. Behand lung versuche mit fenbendazole / K. Enigk, A. Day-Hazra // Pract. tierärztl. – 1974. – V. 81, № 8. – P. 605-628.
179. Enouri, S.S. Tissue residue depletion of fenbendazole after oral administration in turkeys / S.S. Enouri, M.T. Guerin, I.G. Wilson, P.M. Dowling, R.J. Johnson // Can. Vet. J. – 2019. – V. 60, No 3. – P. 282-286.
180. Ermer, J. Method Validation in Pharmaceutical Analysis / J. Ermer, J.H.McB. Miller (Eds) // Wiley-VCH, Weinheim. – 2006. – 418 pp.
181. Esfandiari, F. Paromomycin-loaded mannosylated chitosan nanoparticles: synthesis, characterization and targeted drug delivery against leishmaniasis / F. Esfandiari, M.H. Motazedian, Q. Asgari, M.H. Morowvat, M. Molaei, H. Heli // Acta Trop. – 2019. – V. 197:105072.
182. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986.
183. Farias, M.T. A survey on resistance to anthelmintics in sheep stud farms of Southern Brazil / M.T. Farias, E.L. Brodin, A.B. Forbes et al. // Vet. Parasitol. – 1997. – V. 72, No 2. – P. 209-214.

184. Fenbendazole (WHO Food Additives Series 29).
<http://incchem.org/documents/jecmono/v29je04.htm>
185. Fulop, V. Study on the dissolution improvement of albendazole using reconstitutable dry nanosuspension formulation / V. Fulop, G. Jakab, T. Bozo, B. Toth, D. Edresik, E. Balogh, M. Kellermayer, I. Antal // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2018. – V. 123. – P. 70-78.
186. Furmaga, St. Panacur-Hoechst w leczeniu robaczycy zoladkowojelitowej owiec / St. Furmaga, J.L. Gundlach, J. Filar // *Med. Vet.* – 1977. – V. 33. – P. 137–141.
187. García-Gómez, D. A fast and reliable method for the quantitative determination of benzimidazoles and metabolites in milk by LC-MS/MS with on-line sample treatment / D. García-Gómez, M. García-Hernández, E. Rodríguez-Gonzalo, R. Carabias Martínez // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2012. – V. 404. – P. 2909–2914.
188. Gili, M. Multiresidue screening method for detection of benzimidazoles and their metabolites in liver and muscle by high-performance liquid chromatography: method development and validation according to Commission decision 2002/657/EC. / M. Gili, M. Prearo, P. Stella, F. Ostorero, M.C. Abete // *Ital. J. Food Saf.* – 2014. – V. 3. – P. 1–5.
189. Gokbulut, C. Comparative plasma disposition of fenbendazole, oxfendazole and albendazole in dogs / C. Gokbulut, A. Bilgili, B. Hanedan, Q.A. McKellar // *Vet. Parasitol.* – 2007. – V. 148, No 2. – P. 279-287.
190. Gottschall, D.W. The metabolism of benzimidazole anthelmintics / D.W. Gottschall, V.J. Theodorides, R. Wang // *Parasitol. Today.* – 1990. – V. 6. – P. 119–124.
191. Graebin, C.S. The pharmacological activities of glycyrrhizinic acid (“Glycyrrhizin”) and glycyrrhetinic acid. In: J.M. Merillon, K. Ramawat (УВЫ) *Sweeteners. Reference series in Phytochemistry.* - Springer, Cham, 2016.

192. Groman, E.V. Arabinogalactan for hepatic drug delivery / E.V. Groman, P.M. Enriquez, J. Chu, L. Josephson // *Bioconjugate Chem.* – 1994. – No 5. – P. 547-556.

193. Groman, E.V. Delivery of therapeutic agents to receptors using polisaccharides. Patent 5544386 USA / E.V. Groman, E.T. Menz, P.M. Enriquez et al. // *PCT Int. Appl.* – WO 9534. – 325. – 1995-1996. – CA 1996. – V. 125. – P. 2849115z.

194. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens. A commitment to quality and continuous improvement. Laboratory and Scientific Section United Nations Office On Drugs And Crime. Vienna. – 2009.

195. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). Biopharmaceutics, 2018.

196. Gupta, S. Biocompatible microemulsion systems for drug encapsulation and delivery / S. Gupta // *Curr. Sci.* – 2011. – V. 101. – P. 174-188.

197. Hagra, N.A. Successful treatment of acute experimental toxoplasmosis by spiramycin-loaded chitosan nanoparticles / N.A. Hagra, A.F. Allam, H.F. Farag, M.M. Osman, T.I. Shalaby, N.M.F.H. Mogahed, M.M. Tolba, A.Y. Shehab // *Exp Parasitol.* – 2019. – V. 204:107717.

198. Hajdú, P. A new fluorometric method for the determination of drugs in biological material / P. Hajdú, D. Damm // *Arzneimittelforschung.* – 1976. – V. 26, No 12. – P. 2141-2145.

199. Hansen, T.V.A. Pathway of oxfendazole from the host into the worm: *Trichuris suis* in pigs / T.V.A. Hansen, A.R. Williams, M. Denwood, P. Nejsun, S.M. Thamsborg, C. Friis // *Drugs and Drug Resistance.* – 2017. – V. 7, No 4. – P. 416-424.

200. Hartmann, C. Validation on bioanalytical chromatographic methods / C. Hartmann, J. Smeyers-Verbeke, D.L. Massart, R.D. McDowall // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1998. – V. 17. – P. 193–218.
201. Hayes, R.H. Toxicity investigation of fenbendazole, an anthelmintic of swine / R.H. Hayes, F.W. Oehme, H. Leipold // Amer. J. Vet. Res. – 1983. – V. 44. – P. 1108-1111.
202. Heidari-Kharaji, M. Solid lipid nanoparticle loaded with paromomycin: in vivo efficacy against *Leishmania tropica* infection in BALB/c mice model / M. Heidari-Kharaji, T. Taheri, D. Doroud, S. Habibzadeh, S. Rafati // Appl Microbiol Biotechnol. – 2016. – V 100, No 16. – P. 7051–7060.
203. Hennessy, D.R. Biliary secretion and enterohepatic recycling of fenbendazole metabolites in sheep / D.R. Hennessy, J.W. Steel, R.K. Prichard // J. Vet. Pharmacol. Ther. – 1993. – V. 16. – P. 132-140.
204. Ho, N.F.H. Mechanistic studies in the transcuticular delivery of antiparasitic drugs II: ex vivo/in vitro correlation of solute transport by *Ascaris suum* / N.F.H. Ho, T.G. Geary, C.L. Barsuhn, S.M. Sims, D.P. Thompson // Mol. Biochem. Parasitol. – 1992. – V. 52. – P. 1–13.
205. Hollis, C. Biodistribution and bioimaging studies of hybrid paclitaxel nanocrystals: lessons learned of the EPR Effect and Image-Guided Drug Delivery / C. Hollis, H.L. Weiss, M. Leggas, B. M. Evers, R.A. Gemeinhart, Tonglei Li // Journal of controlled release. – 2013. – V. 172, No 1. – P. 12-21.
206. Holsback, L. Anthelmintic efficiency of doramectin, fenbendazole and nitroxynil in combination or individually, in sheep worm control / L. Holsback, P.A.R. Luppi, C.S. Silva // Braz. J. Vet. Parasitol. – 2016. – V. 25, No 3. – P. 353-358.
207. Hou, X.L. Development and validation of an ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of sulfonamides, quinolones and bendimidazoles in bovine milk / X.L. Hou, G. Chen, L. Zhu, T. Yang, J. Zhao, L. Wang, Y.L. Wu // J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. – 2014. – V. 962. – P. 20–29.

208. Islam, M. Comparative efficacy of albendazole, fenbendazole and levamisole against gastrointestinal nematodosis in cattle of Bangladesh / M. Islam, S. Islam, M.R. Howlader, N.S. Lucky // Intern. J. of Biol. Res. – 2015. – V. 3, No 1. – P.25-35.
209. Jagannath, M.S.D. Clinical trials with fenbendazole against strongyle infection in dairy cattle / M.S.D. Jagannath, P.E. Sonza, A.C. Rahman // Livestock Adv. – 1988. – V. 13, No 1. – P. 39-41.
210. James, R. Zur Prüfung von Panacur in Australien / R. James // Die Blauen Hefte. – 1979. – V. 59. – P. 465–474.
211. Kalaiselvan, R. Studies on mechanism of enhanced dissolution of albendazole solid dispersions with crystalline carriers / R. Kalaiselvan, G.P. Mohanta, P.K. Manna, R. Manavalan // Ind. J. of Pharm. Sci. – 2006. – No 9. – P. 599-607.
212. Kalia, A. Solid dispersions: an approach towards enhancing dissolution rate – a review / A. Kalia, M. Poddar // Int. J. Pharm. Sci. – 2011. – V. 3, No 4. – P. 9-19.
213. Kalpana, P. Solid dispersion: approaches, technology involved, unmet need challenges / P. Kalpana, S. Manish, S.K. Dinesh, J.K. Surenda // Drug Invent. Today. – 2010. – V. 2, No 3. – P. 349-357.
214. Kaneo, Y. Pharmacokinetics and biodisposition of fluorescent-labeled arabinogalactan in rats / Y. Kaneo, T. Ueno, H. Twase et al. // Int. J. Pharm. – 2000. – V. 201, No 1. – P. 59-69.
215. Kang, J. Cyclodextrin complexation: influence on the solubility and cytotoxicity of camptothecin, an antineoplastic agent // Europ. J. Pharm. – 2002. – No 15. – P. 163-170.
216. Kang, J. Simultaneous determination of multi-class veterinary drug residues in different muscle tissues by modified QuEChERS combined with HPLS-MS/MS / J. Kang, C.L. Fan, Q.Y. Chang, M.N. Bu, Z.Y. Zhao, W. Wang, G.F. Pang // Anal. Methods. – 2014. – V. 6. – P. 6285–6293.

217. Keck, C.M. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogeny / C.M. Keck, R.H. Muller // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2006. – V.62, No 1. – P. 3-16.
218. Kelly, J. D. The anthelmintic efficacy of fenbendazole against a mixed nematode infection in sheep / J. D. Kelly, H.V. Whitlock, R. S. Hogarth-Scott, F. Mears // *Research in veterinary science*. – 1975. – V. 19, No 1. – P. 105-107.
219. Khalikov, S.S. Methods for obtaining solid dispersions of drugs and their properties / S.S. Khalikov, B.V. Lokshin, M.M. Ilyin, A.I. Varlamova, M.B. Musaev, I.A. Arhipov // *Russian Chemical Bulletin*. – 2019. – V. 68, № 10. – P. 1924-1932.
220. Kirsch, R. Laboratory investigation in sheep with a new anthelmintic / R. Kirsch, D. Duwel // *Vet. Rec.* – 1975. – V. 97, No 2. – P. 28-31.
221. Kong, R. Enhanced solubility and bioavailability of simvastatin mechanochemically obtained complexes / R. Kong, X. Zhu, E.S. Meteleva, Yu.S. Chistyachenko, L.P. Suntsova, N.E. Polyakov, M.V. Khvostov, D.S. Baev, T.G. Tolstikova, A.V. Dushkin, W. Su // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2017. – V. 534. – P. 108-118.
222. Kornievskaya, V.S. NMR and photo-CIDNP investigations of the glycyrrhizinic acid micelles influence on solubilized molecules / V.S. Kornievskaya, A.I. Kruppa, T.V. Leshina // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* – 2008. – No 60. – P. 123-130.
223. Korte, S.W. Effects of fenbendazole-impregnated feed and topical moxidectin during quarantine on the Gut microbiota of C57 BL/6 Mice / S.W. Korte, C.L. Franklin, R.A. Dorfmeier, A.C. Ericsson // *J. of the Amer. Assoc. for Laboratory Animal Sci.* – 2018. – V. 57, No 3. – P. 229-235.
224. Krause, D. Untersuchungen über die Wirkung des Anthelminthikums Fenbendazol auf die Spermaqualität von Besamungsbullen / D. Krause, H.J. Reinhard, W. Köhler, B. Tiefenbach // *Dtsch. tierärztl. Wschr.* – 1975. – V. 82. – P. 231–233.

225. Krishnaiah, Y.S.R. Pharmaceutical technologies for enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs / Y.S.R. Krishnaian // J. Bioequival. Bioavailab. – 2010. – V. 2, No 2. – P. 28-36.
226. Kutzer, E. Anthelmintic Wirkung fenbendazole gegen parasite von rind / E. Kutzer, H. Prosl., H. Frey // Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. – 1974. – V.1, No 1. – P. 112-119.
227. Lacey, E. The role of the cytoskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles / E. Lacey // Int. J. Parasitol. – 1988. – V. 18. – P. 885–936.
228. Lanusse, C. Clinical pharmacokinetics and metabolisms of benzimidazole anthelmintics in ruminants / C. Lanusse, R. Prichard // Drug Metab. Rev. – 1993. – V. 25. – 235 p.
229. Lanusse, C.E. Phamakokinetics of anthelmintics drugs in ruminants: integrated assessment of their tissue disposition, metabolism and diffusion into target parasites / C.E. Lanusse // In: 14th Biennial Symposium of the American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, USA, Rockville. – 2005. – 1811 p.
230. Lim, R. K. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim, K.G. Rink, H.G. Glass, E. Soaje-Echague // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. – 1961. – V.130, No 1. – P. 336-353.
231. Linderberg, M. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system / M. Linderberg, S. Kopp, J. Dressman // Europ. J. Biopharm. - 2004. - V. 58, No 2. - P. 265-278.
232. Loftsson, T. Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes / T. Loftsson, S.B. Vogensen, M.E. Brewster, F. Konráðsdóttir // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2007. – V. 96, No 10. – P. 2532-2546.

233. Lu, Y. Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs // Y. Lu, K. Park // *Int. J. Pharm.* - 2013. - V. 453. - P. 198-214.
234. MAFF, 1986 Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques, London. – pp. 160.
235. Mahajan, A. Smart polymers: innovations in novel drug delivery / A. Mahajan, G. Aggarwal // *International Journal of Drug Development and Research.* – 2011. – V. 3, No 3. – P. 16-30.
236. Majda, A. Estimation of damaging effects of chemicals on the mucous membrane rabbit eyes / A. Majda, K. Chuscielska // *Medicine Pracy*, XXIV. – 1973. – V.3. – P. 321-336.
237. Majewsky, M. Systematic identification of suspected anthelmintic benzimidazole metabolites using LC-MC / M. Majewsky, D. Castel, L. Le Dret, P. Johann, D.T. Jones, C.M. Pfister, W.E. Haefeli // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 2018. – V. 151. – P. 151–158.
238. Maqbool, A. Comparative anthelmintic efficacy of fenbendazole, tetramisole and morantel tartrate against ascariasis of buffalo calves / A. Maqbool, F. Rahmen, M. Afzal // *Buffalo J.* – 1996. – V. 12. – P. 343-346.
239. Marchessault, R.H. Polysaccharides for drug delivery and pharmaceutical applications / R.H. Marchessault, F. Ravenelle, X.X. Zhu // *Amer. Chem. Soc.* – 2006. – V.934. – P. 365.
240. Marriner, S.E. Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep / S.E. Marriner, J.A. Bogan // *Amer. J. Vet. Res.* – 1981. – V. 42, No 7. – P. 1146-1148.
241. Marriner, S.E. Nematode infections of domestic animals / S.E. Marriner, J.A. Bogan. In. book «Chemotherapy of Parasitic Diseases» Ed. W.C. Campbell, R.S. Rew. – New York and London: Springer, 1986. – P. 287–305.
242. Marslin, G. Solid lipid nanoparticles of albendazole for enhancing cellular uptake and cytotoxicity against U-87 MG glioma cell lines / G. Marslin, K. Siram, X. Liu, V.K.M. Khandelwal, S. Xiaolei, W. Xiang, G. Franklin // *Molecules.* – 2017. – V. 22, No 11. – 2040 p.

243. Mattheolabakis, G. Nanodelivery strategies in cancer chemotherapy biological rationale and pharmaceutical perspectives / G. Mattheolabakis, B. Rigas, P.P. Constantinides // *Nanomedicine*. – 2012. – No 7. – P. 1577-1590.
244. Matuszewski, B.K. Strategies for the Assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS / B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez // *Anal. Chem.* – 2003. – V. 75. – P. 3019-3030.
245. McKellar, Q.A. Pharmacokinetics of fenbendazole in dogs / Q.A. McKellar, P. Hartison, E.A. Galbraith, H. Inglis // *J. Vet. Pharmacol. Therap.* – 1990. – V. 13. – P. 386-392.
246. McKellar, Q.A. The benzimidazole anthelmintic agents – a review / Q.A. McKellar, E.W. Scott // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* – 1990. – V. 13. – P. 223.
247. Melo, A.C. Nematodeos resistentes a anti-helminticos em rebanhos de ovine e caprinos do Estado do Ceara, Brasil / A.C. Melo, I.F. Reis, C.M. Bevilagua et al. // *Cienc Rural*. – 2003. – V. 33, No 2. – P. 339-344.
248. Meteleva, E.S. Disodium salt of glycyrrhizic acid – a novel supramolecular delivery system for anthelmintic drug praziquantel / E.S. Meteleva, Y.S. Chistyachenko, L.P. Suntsova, M.V. Khvostov, N.E. Polyakov, O.Y. Selutina, T.G. Tolstikova, T.S. Frolova, V.A. Mordvinov, A.V. Dushkin, N.Z. Lyakhov // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2019. – V. 59. – P. 66-77.
249. Mohammed, A.R. Liposome formulation of poorly water soluble drugs: optimization of drug loading and ESEM analysis of stability / A.R. Mohammed, N. Weston, A.G.A. Coombes et al. // *Int. J. Pharm.* – 2004. – V. 285, No 1. – P. 23-24.
250. Moschwitz, J.P. Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process / J.P. Moschwitz // *Int. J. Pharm.* – 2013. – V. 453. – P. 142-156.
251. Mottier, M.L. Transtegumental diffusion of benzimidazole anthelmintics into *Moniezia benedeni*: correlation with their octanol-water partition coefficients / M.L. Mottier, L.I. Alvarez, M.A. Pis, C.E. Lanusse // *Exp. Parasitol.* – 2003. – V. 103. – P. 1-7.

252. Mottier, M.L. Drug transport mechanisms in helminth parasites: passive diffusion of benzimidazole anthelmintics / M.L. Mottier, L.I. Alvarez, L. Ceballos, C.E. Lanusse // *Exp. Parasitol.* – 2006. – V. 103. – P. 1-7.
253. Mourao, S.C. Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes / S.C. Mourao, P.I. Costa, H.R. Salgado, M.P. Gremiao // *Int. J. Pharm.* – 2005 – V. 295. – P.157–162.
254. Muller, R.H. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – are view of the state of the art / R.H. Muller, K. Mader, S. Gohla // *Europ. J. Pharm. Biopharm.* – 2000. – V. 50, No 1. – P. 161-167.
255. Muller, R.H. State of the art of nanocrystals-special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery / R.H. Muller, S. Gohla, C.M. Keck // *Europ. J. Pharm. Biopharm.* – 2011. – V. 78. – P. 1-9.
256. Muser, R.K. Safety of fenbendazole use in cattle / R.K. Muser, M. Lapras // *Mod. Vet. Pract.* – 1979. – 371 p.
257. Myers, G.H. Increased weight gains of Wisconsin dairy heifers following systematic deworming with fenbendazole / G.H. Myers, A.C. Todd // *Am. J. Vet. Res.* – 1980. – V. 41, No 11. – P. 1886-1889.
258. Palcy, C. Benzimidazole resistance in *Trichostrongylus axei* in sheep: long-term monitoring of affected sheep and genotypic evaluation of the parasite / C. Palcy, A. Silvestre, C. Sauve et al. // *Vet. J.* – 2010. – V. 183, No 1. – P. 68-74.
259. Pensel, P.E. Cystic echinococcosis therapy: albendazole-loaded lipid nanocapsules enhance the oral bioavailability and efficacy in experimentally infected mice / P.E. Pensel, G.G. Ullio, J. Fabbri, L. Ceballos, S.S. Bruni, L.I. Alvarez, D. Allemandi, J.P. Benoit, S.D. Palma, M.C. Elissondo // *Acta Trop.* – 2015. – V. 152. – P.185–194.
260. Perlovich, G.L. Thermodynamic and structural aspects of sulfonamide crystals and solutions / G.L. Perlovich, V.V. Tkachev, N.N. Strakhova, V.P. Kazachenko, T.V. Volkova, O.V. Surov, K.J. Schaper, O.A. Raevsky // *J. Pharm. Sci.* – 2009. – No 98. – P. 4738-4755.

261. Prichard, R.K. Prolonged administration: A new concept for increasing the spectrum and effectiveness of anthelmintics / R.K. Prichard, D.R. Hennessy, J.W. Steel // *Vet. Parasitol.* – 1978. – V. 4, № 1. – P. 309-315.

262. Qi, J. Absorption, disposition and pharmacokinetics of solid lipid nanoparticles // J. Qi, Y. Lu, W. Wu // *Curr. Drug Metab.* – 2012. – No 13. – P. 418-428.

263. Rathore, A. Mannosylated liposomes bearing Amphotericin B for effective management of visceral leishmaniasis / A. Rathore, A. Jain, A. Gulbake, S. Shilpi, P. Khare, A. Jain, S.K. Jain // *J. Liposome Res.* 2011. – V. 21, No 4. – P. 333-340.

264. Reinemeyer, C.R. Antinematodal drugs / In *Veterinary pharmacology and therapeutics* / J.E. Riviere, M.G. Papich. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell, 2009; P. 947-991.

265. Rew, R.S. Mode of action of common anthelmintics / R.S. Rew // *J. Vet. Pharmacol. Therap.* – 1978. – V. 1, No 1. – P. 321–337.

266. Rew, R.S. Mode of action of antinematodal drugs / R.S. Rew, R.H. Fetterer. In: Campbell W.C., Rew R.S. (eds). *Chemotherapy of Parasitic Diseases*. Springer. – 1986. – P. 321–337.

267. Riviere, J.E. *Veterinary pharmacology and therapeutics* / J.E. Riviere, M.G. Papich. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. – 2009. – 317 p.

268. Ruland, W. X-ray determination of crystallinity and diffuse disorder scattering / W. Ruland // *Acta Cryst.* – 1961. – V. 14. – P. 1180-1185.

269. Sakamoto, S. Investigation of interfacial behavior of glycyrrhizin with a lipid raft model via a Langmuir monolayer study / S. Sakamoto, H. Nakahara, T. Uto, Y. Shoyama // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2013. – No 1828. – P. 1271-1283.

270. Santiago, M.A.M. Atividade anti-helmintica do fenbendazole nos estagios imaturos de *Haemonchus contortus* de ovinos / M.A.M. Santiago, V.C. Costa, S.F. Benevenga // *Rev. Centro Ciens Rurais*. – 1978. – V. 8, No 2. – P. 123-125.

271. Sargent, M. Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements / M. Sargent (Ed.). RSC Analytical Methods Committee. – 2013. – 68 p.

272. Schechtman, L.M. Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34 / L.M. Schechtman // Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments. – 2008. – V.14. – P. 475–782.

273. Selutina, O.Yu. Influence of glycyrrhizin on permeability and elasticity of cell membrane: perspectives for drugs delivery / O.Yu. Selutina, N.E. Polyakov, D.V. Korneev, B.N. Zaitsev // Drug Delivery. – 2016. – V. 23, No 3. – P. 848-855.

274. Shakhtshneider, T.P. Mechanochemical synthesis and mechanical activation of drugs / T.P. Shakhtshneider, V.V. Boldyrev. – In: Reactivity of molecular solids. – New York: John Wiley & Sons, 1999. – P. 271-311.

275. She, Y.X., Basang W.D, Dong L.D. Preparation method of small unilamellar vesicle liposome of ivermectin / Y.X. She , W.D. Basang, L.D. Dong. – 2010.

276. Shinde, A.J. Solubilization of poorly soluble drugs / A.J. Shinde // A review. 2007. – V. 6, No 1. – P. 157-159.

277. Short, C.R. The oxidative metabolism of fenbendazole: a comparative study / C.R. Short, W. Flory, L.C. Hsieh, S.A. Barker // J. Vet. Pharmacol. Ther. – 1988. – V. 11. – P. 50–55.

278. Silva, L.D. Elucidating the influence of praziquantel nanosuspensions on the in vivo metabolism of *Taenia crassiceps* cysticerci / L.D. Silva, E.C. Arrua, D.A. Pereira, C.M. Fraga, T.L. Costa, A. Hemphill, C.J. Salomon, M.C. Vinaud // Acta Trop. – 2016. – V. 161. – P.100–105.

279. Silva, G.R. Multiresidue method for identification and quantification of avermectins, benzimidazoles and nitroimidazoles residues in bovine muscle tissue by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) using a QuEChERS approach / G.R. Silva, J. Lima, L.F. Souza,

F.A. Santos, M.A. Lana, D.C. Assis, S.V. Cançado // *Talanta*. – 2017. – v. 171, No 5. – P. 307–320.

280. Sinha, H.K. Efficacy of various anthelmintics on the mortality of the infective larvae of *Toxocara vitulorum* and treatment of calf ascariasis / H.K. Sinha, P.S. Grisvastova, S.P. Singh, V.K. Singh, S.R.P. Singh // *Indian J. of Animal Sci.* – 1987. – V. 57, No 1. – P. 185-188.

281. Starkloff, W.J. Design and in vitro characterization of ivermectin nanocrystals liquid formulation based on a top-down approach / W.J. Starkloff, V. Bucala, S.D. Palma, N.L. Gonzalez Vidal // *Pharm. Dev. Technol.* – 2016. – V. 22, No 6. – P. 809-817.

282. Stammberger, J. The safety profile of fenbendazole and the Panacur SR bolus / J. Stammberger, D. Mayer // 38-th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. – 1991.

283. Steel, J.W. Influence of ruminal bypass on the pharmacokinetics and efficacy of benzimidazole anthelmintics in sheep / J.W. Steel, D.R. Hennessy // *Int. J. Parasitol.* – 1999. – V. 29, No 7. – P. 305-314.

284. Sun, H. Nickel oxide nanoparticle-deposited silica composite solid-phase extraction for benzimidazole residue analysis in milk and eggs by liquid chromatography-mass spectrometry / H. Sun, Q.-W. Yu., H.-B. He, Q. Lu, Z.-G. Shi, Y.-Q. Feng // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – V. 64. – P. 356–363.

285. Sun, W. In vitro and vivo model metabolite identification of a novel benzimidazole compound ZLN005 by liquid chromatography/tandem mass spectrometry / W. Sun, K.D. Nguyen, W.L. Fitch, S.D. Banister, H. Tang, X. Zhang, L. Yu., E.G. Engleman, J. Rajadas, // *Rapid Communication in Mass Spectrometry*. – 2018. – V. 32, No 6. – P. 480-488.

286. Surov, A.O. Pharmaceutical salts of ciprofloxacin with dicarboxylic acids / A.O. Surov, A.N. Manin, A.P. Voronin et al. // *Europ. J. Pharm. Sci.* – 2015. – V. 77, No 1. – P. 112-121.

287. Takagi, T. A professional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products / T. Takagi, Ch. Ramachandran, M. Bermejo et al. // *Molecular pharmaceutics*. – 2006. – V. 3, No 6. – P. 631-646.
288. Thassu, D. Nanoparticulate drug delivery system / D. Thassu, M. Deleers, Y. Pathak // *Drug and the Pharm. Sci.* – 2007. – V. 166, No 3. – P. 352.
289. Tiefenbach, B. Fenbendazole, a new anthelmintic for the treatment of gastrointestninal nematodes of domestic animals-experiences in field trials / B. Tiefenbach // *Proceedings 3rd International Congress of Parasitology, Munich*. – 1974. – V. 3. – P. 1398–1399.
290. Tiefenbach, B. Panacur weltweite klinische prufung eines neuen Britband Anthelminthikums / B. Tiefenbach. // *Blauen Hefte Tierarzt*. – 1976. – V.55. – P.204-218.
291. Tinar, R. Efficacy of some novel anthelmintic combinations against helminths of sheep / R. Tinar, S.Z. Coscun, C.V. Akyol, B. Senlic // *Acta Parasitol. Turc.* – 1998. – V. 22. – P. 96-100.
292. The Biopharmaceutics classification system (BCS) guidance, available at <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucml28219.htm>
293. Toro, A. Resistencia antihelmintica en nematodes gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazole / A. Toro, L. Rubilar, C. Palma, R. Perez // *Arch. Med. Vet.* – 2014. – V. 46, No 2. – P. 247-252.
294. Torres-Acosta, J.F.J. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats / J.F.J. Torres-Acosta, H. Hoste // *Small Ruminant Research*. – 2008. – V. 77. – P. 159-173.
295. Trambo, S.R. Efficacy of ivermectin, closantel and fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep in Kashmir valley / S.R. Trambo, R.A. Shahardar, J.M. Alloie et al. // *J. Parasit. Dis.* – 2017. – V. 41, No 2. – P. 380-382.
296. Van Eerdenbrugh, B. Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products / B. Van Eerdenbrugh, G. Van den Mooter, P. Augustijns // *Int. J. Pharm.* – 2008. – V. 364. – P. 64-75.

297. Vizard, A.L. A simplified faecal egg count reduction test / A.L. Vizard, R.J. Wallace // *Austr. Vet. J.* – 1987. – V. 64, No 4. – P. 109-111.
298. Viviani, P. Assesment of the pharmacological interactions between the nematodicidal fenbendazole and the flukicidal triclabendazole: In vitro studies with bovine liver microsomes and slices / P. Viviani, A.L. Lifschitz, M.L. Mate et al. // *J. of Vet. Pharmacology and Therapeutics.* – 2018. – V. 41, No 3. – P. 476-484.
299. Wang, Y. Formulation and evaluation of novel glycyrrhizic acid micelles for transdermal delivery of podophyllotoxin / Y. Wang, B. Zhao, Sh. Wang, Q. Liang, Y. Cai, F. Yang, G. Li // *Drug Delivery.* – 2016. – V. 23, No 5. – P. 1623-1635.
300. Whelan, M. Determination of anthelmintic drug residues in milk using ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with rapid polarity switching / M. Whelan, B. Kinsella, A. Furey, M. Moloney, H. Cantwell, S.J. Lehotay, M. Danaher // *J. Chromatogr.* – 2010. – A 1217. – P. 4612-4622.
301. Willams, J.C. Comparative efficacy of levamisole, thiabendazole and fenbendazole against cattle gastrointestinal nematodes / J.C. Willams, S.D. Broussand // *Vet. Parasitol.* – 1995. – V. 58, No 1. – P. 83-90.
302. Williams, H.D. Strategies to address low drug solubility in discovery and development / H.D. Williams, N.L. Trevaskis, S.A. Charman et al. // *Pharmacol. Rev.* – 2013. – V. 65. – P. 315-499.
303. Wood, I. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) / I. Wood, N. Amaral, K. Bairden et al. // *J. Vet. Parasitol.* – 1995. – V. 58, No ½. – P. 181-213.
304. Xia, X. Validation of a method for simultaneous determination of nitroimidazoles, benzimidazoles and chloramphenicols in swine tissues by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry / X. Xia, Y. Wang, X. Wang, Y.Li, F. Zhong, X. Li, Y. Huang, S. Ding, J. Shen // *J. Chromatogr. A.* – 2013. – V. 31. – P. 1292–1296.

305. Xu, S. Targeting receptor-mediated endocytotic pathways with nanoparticles: rationale and advances / S. Xu, B.Z. Olenyuk, C.T. Okamoto, S.F. Hamm-Alvarez // *Adv. Drug Del. Rev.* – 2013. – V. 65. – P. 121-138.
306. Xu, W. Polymeric Micelles, a Promising Drug Delivery System to Enhance Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs / W. Xu, P. Ling, T. Zhang // *Journal of Drug Delivery.* – 2013.
307. Yanghuan, Y. Design and evaluation of injectable niclosamide nanocrystals prepared by wet media milling technique / Y. Yanghwan, X. Zhang, T. Zhang, H. Wang, B. Wu // *J. Drug Del. Ind. Pharm.* – 2014. – V. 41, No 9. – P. 1416-1424.
308. Zhang, L. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments / L. Zhang, F.X. Gu, J.M. Chan et al. // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2008. – V. 83, No 5. – P. 761-769.
309. Zhang, Y. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel / Y. Zhang, M. Huo, J. Zhou, S. Xie // *Computer methods and programs in biomedicine.* – 2010. – V. 99. – P. 306–314.
310. Zhang, X. Ligand-mediated active targeting for enhanced oral absorption / X. Zhang, W. Wu // *Drug Discov. Today.* – 2014. – V. 19. – P. 898-904.
311. Zhang, Y. Design and solidification of fast-releasing clofazimine nanoparticles for treatment of cryptosporidiosis / Y. Zhang, J. Feng, S.A. McManus, H.D. Lu, K.D. Ristroph, E.J. Cho, E.L. Dobrijevic, H.-K. Chan, R.K. Prud'homme // *Mol. Pharmaceutics.* – 2017. – V 14, No 10. – P. 3480-3488.
312. Zheng, F. Profiling of benzimidazoles and related metabolites in pig serum based on SiO₂@NiO solid-phase extraction combined precursor ion scan with high resolution orbitrap mass spectrometry / F. Zheng, H.M. Xiao, Q.F. Zhu, Q.-W. Yu, Yu-Qi F. // *Food Chemistry.* – 2019. – V. 284, No 2. – P. 279-286.

313. Zhu, X. Preparation and quality evaluation of ivermectin liposome / X. Zhu, L. Yin-qian, H. Bo, L. Lei, L. An-Gang, X. Yong-Jie, Z. Jin, S. Yong-Xin, B. Wangdui // Journal of Northwest A&F University. – 2010. – V. 38. – P. 24-30.

314. Zhu, X. Simultaneous determination of benzimidazoles and their metabolites in plasma using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic studies in rabbits / X. Zhu, S. Wang, Q. Liu, Q. Xu, C. Zhang, S.S. Xu, X. Wang, D. Li, H. Hu // J. AOAC. – 2011. – V. 94. – P. 839–846.

ПРИЛОЖЕНИЕ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2558922

**АНТИГЕЛЬМИНТНОЕ СРЕДСТВО И СПОСОБ ЕГО
ПОЛУЧЕНИЯ**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина" (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина") (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2014118329

Приоритет изобретения 07 мая 2014 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 08 июля 2015 г.

Срок действия патента истекает 07 мая 2034 г.

Врио руководителя Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Л.Л. Кирий



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 558 922** (13) **C1**(51) МПК
A61K 31/4184 (2006.01)
A61P 33/10 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2014118329/15, 07.05.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.05.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.05.2014

(45) Опубликовано: 10.08.2015 Бюл. № 22

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ДУШКИН А.В. И ДР.
Механомеханическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ// Фундаментальные исследования. 2013, №1, ч.2, с.448-456. ДУШКИН А.В. Механомеханическое получение и свойства водорастворимых межмолекулярных комплексов полисахаридов и ß-циклодекстрина с лекарственными веществами// Химия в интересах (см. прод.)

Адрес для переписки:

117218, Москва, Б. Черемушкинская ул., 28,
ФГБНУ "ВНИИП им К.И. Скрябина"

(72) Автор(ы):

Варламова Анастасия Ивановна (RU),
Архипов Иван Алексеевич (RU),
Халиков Салават Самадович (RU),
Душкин Александр Валерьевич (RU),
Чисточенко Юлия Сергеевна (RU),
Халиков Марат Салаватович (RU),
Данилевская Наталья Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина" (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина") (RU)

(54) АНТИГЕЛЬМИНТНОЕ СРЕДСТВО И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ**(57) Формула изобретения**

Антигельминтное средство, включающее фенбендазол, отличающееся тем, что он смешивается с арабиногалактаном в весовом соотношении 1:10 и подвергается совместной механохимической обработке в валковой шаровой мельнице с добавлением 693 г металлических шаров диаметром 12 мм в течение 2 ч при вращении барабана со скоростью 90 об/мин до получения частиц супрамолекулярного комплекса размером до 10 мкн, при этом препарат становится растворимым в воде, увеличивается биологическая доступность, снижается токсичность, расширяется спектр антигельминтного действия, снижается терапевтическая доза в 10 раз и повышается его экономическая эффективность.

(56) (продолжение):

устойчивого развития, 2010, N18, с.719-728. RU 2452489 C1, 20.07.2007. WO2011027333 A, 10.03.2011.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2560516

**АНТИГЕЛЬМИНТНОЕ СРЕДСТВО С
ТРЕМАТОДОЦИДНОЙ И ЦЕСТОДОЦИДНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина" (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина") (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2014129922

Приоритет изобретения **21 июля 2014 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **21 июля 2015 г.**

Срок действия патента истекает **21 июля 2034 г.**

Заместитель руководителя Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Л.Л. Кирий



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) RU (11) 2 560 516 (13) C1

(51) МПК

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 31/065 (2006.01)

A61K 47/30 (2006.01)

A61P 33/10 (2006.01)

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2014129922/15, 21.07.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.07.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.07.2014

(45) Опубликовано: 20.08.2015 Бюл. № 23

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2234337 C2, 20.08.2004, RU 2127606 C1, 15.11.1993, RU 2056835 C1, 27.03.1996, RU 2002460 C1, 20.03.1999. ЛЕМЕХОВ П.А. и др. Парамфистомидоз крупного рогатого скота в хозяйствах северо-запада нечерноземной зоны РФ. Рекомендации по борьбе и профилактике, Вологда-Молочное. " 2012, С. 23-25 Найдено в Интернет на <http://molochnoe.ru/bookdl/?id=274> 31.03.2015.

Адрес для переписки:

117218, Москва, Б. Черемушkinsкая ул., 28,
ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина"

(72) Автор(ы):

Мусаев Маулды Баудинович (RU),
Архипов Иван Алексеевич (RU),
Варламова Анастасия Ивановна (RU),
Джамалова Айшет Зеудыевна (RU),
Байсарова Зара Темирхановна (RU),
Берсанова Хеди Имрановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Всероссийский научно-
исследовательский институт
фундаментальной и прикладной
паразитологии животных и растений имени
К.И. Скрябина" (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И.
Скрябина") (RU)

(54) АНТИГЕЛЬМИНТНОЕ СРЕДСТВО С ТРЕМАТОДОЦИДНОЙ И ЦЕСТОДОЦИДНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ

(57) Формула изобретения

Антигельминтное средство с трематодоцидной и цестодоцидной активностью, включающее нерастворимую в воде субстанцию тетрахлордифенилсульфид и полимер поливинилпирролидон низкомолекулярный с молекулярной массой 12700 ± 2700 и ацетон для образования мицеллярных полостей, отличающееся тем, что эквивалентное соотношение тетрахлордифенилсульфида и поливинилпирролидона составляет 70:30, компоненты тщательно перемешивают в смесителе любого типа 30 минут, постепенно добавляя 20-40 частей ацетона на 100 частей смеси полимера и субстанции до получения однородной массы, которую сушат и измельчают в порошок величиной частиц 5-9 мкр.



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) 2 588 368 (13) C1

(51) МПК
 A61K 31/609 (2006.01)
 A61K 47/30 (2006.01)
 A61P 33/10 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2015101048/15, 16.01.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 16.01.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.01.2015

(45) Опубликовано: 27.06.2016 Бюл. № 18

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 201410800, 04.03.2014. Архипов И.А. Антигельминтики: фармакология и применение. - М.: Изд-во РАСХН. - 2009. - 405 с. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации заболеваний животных гельминтозами. - М., Информагротех. - 1999. - 72 с. Котельников Г.А., Худошин В.И. применение фенасала при мониезидозе и тизаниезидозе овец // ветеринария. - 1971. - 10-с. 84-85.

Адрес для переписки:

117218, Москва, ул. Б. Черёмушкинская, 28,
 ФАНО России ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина (ВНИИП)

(72) Автор(ы):

Архипов Иван Алексеевич (RU),
 Садов Константин Михайлович (RU),
 Лимова Юлия Владимировна (RU),
 Варламова Анастасия Ивановна (RU),
 Халиков Салават Самадович (RU),
 Душкин Александр Валерьевич (RU),
 Чистяченко Юлия Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина") (RU)

(54) СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС С НИКЛОЗАМИДОМ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Формула изобретения

Супрамолекулярный комплекс для лечения цестозов животных, включающий никлозамид, отличается тем, что он смешивается с поливинилпирролидоном в весовом соотношении 1:5 и подвергается совместной механохимической обработке в валковой шаровой мельнице с регулируемой энергонапряженностью до получения частиц супрамолекулярного комплекса размером до 10 микрон.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2709019

Антигельминтное средство

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской Академии наук" (RU)*

Авторы: *Варламова Анастасия Ивановна (RU), Архипов Иван Алексеевич (RU), Халиков Салават Самадович (RU), Садов Константин Михайлович (RU), Мусаев Маулды Баудинович (RU)*

Заявка № 2019102349

Приоритет изобретения 29 января 2019 г.

Дата государственной регистрации в

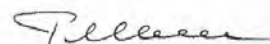
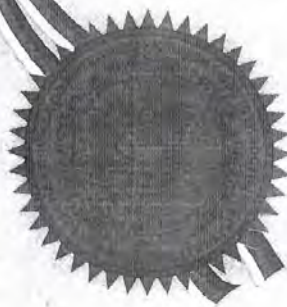
Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 13 декабря 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 января 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ильин

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19)

RU

(11)

2 709 019⁽¹³⁾ C1

(51) МПК

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 47/58 (2017.01)

A61P 33/10 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(52) СПК

A61K 31/4184 (2019.08); A61K 47/58 (2019.08); A61P 33/10 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019102349, 29.01.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.01.2019Дата регистрации:
13.12.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.01.2019

(45) Опубликовано: 13.12.2019 Бюл. № 35

Адрес для переписки:

117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28,
ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН "Федеральный
научный центр - Всероссийский научно-
исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии им. К.И.
Скрябина и Я.Р. Коваленко"

(72) Автор(ы):

Варламова Анастасия Ивановна (RU),
Архипов Иван Алексеевич (RU),
Халиков Салават Самадович (RU),
Садов Константин Михайлович (RU),
Мусаев Маулды Баудинович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Федеральный научный
центр - Всероссийский
научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени К.И.
Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской
Академии наук" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2524652 C1, 27.07.2014. ЕА 022068
В1, 2015.10.30. Лимова Ю. В. и др.,

АНТИГЕЛЬМИНТНАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ФЕНАСАЛА
НА ОСНОВЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ,
НАНОРАЗМЕРНЫХ СИСТЕМ
ДОСТАВКИ DRUG DELIVERY SYSTEM
ПРИ АНОПЛОЦЕФАЛИДОЗАХ
ЛОШАДЕЙ, РОССИЙСКИЙ
ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ, Том
40, Выпуск 2/2017, стр. 188-191, найдено онлайн
(см. прод.)

(54) Антигельминтное средство

(57) Формула изобретения

1. Антигельминтное средство в виде твердодисперсного порошка, включающее
фенбендазол, отличающееся тем, что оно дополнительно включает
поливинилпирролидон и диоктилсульфосукцинат натрия при следующем соотношении
компонентов, масс. %:

фенбендазол - 10,
поливинилпирролидон - 89,9,
диоктилсульфосукцинат натрия - 0,10.

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

**Супрамолекулярные комплексы
антигельминтных
бензимидазольных препаратов.
Получение и свойства**



Поступила в редакцию 15.03.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.1-085
DOI: 10.12737/23082

Для цитирования:

Кочетков П.П., Варламова А.И., Абрамов В.Е., Мисюра Н.С., Абрамова Е.В., Абрамов С.В., Кошеваров Н.И., Архипов И.А. Определение фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Российский паразитологический журнал. — 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 554–562

For citation:

Kochetkov P.P., Varlamova A.I., Abramov V.E., Misura N.S., Abramova E.V., Abramov S.B., Koshevarov N.I., Arkhipov I.A. Determination of fenbendazole and its metabolites in milk by the method of liquid chromatography coupled with tandem mass-spectrometry. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 554–562

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНБЕНДАЗОЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В МОЛОКЕ КОРОВ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Кочетков П.П.^{1,2}, Варламова А.И.¹, Абрамов В.Е.¹, Мисюра Н.С.², Абрамова Е.В.^{1,2},
Абрамов С.В.^{1,2}, Кошеваров Н.И.², Архипов И.А.¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушkinsкая, 28, e-mail: varlamova@vniigis.ru

²«Международный научно-исследовательский центр охраны здоровья человека, животных и окружающей среды», 117218, Москва, ул. Б. Черемушkinsкая, 28, стр. 11 А, e-mail: cozos@mail.ru

Реферат

Цель исследования — разработка методики определения фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии высокого давления с последующим масс-спектрометрическим детектированием.

Материалы и методы. Фенбендазол назначали 5 коровам в дозе 4,8 мг/кг перорально. Пробы молока отбирали через 1, 3, 5 и 10 суток после введения препарата. Методика работы включает описание реактивов, посуды и оборудования, масс-спектрометрические условия анализа фенбендазола и его производных, подготовку оборудования к работе, приготовление раствора элюента, подготовку хроматографа к анализу, определение хроматографических параметров стандартных образцов препарата, подготовку проб молока к анализу, определение параметров хроматографирования экстрактов, процедуру калибровки фенбендазола и метаболитов в элюенте.

Результаты и обсуждение. При изучении фармакокинетики фенбендазола и его метаболитов (сульфона и сульфоксида) в молоке коров установлено, что максимальные концентрации обнаружены через 24 ч после введения препарата и составили 22,6 нг/мл для фенбендазол сульфона, 34,0 нг/мл для фенбендазол сульфоксида и 19,7 нг/мл для фенбендазола. Спустя 10 суток после введения препарата содержание фенбендазола и его метаболитов в молоке коров не превышало максимально допустимых значений.

Ключевые слова: молоко, фенбендазол, метаболиты, сульфоксид, сульфон, фармакокинетика, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Введение

Вигисокс — комплексный антигельминтный препарат с содержанием 8% фенбендазола, 72% никлозамида и вспомогательных веществ. Фенбендазол, входящий в состав препара-

УДК 619:616.995.132.6:1-085

DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-2-58-63

Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели

Иван Алексеевич Архипов, Анастасия Ивановна Варламова,
Ирина Михайловна Одоевская

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: arhipovhelm@mail.ru

Поступила в редакцию: 17.05.2019; принята в печать: 18.05.2019

(Рассмотрены и одобрены на секции Методической комиссии «Инвазионные болезни животных» 17 мая 2019 г., протокол № 1)

Аннотация

Цель исследований: дать характеристику методам испытаний и оценки эффективности антигельминтных препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели.

Материалы и методы. Проведен анализ литературы и результатов собственных исследований по испытанию и оценке эффективности антигельминтных препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели, в качестве которой использовали белых мышей массой тела 14–16 г, экспериментально зараженных личинками *Trichinella spiralis* в дозе 200 личинок на особь и яйцами *Hymenolepis nana* в дозе 200 инвазионных яиц на особь. Эффективность препаратов учитывали по результатам вскрытия тонкого кишечника животных на 2 и 4-е сутки после введения препаратов соответственно при трихинеллезе и гименолепидозе белых мышей.

Результаты и обсуждение. Подробно описаны рациональные методы испытания препаратов и новых химических соединений на нематодоцидную активность на белых мышах, экспериментально зараженных *T. spiralis*, и на цестоцидную активность на белых мышах, экспериментально зараженных *H. nana* в дозе соответственно 200 личинок и 100–200 яиц на особь. Для изучения эффективности испытуемые препараты вводили животным на 3-и сутки при трихинеллезе и 13-е сутки при гименолепидозе. Учет антигельминтной эффективности препаратов проводили на основании гельминтологического вскрытия тонкого кишечника животных на 2 и 4-е сутки после дачи препаратов соответственно против *T. spiralis* и *H. nana*. Обнаруженных гельминтов у животных подопытных и контрольной (нелеченой) групп подсчитывали по типу «контрольный тест», т. е. в сравнении с животными контрольной группы.

Ключевые слова: лабораторная модель, белые мыши, *Trichinella spiralis*, *Hymenolepis nana*, эффективность, препарат.

Для цитирования: Архипов И. А., Варламова А. И., Одоевская И. М. Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13. № 2. С. 58–63. DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-2-58-63.

© Архипов И. А., Варламова А. И., Одоевская И. М.

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

**Всероссийский научно-исследовательский институт
фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений -
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный
научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»;
(ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**

**Большая Черёмушкинская ул., д. 28, Москва, 117218
Тел./факс (499) 124-56-55, (499) 129-28-88. E-mail: secretar@vniigis.ru**

ОГРН 1037700258870

ИНН/КПП 7721017821/772743001

**МЕТОДИКА ПО ПРИМЕНЕНИЮ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОГО
ФЕНБЕНДАЗОЛА ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Варламова Анастасия Ивановна

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и
прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального
государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный
центр – Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко
Российской академии наук» 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28,
e-mail: arsphoeb@mail.ru

(Одобрена на Научно-методической комиссии ВНИИП – филиал ФГБНУ
ФНЦ ВИЭВ РАН «21» мая 2021 г., протокол № 2 и на заседании Ученого
совета ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН «2» сентября 2021 г. протокол № 4)

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

**Всероссийский научно-исследовательский институт
фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений -
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный
научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»;
(ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**

**Большая Черёмушкинская ул., д. 28, Москва, 117218
Тел./факс (499) 124-56-55, (499) 129-28-88. E-mail: secretar@vniigis.ru**

ОГРН 1037700258870

ИНН/КПП 7721017821/772743001

**МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФЕНБЕНДАЗОЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ
ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ
ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ
ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ**

Варламова Анастасия Ивановна

Владислав Евгеньевич Абрамов

Иван Алексеевич Архипов

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и
прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального
государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный
центр – Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко
Российской академии наук», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28,
e-mail: arsphoeb@mail.ru

(Одобрена на Научно-методической комиссии ВНИИП – филиал ФГБНУ
ФНЦ ВИЭВ РАН «21» мая 2021 г., протокол № 2 и на заседании Ученого
совета ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН «2» сентября 2021 г. протокол № 4)

УТВЕРЖДАЮ
Начальник структурного подразделения
Большеглушицкой СББЖ
ГБУ СО «СВО»
А.В. Игуменов
2021 г.



АКТ

о проведении комиссионного испытания супрамолекулярного комплекса
фенбендазола при нематодозах овец

Комиссия в составе доктора ветеринарных наук, профессора ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН И.А. Архипова, д.в.н., с.н.с. К.М. Садова, к.в.н., в.н.с. А.И. Варламовой и ветеринарного врача структурного подразделения ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение» Большечерниговская СББЖ М.Е. Скобал, обслуживающего на основе договора ООО «Эльмир», провела комиссионные испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец. Испытания 10%-ного супрамолекулярного комплекса фенбендазола с ПВП в дозе 2,0 мг / кг по ДВ проводили на 60 овцах в возрасте 6–8 месяцев, спонтанно инвазированных стронгилятами пищеварительного тракта в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области.

В качестве базового препарата использовали субстанцию фенбендазола в этой же дозе на 20 овцах. Контролем служили 20 овец, не получивших препарат.

Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопических исследований до и через 16 суток после дегельминтизации. Расчет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест».

Супрамолекулярный комплекс фенбендазола в дозе 2,0 мг / кг по ДВ показал 98,7%-ную эффективность при нематодирозе и 99,2% при других желудочно-кишечных стронгилятозах.

Препарат хорошо переносился животными и не вызывал побочного действия. Препарат можно рекомендовать для применения в ветеринарной практике при нематодозах овец.

Заведующий лабораторией ВНИИП,
д.в.н., проф.

С.н.с., д.в.н.

В.н.с., к.в.н.

Ветеринарный врач структурного подразделения
ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение»
Большечерниговская СББЖ

И.А. Архипов

К.М. Садов

А.И. Варламова

Скобал М.Е.

УТВЕРЖДАЮ
Начальник структурного подразделения
Большеглушицкой СББЖ
ГБУ СО «СВО»
А.В. Игуменов
2021 г.



АКТ

о проведении комиссионного испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

Комиссия в составе доктора ветеринарных наук, профессора ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН И.А. Архипова, к.в.н., в.н.с. А.И. Варламовой, доктора ветеринарных наук К.М. Садова, ветеринарного врача структурного подразделения ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение» Большечерниговская СББЖ М.Е. Скобал, обслуживающего на основе договора ООО «Эльмир», провела комиссионные испытания супрамолекулярного комплекса фенбендазола с ПВП. Испытания препарата в дозе 3,0 мг / кг по ДВ проводили на 60 головах молодняка крупного рогатого скота в возрасте 14–17 месяцев, спонтанно инвазированных стронгилятами пищеварительного тракта в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области.

Базовым препаратом служила субстанция фенбендазола в этой же дозе, которую испытывали на 20 животных. Контролем служили 20 голов молодняка крупного рогатого скота, не получивших препарат.

Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопических исследований до и через 16 суток после дегельминтизации. Расчет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест».

Супрамолекулярный комплекс фенбендазола в дозе 3,0 мг / кг по ДВ показал 98,4%-ную эффективность при нематодирозе и 99,3% при других желудочно-кишечных стронгилятозах.

Препарат хорошо переносился животными и не вызывал побочного действия. Препарат можно рекомендовать для применения в ветеринарной практике при нематодозах молодняка крупного рогатого скота.

Заведующий лабораторией ВНИИП-
филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН,
д.в.н., проф.

в.н.с., к.в.н.

д.в.н.

Ветеринарный врач структурного подразделения
ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение»
Большечерниговская СББЖ

И.А. Архипов

А.И. Варламова

К.М. Садов

Скобал М.Е.

УТВЕРЖДАЮ
Начальник структурного подразделения
Большеглушицкой СББЖ
ГБУ СО «СВО»
А.В. Игуменов
« 31 » *сентября* 2021 г.



АКТ

о производственном испытании супрамолекулярного комплекса фенбендазола при смешанной инвазии молодняка овец, вызванной желудочно-кишечными нематодами

Комиссия в составе доктора ветеринарных наук, профессора ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН И.А. Архипова, д.в.н., с.н.с. К.М. Садова, к.в.н., в.н.с. А.И. Варламовой, ветеринарного врача структурного подразделения ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение» Большечерниговская СББЖ М.Е. Скобал, обслуживающего на основе договора ООО «Эльмир», составили настоящий акт о проведении производственного испытания эффективности супрамолекулярного комплекса фенбендазола при желудочно-кишечных стронгилятозах в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области на 484 овцах.

Супрамолекулярный комплекс фенбендазола задавали с кормом (0,3 кг комбикорма на гол.) групповым методом в дозе 2,0 мг / кг.

По результатам исследований проб фекалий животных до опыта экстенсинвазированность нематодирусами составила 55,3% и другими видами стронгилят пищеварительного тракта 56,4%.

Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопических исследований до и через 15 суток после дегельминтизации.

Препарат показал 99,0% – при нематодирозе и 98,8% – при других стронгилятозах пищеварительного тракта.

Заведующий лабораторией ВНИИП,
д.в.н., проф.

с.н.с., д.в.н.

в.н.с., к.в.н.

Ветеринарный врач структурного подразделения
ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение»
Большечерниговская СББЖ

И.А. Архипов И.А. Архипов

К.М. Садов К.М. Садов

А.И. Варламова А.И. Варламова

Скобал Скобал М.Е.

УТВЕРЖДАЮ

Начальник структурного подразделения
Большеглушицкой СББЖ
ГБУ СО «СВО»
А.В. Игуменов
2021 г.



АКТ

**о производственном испытании супрамолекулярного комплекса
фенбендазола при смешанной нематодозной инвазии молодняка
крупного рогатого скота**

Комиссия в составе доктора ветеринарных наук, профессора ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН И.А. Архипова, к.в.н., в.н.с. А.И. Варламовой, доктора ветеринарных наук К.М. Садова, ветеринарного врача структурного подразделения ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение» Большечерниговская СББЖ М.Е. Скобал, обслуживающего на основе договора ООО «Эльмир», составили настоящий акт о проведении производственного испытания эффективности супрамолекулярного комплекса фенбендазола при желудочно-кишечных стронгилятозах в ООО «Эльмир» Большеглушицкого района Самарской области на 124 головах молодняка крупного рогатого скота (телки) в возрасте 14–17 мес.

Супрамолекулярный комплекс фенбендазола задавали с кормом (0,5 кг комбикорма на гол.) групповым методом в дозе 3,0 мг / кг по ДВ.

По результатам исследований проб фекалий животных до опыта экстенсивность инвазии нематодами составила 58,8% и другими видами стронгилят пищеварительного тракта 59,2%.

Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопических исследований до и через 16 суток после дегельминтизации («критический тест»).

Препарат показал 98,0% – при нематодирозе и 97,8% – при других стронгилятозах пищеварительного тракта.

Заведующий лабораторией ВНИИП-

филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН,

д.в.н., проф.

в.н.с., к.в.н.

д.в.н.

 И.А. Архипов

 А.И. Варламова

 К.М. Садов

Ветеринарный врач структурного подразделения

ГУ СО «Самарское ветеринарное объединение»

Большечерниговская СББЖ

 Скобал М.Е.