

УДК 619:616.995.1-085

DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-1-75-80

Биологическая активность твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки

Анастасия Ивановна Варламова^{1,2}

¹Всероссийский 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

²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

Поступила в редакцию: 01.12.2019; принята в печать: 13.01.2020

Аннотация

Цель исследований: изучение антигельминтной эффективности твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки.

Материалы и методы. Опыты проводили на 80 белых мышах, экспериментально зараженных *Trichinella spiralis* и 145 овцах, спонтанно инвазированных желудочно-кишечными нематодами. При каждом гельминтозе животным разных групп по 8–10 голов в каждой задавали однократно перорально твердую дисперсию фенбендазола (ТДФ) с поливинилпирролидоном (ПВП), арабиногалактаном (АГ), натриевой солью глицерризиновой кислоты (NaГК), ди-октилсульфосукцинатом натрия (ДССNa), экстрактом солодки (ЭС) и гидроксиэтилкрахмалом (ГЭК) в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ в сравнении с препаратом фенбендазолом в дозе 2,0 мг/кг. Группа животных, не получавшая препарат, служила контролем. Антигельминтную активность препаратов учитывали по результатам вскрытий тонкого кишечника мышей и данным копроовоскопических исследований овец методом флотации до и через 15 сут после применения этих препаратов.

Результаты и обсуждение. ТДФ с ПВП, АГ, NaГК, ДССNa, ЭС и ГЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ (фенбендазолу) показала на мышах соответственно 100; 98,7; 99,8; 100; 96,8 и 95,3%-ную активность против кишечных *T. spiralis*; на овцах – 100; 96,3; 98,0; 100; 94,6 и 93,8%-ную эффективность против *Nematodirus spp.* и 100; 97,5; 98,6; 100; 97,0 и 96,5%-ную активность против других видов желудочно-кишечных стронгилят при 22,6–27,2%-ной эффективности базового препарата – субстанции фенбендазола.

Ключевые слова: фенбендазол, твердая дисперсия, адресная доставка, мыши, овцы, *Trichinella spiralis*, *Strongylata*.

Для цитирования: Варламова А.И. Биологическая активность твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. № 1. С. 75–80. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-75-80>

© Варламова А.И., 2020

Biological Activity of Fenbendazole Solid Dispersion Obtained by Mechanochemical Technology with Various Components for Targeted Delivery

Anastasia I. Varlamova^{1,2}

¹All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a branch of Federal State Budgetary Institution of Science "Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences", 28, B. Cheremushkinskaya street, Moscow, Russia, 117218, e-mail: arspfoeb@mail.ru

²K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, 23 Akademik Skryabin Str., Moscow, 109472

Received on: 01.12.2019; accepted for printing on: 13.01.2020

Abstract

The purpose of the research is studying anthelmintic efficacy of fenbendazole solid dispersion obtained by mechanochemical technology with various components for targeted delivery.

Materials and methods. The tests were conducted on 80 white mice infected experimentally with *Trichinella spiralis* and 145 sheep infected spontaneously with gastrointestinal nematodes. In case of each helminthosis, animals in different groups of 8–10 units each were given, orally, as a single dose, a fenbendazole solid dispersion (FSD) with polyvinylpyrrolidone (PVP), arabinogalactan (AG), glycyrrhizic acid sodium salt (NaGA), dioctylsulphosuccinate sodium (NaDSS), licorice extract (LE) and hydroxyethylstarch (HES) in a dose of 2.0 mg/kg of the active ingredient as compared to fenbendazole drug at 2.0 mg/kg. A group of animals that were not given the drug was a control group. Anthelmintic activity of the preparations was considered based on dissection of the mouse small bowel and data from the sheep coproovoscopic examination carried out by the flotation technique before and 15 days after application of such drugs.

Results and discussion. FSD with PVP, AG, NaGA, NaDSS, LE and HES in a dose of 2.0 mg/kg of the active ingredient (fenbendazole) showed 100; 98.7; 99.8; 100; 96.8 and 95.3% activity in mice against *T. spiralis* respectively; in sheep – 100; 96.3; 98.0; 100; 94.6 and 93.8% effectiveness against *Nematodirus* spp., and 100; 97.5; 98.6; 100; 97.0 and 96.5% activity against other species of the gastrointestinal Strongylata at 22.6–27.2% effectiveness of the main drug, namely, the active ingredient fenbendazole.

Keywords: fenbendazole, solid dispersion, targeted delivery, mice, sheep, *Trichinella spiralis*, *Strongylata*.

For citation: Varlamova A. I. Biological activity of fenbendazole solid dispersion obtained by mechanochemical technology with various components for targeted delivery. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (1): 75–80. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-75-80>

Введение

Нематодозы человека и животных имеют широкое распространение в РФ и в других странах мира и наносят большие экономические потери животноводству из-за снижения молочной, мясной, шерстной продуктивности, отставания в росте и развитии молодняка и падежа животных, особенно молодняка [7].

Наиболее применяемым препаратом для лечения гельминтозов и, особенно, нематодозов животных является фенбендазол из группы бензимидазол карбаматов, который в дозе 5–10 мг/кг обладает высокой активностью

против нематод, а в повышенных дозах и против цестод и трематод [1].

Препарат применяют на жвачных животных против стронгилят желудочно-кишечного тракта, легочных протостронгилид, трихоцефал, стронгилоидов; лошадям против параскарид, стронгилид, оксиуридов; свиньям против аскарид, эзофагостом, трихоцефал, метастронгил; плотоядным против токсокар, токсаскарид, унцинарий и других нематод.

Фенбендазол нетоксичен для организма животных, не обладает побочным действием.

Назначают препарат однократно перорально с кормом в дозе 5,0 мг/кг овцам, 10,0 мг/кг молодняку крупного рогатого скота, 10,0–15,0 мг/кг лошадям и свиньям и 50,0 мг/кг три дня подряд собакам [1–4].

Недостатком фенбендазола является низкая растворимость в воде, плохая абсорбция в кишечнике и как следствие плохая биодоступность и большие дозы препарата против гельминтов, особенно на плотоядных животных [8, 9]. Следовательно, фенбендазол нуждается в технологии повышения растворимости.

В предыдущие годы нами совместно с другими исследователями испытан супрамолекулярный комплекс фенбендазола с АГ, ПВП и ДССNa, изготовленный по механохимической технологии в измельчителе ударно-стирающего типа, и были получены обнадеживающие результаты [3–5].

Цель нашей работы – оценка биологической активности твердой дисперсии с фенбендазолом (ТДФ) с различными компонентами для адресной доставки, в том числе с ПВП, АГ, натриевой солью глицерризиновой кислоты (NaГК), ДССNa, экстрактом солодки (ЭС) и гидроксиэтилкрахмалом (ГЭК).

Предлагаемая твердая дисперсия включает в себя механокомплекс, полученный путем механохимической обработки фенбендазола с ПВП, АГ, NaГК, ЭС или ГЭК в соотношении 1 : 10 в измельчителях ударно-стирающего типа и с ДССNa в соотношении 1 : 1.

Материалы и методы

ТДФ получали по механохимической технологии с использованием различных компонентов, в том числе ПВП, АГ, NaГК, ДССNa, ЭС или ГЭК в металлическом барабане валковой шаровой мельницы типа LE-101 объемом 1000 мл, в который загружали 2,1 г фенбендазола и 21,0 г ПВП или других компонентов с добавлением в барабан 800 г металлических шаров диаметром 12 мм. Барабан устанавливали на валках и проводили обработку смеси в течение 4 ч при вращении барабана со скоростью 70 об/мин. Полученный продукт – ТДФ в соотношении 1 : 10 в виде сыпучего порошка выгружали из барабана и изучали его растворимость в воде и эффективность на лабораторной модели при трихинеллезе белых мышей и нематодозах овец. ТДФ с ДССNa готовили в соотношении 1 : 1.

Изучение нематодоцидной активности заявляемых препаратов проводили на белых мышках, экспериментально инвазированных *T. spiralis* в возрасте 1,5–2 мес. в дозе 200 личинок на животное. Животных заражали через рот введением суспензии с личинками с помощью шприца с канюлей. 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, NaГК, ДССNa, ЭС или ГЭК. Мыши этих групп получали антигельминтные средства в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ, т. е. 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. Нематодоцидную активность испытуемых препаратов учитывали по результатам гельминтологического вскрытия кишечника, взятия соскобов слизистой оболочки, переваривания в растворе искусственного желудочного сока и подсчета под бинокулярной лупой. Учитывали обнаруженное при этом число трихинелл. Учет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных нематод и интенсэфективности (ИЭ).

Антигельминтную активность ТДФ изучали в овцеводческих хозяйствах Самарской области, неблагополучных по гельминтозам. Опыт проводили в 2018 г. в период максимальной инвазированности животных. В опытах использовали 186 голов молодняка овец разных пород массой тела от 17 до 36 кг, в том числе спонтанно инвазированных нематодирозами 48, и другими видами желудочно-кишечных стронгилят 56 гол. При каждом гельминтозе животных по принципу аналогов разделяли на 8 равноценных групп по 8–10 овец в каждой. Животным 1–6-й групп вводили ТДФ в форме порошка однократно перорально в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. Овцы седьмой группы получали базовый препарат – фенбендазол (субстанцию, на основе которой приготовлена ТДФ) в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали.

Эффективность ТДФ учитывали по результатам овоскопических исследований фекалий методом флотации до и через 15–18 сут после

дегельминтизации. Учет активности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных яиц нематод [1]. Полученные результаты обработали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003–2007.

Результаты и обсуждение

Первоначально нами изучена растворимость в воде исходной субстанции фенбендазола и его твердых дисперсий, в результате чего установлено существенное изменение этого показателя.

В табл. 1 приведены данные растворимости фенбендазола при использовании для его модификации разных компонентов.

Наибольшая растворимость ТДФ отмечена после механохимической обработки с ДССNa в соотношении 1 : 1, а также с ПВП в соотношении 1 : 9.

Результаты испытания ТДФ с разными компонентами против *T. spiralis* приведены в табл. 2.

ТДФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показала 100%-ную эффективность против *T. spiralis*. ТДФ с ДССNa, АГ, NaГК, ЭС и ТЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ проявили соответственно 95,1; 94,9; 93,6; 86,0 и 81,0%-ную активность при трихинеллезе. Исходная субстанция фенбендазола в этой дозе оказала 24,3%-ный эффект. У животных контрольной группы, не подвергавшихся лечению, обнаружили в кишечнике, в среднем, по $87,6 \pm 6,7$ экз. *T. spiralis*.

Эффективность фенбендазола в форме твердой дисперсии по сравнению с базовым препаратом повысилась в 3,3–4,1 раза.

Полученные результаты испытания на овцах ТДФ, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки, приведены в табл. 3 и свидетельствуют о разной степени эффективности ТДФ с разными компонентами при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец.

При нематодирозе овец ТДФ с ПВП, NaГК, ДССNa, 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 составила 23,78%. Следовательно, эффективность ТДФ с компонентами для адресной доставки была выше в 3,7–4,1 раза по сравнению с базовым препаратом.

Таблица 1

Растворимость фенбендазола и его твердых дисперсий в воде

Состав	Растворимость	
	абсолютная, мг/л	увеличение, раз
Фенбендазол (ФБЗ) исходный	0,33	–
ФБЗ : ПВП	7,0	21,2
ФБЗ : NaГК	6,7	20,3
ФБЗ : ДССNa	9,3	28,2
ФБЗ : ЭС	3,2	9,7
ФБЗ : ГЭК	2,4	7,3
ФБЗ : АГ	2,7	8,2

Таблица 2

Нематодоцидная эффективность ТДФ 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
Подопытная	ФБЗ : ПВП 10 : 90	10	0	100	4,1
Подопытная	ФБЗ : NaГК 10 : 90	10	$5,6 \pm 0,9$	93,6	3,8
Подопытная	ФБЗ : ДССNa 50 : 50	10	$4,3 \pm 0,8$	95,1	3,9
Подопытная	ФБЗ : ЭС 10 : 90	10	$12,3 \pm 1,0$	86,0	3,5
Подопытная	ФБЗ : ТЭК 10 : 90	10	$16,6 \pm 1,0$	81,0	3,3
Подопытная	ФБЗ : АГ 10 : 90	10	$4,5 \pm 0,8$	94,9	3,9
Подопытная	ФБЗ исходный	10	$66,3 \pm 5,2$	24,3	0
Контрольная	–	10	$87,6 \pm 6,7$	–	–

Таблица 3

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

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

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

При других желудочно-кишечных стронгилятозах овец ТДФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ составила 98,67%, с NaГК 98,15%, с ДССNa 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 ТДФ, приготовленных по механохимической технологии.

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

Следует отметить, что повышение биологической активности ТДФ обусловлено изменениями в процессе механохимической технологии физико-химических свойств антигельминтика, в частности, растворимости

в воде, потерями кристалличности, уменьшения размера частиц до 0,1–10 микрон, образования межмолекулярных комплексов включения типа «гость-хозяин» за счет гидрофобных взаимодействий [2].

Таким образом, механохимическая технология модификации антигельминтных препаратов с адресной системой доставки является перспективным направлением по созданию более эффективных препаратов для успешного лечения паразитозов животных.

Литература

1. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 409 с.
2. *Архипов И. А., Халиков С. С., Душкин А. В., Варламова А. И., Мусаев М. Б., Поляков Н. Э., Чистяченко Ю. С., Садов К. М., Халиков М. С.* Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов. Получение и свойства. М.: Новые авторы, 2017. 91 с.
3. *Варламова А. И., Лимова Ю. В., Садов К. М., Садова А. К., Белова Е. Е., Радионов А. В., Халиков С. С., Чистяченко Ю. С., Душкин А. В., Скира В. Н., Архипов И. А.* Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при немато-

- дозах овец // Российский паразитологический журнал. М., 2016. Т. 35, Вып. 1. С. 76–81.
4. Варламова А. И. Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах молодняка крупного рогатого скота // Ветеринария. 2017. № 1. С. 32–35.
 5. Варламова А. И., Архипов И. А., Халиков С. С., Душкин А. В., Чистяченко Ю. С., Халиков М. С., Данилевская Н. В. Антигельминтное средство и способ его получения. Патент на изобретение № 2558922 // Бюл. ФИПС. № 22 от 10.08.2015.
 6. Душкин А. В., Сунцов Л. П., Халиков С. С. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ // Фундаментальные исследования. 2013. № 1 (Ч. 2). С. 448–457.
 7. Сафиуллин Р. Т. Распространение и экономический ущерб от основных гельминтозов жвачных // Ветеринария. 1997. № 6. С. 28–32.
 8. Bossche H., Rochette F., Horig C. Anthelmintic efficacy of fenbendazole. *Vet. Rec.*, 1982; 78 (3): 876–877.
 9. Duwel D., Strassor H. Effectiveness von fenbendazole bei parasitische Krankheiten. *Dtschr. Tierarztl. Wsch.*, 1978; 85 (2): 239–241.
- ### References
1. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. М., 2009; 409. (In Russ.)
 2. Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Varlamova A. I., Musayev M. B., Polyakov N. E., Chistyachenko Yu. S., Sadov K. M., Khalikov M. S. Supramolecular complexes of benzimidazole anthelmintic drugs. *Production and properties*. М.: New authors, 2017; 91. (In Russ.)
 3. Varlamova A. I., Limova Yu. V., Sadov K. M., Sadova A. K., Belova E. E., Radionov A. V., Khalikov S. S., Chistyachenko Yu. S., Dushkin A. V., Skira V. N., Arkhipov I. A. Efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole at nematodosis of sheep. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. М., 2016; 35 (1): 76–81. (In Russ.)
 4. Varlamova A. I. Anthelmintic efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole at nematodosis of baby-beef. *Veterinariya = Veterinary science*. 2017; 1: 32–35. (In Russ.)
 5. Varlamova A. I., Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Chistyachenko Yu. S., Khalikov M. S., Danilevskaya N. V. Anthelmintic drug and its production method. Patent for invention No. 2558922. *Byulleten' Federal'nogo instituta promyshlennoy sobstvennosti = Bulletin of the Federal Institute of Industrial Property*. 22 dd. 10/08/2015. (In Russ.)
 6. Dushkin A. V., Suntsov L. P., Khalikov S. S. Mechanochemical technology for enhancing drug solubility. *Fundamentalniye issledovaniya = Fundamental Researches*. 2013; 1 (Part 2): 448–457. (In Russ.)
 7. Safiullin R. T. Spread of and economic losses from major helminthiases of ruminants. *Veterinariya = Veterinary Science*. 1997; 6: 28–32. (In Russ.)
 8. Bossche H., Rochette F., Horig C. Anthelmintic efficacy of fenbendazole. *Vet. Rec.* 1982; 78 (3): 876–877.
 9. Duwel D., Strassor H. Effectiveness von fenbendazole bei parasitische Krankheiten. *Dtschr. Tierarztl. Wsch.* 1978; 85 (2): 239–241.