УДК 619:616.594.171:636.934.23

ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО ПРОТИВОГРИБКОВОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

***Лунегов А.М., **Шульц А.В., **Черных Т.Ф., **Флисюк Е.В.**
*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
**Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение. В настоящее время в клинической практике имеется определенный выбор препаратов, обладающих антимикотической активностью, как системного, так и локального действия, но вызываемые ими побочные или токсические эффекты нередко ограничивают их применение в медицинской практике. Например, антибиотик гризеофульвин обладает высокой токсичностью, тератогенным и эмбриотоксическим действием. Производные имидазола и триазола (кетоконазол, итраконазол, бифоназол, оксиконазол, флуконазол, клотримазол) при системном применении в разной степени обладают гепатотоксичностью и неблагоприятным действием на эндокринные органы, при местном применении способствуют возникновению аллергических реакций. Производные группы аллиламинов (тербинафин, толнафтат, нафтифин) при системном применении оказывают побочное действие на желудочно-кишечный тракт и отрицательное инотропное действие. При длительном местном применении способствуют развитию аллергических реакций [2].

В связи с этим поиск, разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоактивных и малотоксичных лекарственных средств, способных специфически воздействовать на патогенные грибы, не оказывая при этом нежелательного действия на организм, является актуальным.

Группой ученных синтетиков ФГБОУ ВПО «СПХФУ» получено вещество производное тиадиазола, которое обладает противогрибковой активностью, сравнимую с имеющимися на рынке антимикотиками (флуконазол и вориконазол).

Проведены доклинические исследования субстанции. Ранее была исследована острая и хроническая токсичность, аллергизирующее, противомикробное, эмбриотоксическое и мутагенное действия. Субстанция является малотоксичным веществом. Исследования были проведены в соответствии со стандартами, международно-признанными в настоящий момент (Animal Welfare Act, Guide for Care and Use of Laboratory Animals).

Целю наших исследований явилось разработать лекарственную форму мази, изучить широту спектра противогрибковой активности мази in vitro методом диффузии в агар, его влияние на клетку патогенного гриба. Сравнить эффективность мази с зарегистрированными на территории РФ коммерческими медицинскими противогрибковыми препаратами: фунгин, нитрофунгин, имавеол и зоомикол.

Материалы и методы исследований. Лекарственная форма в виде мази была разработана на кафедре технологии лекарств под руководством проф., д.ф.н. Флисюк Е.В. Стандартизацию мази проводили по органолептическим, физическим, химическим и биологическим показателям [1]. Мазь желтого цвета, однородна, хорошо наносится на поврежденные поверхности.

Противогрибковую активность полученной мази определяли согласно Государственной Фармакопеи - XIII издания методом диффузии в агар на плотной питательной среде Сабуро концентрации микроорганизмов 1000 ЕД, 10.000 ЕД и

100.000 ЕД (единиц действия) по отношению к штаммам грибов *Candida albicans* АТСС 10231 BZПМ Y-3108, *Candida tropicalis* Y-200 Я ЦНИКВИ, *Aspergillus fumigatus*1320-13, *Candida utilis* 600 ВКМ (табл.1.), применяемым для биологической активности в фармации.

Лечебную эффективность мазей на мелких животных (кошки) оценивали по следующим параметрам:

1) специфическое свечение очагов поражения в лучах лампы Вуда при наличии возбудителя, в баллах, в зависимости от площади и интенсивности свечения;

2) посев и микроскопическое исследование материала (чешуйки, волоски);

3) время восстановления шёрстного покрова;

4) местно-раздражающее действие (язвы, струпья, их количество и размеры). Оценку проводили один раз в семь дней на протяжении всего периода наблюдения (14 дней).

Микроскопические исследования из очага поражения у животных брали для определения вида грибка. Материал высевали на агар Сабуро в чашках Петри. Посевы инкубировали при температуре 22-30 °С. Микроскопия чешуек, взятых из очагов поражения проводилась после их просветления в 20 % растворе гидроокиси калия. Результаты считались положительными, если в исследуемом материале обнаруживались извитые нити мицелия гриба (табл.2).

Результаты исследований. Проведенные ранее исследования антимикотической активности субстанции к лабораторным и госпитальным штаммам патогенных грибов показали, что минимальная подавляющая концентрация к штаммам *Microsporum canis, Trichophyton gyrseum*, *Trichophyton rubrum,* в отношении дерматофитов *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum* равна 3,9-7,8 мкг/мл. Противогрибковая активность субстанции тиадиазола отношении возбудителей глубоких микозов (гистоплазмоза, аспергиллёза и др.) была существенно выше, чем у дерматофитов и находилась в пределах минимальных подавляющих концентраций 50 – 200 мкг/мл. Противогрибковая активность тиадиазола в отношении дрожжеподобных грибов рода Candida (*Candida albicans и Candida tropicalis)* равна 15,6-125 мкг/мл.

Противогрибковую активность мази оценивали по диаметру задержки роста микроорганизмов разной концентрацией нагрузки вокруг лунки в мм (табл. 1).

Таблица 1 - Противогрибковая активность мази на основе тиадиазола методом диффузии в агар (п=5) в мм

Испытуемый препарат	Микробная нагрузка (ЕД)	Candida albicans	Candida tropicalis	Aspergillus fumigatus	Candida utiis
Мазь на основе тиадиазола, 3%	1000	20,12±0,39	24,34±0,52	17,25±1,01	24,25±0,77
	10,000	16,15±0,45	17,48±0,31	13,04±0,87	20,60±0,81
	100,000	11,47±0,32	13,23±0,63	12,18±0,56	18,06±0,45

Установлено, что 3% мазь с тиадиазолом эффективна in vitro к изучаемым штаммам грибов с разной микробной нагрузкой.

В экспериментах in vivo участвовали 19 животных (кошки). Мазь втирали в пораженный участок кожи животным ежедневно в течение 7-14 дней в количестве от 0,01г.- 0,05 (в зависимости от очага поражения) [3].

При изучении переносимости и местно-раздражающего действия мази тиадиазола при местном применении оценивали общее состояние животных (внешний вид, подвижность и поведение). Оценка наличия или отсутствия местно-раздражающего действия проводилась визуально по наличию изменений на коже животных (отек, гиперемия, шелушение и др.) на фоне нанесения испытуемого препарата. Отрицательные реакции у животных не наблюдались.

Таблица 2-Эффективность 3% мази с тиадиазолом

Период лечения	свечение очагов	микроскопия	бактериология	местно-раздражающее действие	восстановления шёрстного покрова
Начало лечения	+	+	+	+	
Через 7 дн.	-	-+	-	+	+-
Через 14 дн.	-	-	-	-	+

Примечания: «+» - положительно; «-« - отрицательно.

При применении животным мази тиадиазола на 7 - 8 день явления воспаления регрессировали, на коже в очагах наблюдалось обильное мелкопластинчатое шелушение. К 10-14 дню поверхность очагов очищалась, и кожа приобретала бледно-розовую окраску. Восстановление шерстного покрова наблюдалось по окончании применения мази. Специфическое свечение отросших волосков в лучах лампы Вуда прекращалось. Результаты посева и микроскопии отросших волосков становились отрицательными.

Далее мы провели сравнительное исследование эффективности и переносимости 3% мази тиадиазола с различными противогрибковыми препаратами. Данный анализ показал, что тиадиазол сопоставим по эффективности с имаверолом и превышает нитрофунгин, фунгин и зоомикол. При применении фунгина и нитрофунгина на пораженной грибом коже животных длительно сохранялись гиперемия и участки некроза, отмечалось более позднее восстановление шерстного покрова (17 дней), что не наблюдалось при лечении мази тиадиазола. Все это свидетельствуют о более высокой эффективности и хорошей переносимости 3% мази тиадиазола.

Заключение: Мазь с тиадиазолом показала высокую эффективность при лечении дерматофитозов животных (кошек). Установлено, что получение фармацевтических препаратов противогрибкового действия на их основе является важным и перспективным направлением в ветеринарии. Результаты исследований новой противогрибковой мази открывают возможность повышения эффективности профилактики и лечения дерматофитозов мелких домашних животных, расширяют перспективы применения альтернативных фунгицидных препаратов для повышения уровня противодерматофитозных мероприятий.

Литература. *1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание, том I, II – Москва, 2015. 2. Лекарственные средства. 16-е изд.: Машковский М. Д. Изд.: Новая Волна, 2020 г. 3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.*