

УДК 547.833+615.284.21]:591.619

**РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ШИСТОСОМОЗА ОВЕЦ
В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКИСТАН И ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ****¹Халиков С.С., ²Акратова Ф.Д., ²Уббиниязова Ж.К., ¹Халиков М.С.,
²Шакарбаев У.А., ¹Ильин М.М., ²Акбаров А.А., ²Азимов Д.А.**¹*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва,
e-mail: khalikov_ss@ineos.ac.ru;*²*Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент,
e-mail: f.akratova1976@mail.ru*

Целью исследования являются поиск и разработка методами механохимии препаратов на основе празиквантела (ПЗК) и изучение их эффективности при лечении шистосомоза овец в Республике Узбекистан. Для повышения растворимости субстанции ПЗК в воде применили метод его механохимической модификации с помощью полимерных веществ (ПВП, полисахарид арабиногалактан, сапонин в виде экстракта солодки). Суть метода заключалась в совместной твердофазной обработке исходных компонентов в металллическом барабане шаровой мельницы с регулируемой энергонапряженностью. Метод является одностадийным, экологически безопасным, исключает использование растворителей, процессов нагревания и образование отходов. Полученные при этом твердые дисперсии (ТД) представляли собой тонкие порошки с повышенной до 15 раз растворимостью, которую контролировали методом ВЭЖХ после растворения образцов ТД в воде с фиксированием концентрации ПЗК в водном фильтрате при 360 нм. Образцы ТД после растворения в воде испытывали на молодняке овец каракульской породы в частном животноводческом хозяйстве Республики Узбекистан. Результаты испытаний подтвердили высокую эффективность предлагаемых препаратов при шистосомозе овец, а именно установлена 100%-ная эффективность всех разработанных твердых дисперсий празиквантела против *Schistosoma turkestanicum* в дозах 2,0 и 3,0 мг/кг массы животного. Успешная апробация разработанных композиций с заниженными в 10 раз дозами позволяет рекомендовать их к широкому использованию в ветеринарной и медицинской практике по борьбе и профилактике шистосомозов животных и человека.

Ключевые слова: празиквантел, ПВП, арабиногалактан, экстракт солодки, механохимическая технология, твердая дисперсия, растворимость, овцы каракульской породы, шистосомоз, эффективность

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-26-20055), Министров науки и высшего образования РФ и РУз.

**DEVELOPMENT OF DRUGS FOR THE TREATMENT
OF SCHISTOSOMIASIS IN SHEEP IN THE REPUBLIC
OF UZBEKISTAN AND THEIR EFFICIENCY****¹Khalikov S.S., ²Akramova F.D., ²Ubbiniyazova Zh.K., ¹Khalikov M.S.,
²Shakarbaev U.A., ¹Ilyin M.M., ²Akbarov A.A., ²Azimov D.A.**¹*A.N. Nesmeyanov Institute of Elementoorganic Compounds Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: khalikov_ss@ineos.ac.ru;*²*Institute of Zoology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent,
e-mail: f.akratova1976@mail.ru*

The aim of the study is to search for and develop drugs based on praziquantel (PZQ) using mechanochemical methods and study their effectiveness in the treatment of sheep schistosomiasis in the Republic of Uzbekistan. To increase the solubility of the PZQ substance in water, the method of its mechanochemical modification with the help of polymeric substances (PVP, polysaccharide arabinogalactan, saponin in the form of licorice extract) was used. The essence of the method was the joint solid-phase processing of the initial components in a metal drum of a ball mill with controlled energy intensity. The method is one-stage, environmentally safe, eliminates the use of solvents, heating processes and waste generation. The resulting solid dispersions (SD) were thin powders with up to 15 times increased solubility, which was controlled by HPLC after dissolving the SD samples in water with fixing the PZQ concentration in the aqueous filtrate at 360 nm. SD samples, after dissolving in water, were tested on young sheep of the Karakul breed in a private livestock farm of the Republic of Uzbekistan. The test results confirmed the high efficiency of the proposed drugs in sheep schistosomiasis, namely, 100% effectiveness of all developed praziquantel solid dispersions against *Schistosoma turkestanicum* at doses of 2.0 and 3.0 mg/kg of animal weight was established. The developed compositions with doses lowered by 10 times make it possible to recommend them for wide use in veterinary and medical practice for the control and prevention of schistosomiasis in animals and humans.

Keywords: praziquantel, PVP, arabinogalactan, licorice extract, mechanochemical technology, solid dispersion, solubility, karakul sheep, schistosomiasis, efficiency

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-26-20055), the Ministries of Science and Higher Education of the Russian Federation and the Republic of Uzbekistan.

Празиквантел (азинокс, бильтрицид, дронтал, дронцит) является наиболее широко применяемым антигельминтным средством в списке ВОЗ и основным препаратом для лечения людей и животных при описторхозе, клонорхозе, шистосомозе, эхинококкозе, цистицеркозе, гименолепидозе и других кишечных цестодозах [1, 2].

Празиквантел высокоэффективен при шистосомозе (*Schistosoma turkestanicum*) животных, согласно [2] он вызывает различного рода дистрофии органов и тканей *Sch. turkestanicum*, а также необратимые дегенеративные изменения самцов и самок трематоды. Эти процессы начинаются через 24–48 ч после применения препарата, через 72 ч шистосомы в сосудах брыжейки обретают форму гомогенной массы. Однако для лечения овец и крупного рогатого скота при шистосомозе необходимы большие дозы ПЗК (25–50 мг/кг). Препарат достаточно дорогой, что ограничивает его широкое применение. Недостаточная эффективность празиквантела (ПЗК) при ряде гельминтозов, включая шистосомоз и описторхоз, обусловлена низкой растворимостью и быстрым метаболизмом в печени с образованием неактивных соединений. Поэтому препарат применяют в повышенной дозе и с несколькими повторностями для достижения максимальной эффективности.

В ранее проведенных исследованиях [3] повысить растворимость ПЗК предполагалось путем механохимической твердофазной модификации его субстанции с помощью сапонина – экстракта солодки и эмульгатора диоктилсульфосукцината натрия.

Экстракт солодки (ЭС) содержит в своем составе до 25% метаболита природного происхождения – глицирризиновую кислоту (ГК), проявляющую широкий спектр активности [4]. В обзоре [5] приведены данные широкого спектра собственной биологической активности ГК, а также ее способности усиливать активность других лекарственных препаратов. При этом показано, что благодаря своей амфифильной природе ГК способна образовывать самоассоциаты в водных и неводных средах, а также водорастворимые комплексы с широким спектром липофильных субстанций. Использование ГК и ее производных для механохимической модификации плохо растворимых лекарственных субстанций способствует не только повышению их растворимости, но и увеличению их биологической эффективности за счет влияния ГК на мембранную проницаемость [6]. Эти идеи нашли свое подтверждение и относительно производных ГК, в частности на примере использования ее динатриевой соли ($\text{Na}_2\text{ГК}$)

была получена твердая дисперсия (ТД) с ПЗК, образующая в воде мицеллярные системы [7]. Эти системы на модели описторхоза, вызванного *O. felineus*, выявили повышение растворимости в 3,5 раза, биодоступности в 3 раза и антигельминтной активности ПЗК до 11 раз.

Диоктилсульфосукцинат натрия (ДОССН) применяется в качестве эмульгатора в различных технологиях и обладает выраженным антигипоксическим и антиоксидантным действием [8]. Поэтому для увеличения растворимости и биодоступности ПЗК использовалась механохимическая модификация субстанции с помощью ПВП, арабиногалактана (АГ), динатриевой соли глицирризиновой кислоты ($\text{Na}_2\text{ГК}$) и ДОССН [9]. Полученные ТД составов ПЗК:ПВП (10:90), ПЗК:ПВП:ДОССН (10:89:1), ПЗК:АГ:ДОССН (10:89:1) и ПЗК:ЭС:ДОССН (10:89:1) обладали повышенной растворимостью и образовывали стабильные суспензии при растворении в воде, что предполагало и их высокую антигельминтную активность. Применяя ПВП и ДОССН, удалось повысить растворимость ПЗК (более чем в 10 раз) и увеличить антигельминтную активность в отношении цестод *H.nana* и *M. expansa* на лабораторных моделях – белых мышей и овцах, спонтанно зараженных этими гельминтами. Были выявлены следующие закономерности:

- дисперсия состава ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ (1:10) представляет собой порошок со средним размером частиц 5–10 мкм;

- при получении этой ТД субстанция ПЗК существенно теряет кристалличность, превращаясь в аморфное вещество, которое легко включается в мицеллярную систему с ГК.

Учитывая данные по высокой эффективности препаратов на основе ПЗК, полученными методами механохимии, создание новых композиций на основе ПЗК и изучение их на спонтанно зараженных шистосомами (*Sch. turkestanicum*) овцах представляло научный и практический интерес.

Цель исследования – изучение процесса синтеза новых ТД на основе празиквантела и исследование их антигельминтной активности в отношении *Sch. turkestanicum* на молодняке овец каракульской породы в Республике Узбекистан.

Материал и методы исследования

Для получения композиций ПЗК были применены следующие вещества и материалы:

- празиквантел [2-(циклогексилкарбонил) – 1,2,3,6,7,11b-гексагидро – 4Н – пиазино [2,1 – а] изохинолин – 4 – он] – белый кристаллический порошок с содержанием

98,5% основного веществ (о.в.). Производство Shanghai Joiaiyi Pharmaceutical Co., Ltd. (Китай);

– поливинилпирролидон (ПВП) – 1 этенилпирролидин-2-он марки К-30. Производитель Boai NKY Pharmaceuticals Ltd. (Китай);

– арабиногалактан (АГ) марки «Левитол-арабиногалактан» ТУ 9325-008-70692152-08. Производитель – АО «Аметис» (Россия, Благовещенск);

– экстракт солодки (ЭС) – сухой мелкодисперсный порошок темно-коричневого цвета с содержанием 24,9% ГК производства ООО «Вистерра», Алтайский край;

– диоктилсульфосукцин натрия (ДОССН) с содержанием о.в. 96% (Acras Organics, Нью-Джерси, США) – мелкодисперсный, гигроскопичный порошок со слегка горьким, мыльным вкусом и запахом октанола. В РФ разрешено его использование в качестве эмульгатора и детергента.

Твердые дисперсии ПЗК с полимерами и ДОССН были получены и исследованы на растворимость по методикам, аналогичным описанным в работе [3].

Опыты по испытанию препаратов проводили на спонтанно зараженных шистосомами, возбудителями шистосомоза, овцами по общепринятым методам [10].

Результаты опытов статистически обрабатывали с использованием среднего геометрического числа шистосом для сравнения различий между экспериментальной и контрольной группами. Для статистического анализа результатов исследования использовали SAS/Stat (версия 9.4).

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные по механохимической технологии композиции ПЗК в виде ТД анализировали на изменение растворимости. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Анализ данных таблицы 1 подтвердил увеличение растворимости ПЗК в полу-

ченных композициях, что предполагало соответствующее повышение антигельминтной активности.

В системе ветеринарных мероприятий особое внимание уделяется усовершенствованию методов терапии и профилактики шистосомоза, что способствует исключению заражения животных. Для районов с широким распространением шистосомоза овец и крупного рогатого скота празиквантел был рекомендован в дозе 25 мг/кг м.ж. однократно, которая оказалась высокоэффективной в лечении шистосомоза этих животных [2]. Однако высокая стоимость препарата препятствовала широкому использованию препарата. Поэтому исследования по снижению терапевтической дозы препаратов на основе празиквантела были весьма актуальными и представляли научный и практический интерес в настоящей работе.

Антигельминтную активность полученных композиций празиквантела в отношении *Sch. turkestanicum* изучали в фермерских хозяйствах Бозатауского района Республики Каракалпакстан на молодняке овец каракульской породы (массой от 25 до 35 кг) в течение зимнего периода (декабрь 2022 года и январь – февраль 2023 года). Животные во время опыта содержались в стойлах.

Опыты проводили на 132 особях каракульских овец, из которых сформировали опытные и контрольные группы. Животным опытных групп задавали однократно перорально композиции ПЗК в дозах 1,0, 2,0 и 3,0 мг/кг массы животного (м.ж.) (по препарату). Контрольным группам животных препарат не задавался. В опытных группах было 114 особей; число животных в каждой группе составляло 21–24 особи.

Для определения зараженности овец шистосомами (*Sch. turkestanicum*) пробы фекалий исследовали общепринятым методом последовательных промываний с учетом количества яиц шистосом в 1 г фекалий для распределения животных по группам [10].

Таблица 1

Растворимость твердых дисперсий (ТД) празиквантела (ПЗК) в воде.
Погрешность анализа $\pm 3\%$

Состав образцов ТД, полученных после 4 ч механообработки	Растворимость в воде, мг/л	Увеличение растворимости, раз
Исходный ПЗК, без механообработки	400,0	–
ТД состава ПЗК:ПВП (10:90)	3195,0	8
ТД состава ПЗК:ПВП:ДОССН (10:89:1)	5211,0	13
ТД состава ПЗК:АГ:ДОССН (10:89:1)	4397,0	11
ТД состава ПЗК:ЭС:ДОССН (10:89:1)	5989,0	15

Таблица 2

Эффективность композиций празиквантела в виде твердых дисперсий с полимерами и эмульгатора (ДОСН) при шистосомозе овец

Вариант	Доза, мг/кг	Средняя доза на 1 голову овец, мг/кг	Подопытные овцы	Освободились от инвазии	Обнаружено шистосом после дегельминтизации, М±m	ЭЭ, %	ИЭ, %
Контроль	–	–	8	–	386±1,5	–	–
ПЗК:ПВП	3.0	88,1	8	8	–	100,0	100,0
	2.0	59,7	7	7	–	100,0	100,0
	1.0	31,0	8	4	48±0,21	50,0	87,6
ПЗК:ПВП:ДОСН	3.0	91,3	7	7	–	100,0	100,0
	2.0	58,3	7	7	–	100,0	100,0
	1.0	29,9	8	6	56±0,23	75,0	85,5
ПЗК:АГ:ДОСН	3.0	90,8	8	8	–	100,0	100,0
	2.0	58	8	8	–	100,0	100,0
	1.0	30,8	8	5	72±0,29	62,5	81,4
ПЗК:ЭС:ДОСН	3.0	90,0	7	7	–	100,0	100,0
	2.0	60,3	7	7	–	100,0	100,0
	1.0	30,0	7	4	84±0,34	50,0	78,3
Субстанция ПЗК	3.0	93,0	8	8	–	100,0	100,0
	2.0	61,3	8	6	69±0,28	75,0	82,2

Эффективность препаратов определяли по результатам исследования убойных животных методом полного гельминтологического вскрытия животных и их отдельных органов – печени и сосудов брыжейки, где, как правило, концентрируются зрелые шистосомы.

Овец, больных шистосомозом, разделили на шесть равноценных групп с учетом количества яиц шистосом в 1 г фекалий. Полученные ТД празиквантела задавали овцам опытных групп в рекомендованных дозах: 1,0, 2,0 и 3,0 мг/кг м.ж. с водой. Животные 6-й группы получали субстанцию празиквантела. Овцам контрольной (1-й) группы препарат не задавался.

Эффективность препаратов в отношении *Sch. turkestanicum* устанавливали на 10-е и 13-е сутки после введения по результатам гельминтологических вскрытий печени и сосудов брыжейки опытных и контрольных групп животных. Данные испытаний представлены в таблице 2.

Анализ данных таблицы 2 подтвердил высокую эффективность полученных композиций празиквантела в виде ТД с полимерами и эмульгатором. При испытаниях на овцах установлена 100%-ная эффективность композиций против *Sch.*

turkestanicum в дозах 2,0 и 3,0 мг/кг м.ж. (по препарату). Доза 1,0 мг/кг оказалась менее эффективной (50,0–74,9%). У овец в группах, не освободившихся от инвазии, *Sch. turkestanicum* находили в печени и сосудах брыжейки в количестве (в среднем) от 48,0±0,21 до 84,0±0,34 экз. При вскрытии животных после введения композиций в дозе 1,0 мг/кг м.ж. во всех дегельминтизированных группах обнаружено достоверно меньшее количество шистосом по сравнению с контрольной группой. Субстанция празиквантела в дозе 1,0 мг/кг м.ж. оказалась недостаточно эффективной (25,5%) в отношении *Sch. turkestanicum*. В печени и в сосудах брыжейки контрольных овец было обнаружено в среднем 386 экз. шистосом, состоящих из самцов и самок. При проведении опытов дегенеративные процессы тегумента *Sch. turkestanicum* значительно ускорились. Уже по истечении 16–18 часов после применения препаратов наблюдали гомогенную массу шистосом в венозных сосудах брыжейки опытных овец.

Выводы

Учитывая, что шистосомоз является острой и хронической паразитарной болезнью, вызываемой кровяными сосаль-

щиками (трематодными червями) из рода *Schistosoma*, наиболее перспективным методом в борьбе с этими паразитами является дегельминтизация зараженных животных. Для этих целей ведутся научные и практические разработки инновационных препаратов на основе празиквантела. Результаты настоящего исследования и предлагаемые препараты, основанные на механохимической обработке, способствовали значительному снижению дозировки (с 25 мг/кг до 2–3 мг/кг) и сохранению их высокой эффективности для профилактики шистосомоза животных.

Разработанные композиции ПЗК в низких дозах, вероятно, будут способствовать профилактике шистосомозов (и борьбе с ними) животных и человека при широком использовании в ветеринарной и медицинской практике.

Список литературы

1. World Health Organization, WHO Model List of Essential Medicines, twentieth ed. 2017. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/> (дата обращения: 15.08.2023).
2. Норкбиллов Б.Т., Акрамова Ф.Д., Шакарбоев У.А., Азимов Д.А. Шистосомоз животных в экологических условиях Приаралья // Теория и практика борьбы с паразитами болезней: материалы докладов международной научной конференции (Москва, 13-15 мая 2020). М.: Наука, 2020. С. 313-318.
3. Варламова А.И., Мовсеян С.О., Архипов И.А., Халиков С.С., Арисов М.В., Кочетков П.П., Абрамов А.Е., Ильин И.И., Локшин Б.В. Биологическая активность и особенности фармакокинетики фенобендазола на основе супрамолекулярной системы адресной доставки с экстрактом соевых бобов и диоктилсульфосукцинатом натрия // Известия РАН, серия биологическая. 2020. № 6. С. 565-574.
4. Chauhan S., Gulati N., Nagaich U. Glycyrrhizic acid: extraction, screening and evaluation of anti-inflammatory property // *Ars. Pharm.* 2018. Vol. 59. No. 2. P. 61-67.
5. Selyutina O.Y., Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier – From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug // *Int. J. Pharm.* 2019. Vol. 559. P. 271-279.
6. Selyutina O.Y., Polyakov N.E., Korneev D.V., Zaitsev B.N. Influence of glycyrrhizin on permeability and elasticity of cell membrane: perspectives for drugs delivery // *Drug. Deliv.* 2014. Vol. 23. No. 3. P.858-865.
7. Meteleva E.S., Chistyachenko Y.S., Suntsova L.P., Dushkin A.V., Lyakhov N.Z., Khvostov M.V., Polyakov N.E., Selyutina O.Y., Tolstikova T.G., Frolova T.S., Mordvinov V.A. Disodium salt of glycyrrhizic acid – A novel supramolecular delivery system for anthelmintic drug praziquantel // *J. Drug. Deliv. Sci. Techn.* 2019. Vol. 50. P. 66-77.
8. Столповская Н. В., Зорина А.В., Перельгина И.Э., Ляпун Д.В. Физико-химические свойства сульфосукцинатов диэтаноламидов некоторых жирных кислот // Конденсированные среды и межфазные границы. 2015. № 4. С. 526-533.
9. Arkhipov I., Khalikov S., Dushkin A., Sadov K., Meteleva E., Arisov M., Varlamova A. Anthelmintic Efficacy of Supramolecular Complex of Praziquantel Obtained by Mechanochemical Technology // *Iran J. Parasitol.* 2020. Vol.15. No. 3. P. 364-373.
10. Wood I., Amaral N., Bairden K., Duncan J., Kassai T., Malone J., Panckavich J., Reinecke R., Slocombe O., Taylor S., Vercruyse J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the effectiveness of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) // *Vet. Parasitol.* 1995. Vol. 58. P. 181-213.