

СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ ФЕНБЕНДАЗОЛА ИЗ ОРГАНИЗМА ЛОШАДЕЙ ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ПРАЗИФЕНОМ

И.Е. ШУМАКОВИЧ

кандидат фармацевтических наук

М.Б. МУСАЕВ

доктор ветеринарных наук

И.Р. САЛГИРИЕВ

соискатель

И.А. АРХИПОВ

доктор ветеринарных наук

Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии

им. К.И. Скрябина, 127218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28,

e-mail: vigis.ncport@mail.ru

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлены сроки выведения фенбендазола из организма лошадей после их дегельминтизации празифеном. Через 10 сут после лечения фенбендазол и его метаболит оксфендазол в организме лошадей не обнаруживают.

Ключевые слова: лошадь, празифен, органы, ткани, остаточные количества.

Разработанная в ВИГИСе новая паста для дегельминтизации лошадей обладает приятным вкусом и удобна в применении. Празифен эффективен против нематод и цестод [1, 2].

Целью исследований было изучение фармакокинетики празифена и определение сроков полного выведения фенбендазола из организма лошадей.

Материалы и методы

Празифен представляет собой пасту, упакованную в дозированные шприцы вместимостью 20 мл. Пасту наносят на край языка из расчёта 3 мл на 100 кг массы животного.

Исследования проводили на 12 лошадях, из которых сформировали три группы (по три животных на группу) и три лошади служили контролем. Животных каждой подопытной группы убивали через одни сутки, трое, семь и десять суток после дачи препарата. Контрольных животных убивали за сутки до начала опыта. После убоя от каждой лошади брали сыворотку крови и пробы органов и тканей (печени, почек, мышечной и жировой ткани, мышц сердца, селезёнки, лёгких). Пробы сыворотки крови помещали в пробирки, а остальные пробы в пластиковые пакеты и хранили в морозильной камере.

После измельчения проб тканей на гомогенизаторе из них экстрагировали фенбендазол, очищали полученные экстракты от посторонних примесей и определяли количественное содержание фенбендазола и его метаболита (оксфендазола) с помощью ВЭЖХ с использованием обращённофазной колонки LUNA C 18 (250 x 4,6 мм).

Методика определения фенбендазола в сыворотке крови и в тканях внутренних органов заключается в следующем:

К 1 мл сыворотки крови или к 1 г гомогената внутренних органов добавляли 10 мл физиологического раствора и титровали до рН 7–8 при помощи 25%-ного раствора аммиака (1–2 капли), контролируя рН по индикаторной бумажке; добавляли 10 мл этилового эфира уксусной кислоты и экстрагировали при встряхивании на аппарате в течение 10 мин. Для разделения слоёв пробу центрифугировали 5 мин при 5 тыс. об./мин., переносили в делительную воронку. Слой этилового эфира уксусной кислоты помещали в круглодонную колбу, экстракцию водной фазы повторяли ещё два раза. Обезвоженный при помощи безводного сульфата натрия экстракт помещали в круглодонную колбу и выпаривали на роторном испарителе. Остаток растворяли в 10 мл ацетонитрила. Полученный раствор очищали от посторонних примесей, экстрагируя гексаном три раза по 10 мл. Слой гексана отбрасывали, слой раствора в ацетонитриле выпаривали на роторном испарителе при 40 °С. Полученный остаток растворяли в 1 мл элюэнта на УЗ бане в течение двух минут. Далее количественное определение проводили с помощью ВЭЖХ. В качестве элюэнта использовали смесь растворителей: ацетонитрил 0,05 М, раствор углекислого аммония в соотношении 35 : 65 со скоростью протекания 1 см/мин.

Содержание фенбендазола и его метаболита оксфендазола по калибровочной кривой, построенной из растворов стандартов.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты приведены в таблицах 1–3.

1. Содержание фенбендазола и оксфендазола в сыворотке крови

Сроки отбора проб, сутки	Фенбендазол			Оксфендазол		
	площадь пика стандартного раствора 1 мкг/мл	площадь пика экстракта, мкг/мл	содержание, нг/мл	площадь пика стандартного раствора 1 мкг/мл	площадь пика экстракта, мкг/мл	содержание, нг/мл
1	302232	200597	663	265258	167675	593
		232477	769		260100	920
		267371	885		248679	880
3	195957	28384	150	171981	27147	189
		90893	482		36593	255
		51918	275		20800	145
5	362999	66710	183	363041	44778	12168
		34253	94		24562	
7	362999	Нет	Н.о.	363041	Нет	Н.о.
		Нет	Н.о.		Нет	Н.о.
		Нет	Н.о.		Нет	Н.о.

2. Содержание фенбендазола в органах и тканях лошадей, нг/мл

Ткань, орган	№ п/п	Показатель	Время отбора проб, сутки			
			1	3	7	10
Печень	1	Площадь пика	616146	1219448	16298	Н.о.
		Содержание	2117	419	56	Н.о.
	2	Площадь пика	510205	169098	39582	Н.о.
		Содержание	1753	581	136	Н.о.
	3	Площадь пика	681050	243315	27650	Н.о.
		Содержание	2340	836	95	Н.о.

Окончание таблицы 1

Мышцы	1	Площадь пика Содержание	170845 587	576237 198	19500 67	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	266599 916	43480 135	8374 26	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	547168 1880	24478 76	11916 37	Н.о.
Мышца сердца	1	Площадь пика Содержание	99844 310	118203 367	19181 280	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	114660 356	95979 298	50891 158	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	199366 619	129153 401	33818 105	Н.о.
Лёгкое	1	Площадь пика Содержание	40260 125	282784 878	23834 74	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	52498 163	140103 435	8696 27	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	101132 314	188093 584	5475 17	Н.о.
Жир	1	Площадь пика Содержание	37683 117	112917 37	10628 33	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	27376 85	46701 145	Н.О. Н.О.	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	21579 67	15137 47	5475 17	Н.о.
Селезёнка	1	Площадь пика Содержание	326909 1015	38649 120	24476 76	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	253153 786	15687 486	5475 17	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	316603 983	45701 145	17070 53	Н.о.

Примечание. Используемые при пересчёте площади пика стандартного раствора фенбендазола 1 мкг/мл: 291047 или 322078 mVs.

3. Содержание оксфендазола в органах и тканях лошадей (нг/г) после введения празифена в терапевтической дозе

Ткань, орган	№ п/п	Показатель	Время отбора проб, сутки			
			1	3	7	10
Почки	1	Площадь пика	46649	131780	Н.О.	Н.о.
		Содержание	162	458	Н.О.	Н.о.
	2	Площадь пика	94470	157963	8344	Н.о.
		Содержание	328	549	29	Н.о.
Мышцы	3	Площадь пика	242241	280536	4315	Н.о.
		Содержание	841	975	15	Н.о.
			Площадь пика	Н.о.	330898	Н.О.
		Содержание	Н.о.	115	Н.О.	Н.о.
		Площадь пика	Н.о.	70781	11796	Н.о.
		Содержание	Н.о.	246	41	Н.о.
		Площадь пика	10070	61574	3452	Н.о.
		Содержание	35	214	12	Н.о.

Печень	1	Площадь пика Содержание	1632580 5674	326861 1136	25032 87	Н.о. Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	1432895 4980	281400 978	6905 24	Н.о. Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	1460229 5075	188175 654	33089 115	Н.о. Н.о.
Мышца сердца	1	Площадь пика Содержание	694325 2520	91475 332	4683 17	Н.о. Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	938166 3405	79902 290	9367 34	Н.о. Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	569512 2067	28910 105	7990 28	Н.о. Н.о.
Лёгкое	1	Площадь пика Содержание	73565 267	190112 690	11297 41	Н.о. Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	41328 150	144100 523	9643 35	Н.о. Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	94230 342	252107 915	4132 15	Н.о. Н.о.
Жир	1	Площадь пика Содержание	4891 17	6330 22	Н.о.	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	9207 32	9782 Н.о.	Н.о.	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	3740 13	22730 34	Н.о.	Н.о.
Селезёнка	1	Площадь пика Содержание	92361 321	22730 79	3740 13	Н.о.
	2	Площадь пика Содержание	70493 245	16400 57	7193 25	Н.о.
	3	Площадь пика Содержание	125738 437	23882 83	Н.о. Н.о.	Н.о. Н.о.

Примечание. Используемые при пересчёте площади пика растворов стандартного образца оксфендазола 1 мкг/мл: 275526 или 287730 mVs.

Содержание препарата (нг/мл) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{S_2 \times C_1}{S_1},$$

где С – содержание препарата, нг/мл; S_1 – площадь пика раствора стандартного образца, mVs; S_2 – площадь пика анализируемого экстракта; C_1 – 1000 нг/мл.

Чувствительность определения фенбендазола и оксфендазола – 5 нг/мл при введении 50 мкл пробы; экстрагируемость препаратов – около 75–90 % в зависимости от органа.

Из приведенных в таблице результатов следует, что фенбендазол и его метаболит полностью не обнаруживаются в организме лошадей через десять суток после введения празифена. Следовательно, убой животных можно проводить через десять суток после обработки животных празифеном в терапевтической дозе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее активный в антипаразитарном отношении метаболит фенбендазола – фенбендазол сульфоксид (оксфендазол) создает достаточно высокие концентрации в тканях печени и почек после обработки. Фенбендазол присутствует в органах и тканях, в основном, в начальные сроки (1–5-е сутки после обработки) в меньших по сравнению с метаболитом количествах.

Период полного выведения остаточных количеств фенбендазола, фенбендазола сульфоксида, а также празиквантела из органов и тканей лошадей составляет 10 сут после окончания обработки.

Литература

1. Мусаев М.Б., Шумакович И.Е., Архипов И.А. Испытание празифена при основных гельминтозах лошадей // Рос. паразитол. журнал. – 2009. – № 2. – С. 105–108.

2. Мусаев М.Б., Шумакович И.Е., Архипов И.А. Эффективность празифена при основных гельминтозах лошадей // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2010. – Вып. 11. – С. 299–302.

The terms of elimination of fenbendazole from horses body after prazifen treatment

I.E. Shumacovich, M.B. Musayev, I.R. Salgiriev, I.A. Arkhipov

The terms of elimination of fenbendazole from horses body after prazifen treatment were established by the method of highly effective liquid chromatography. In 10 days after treatment fenbendazole and its metabolite oxfendazole were not found in horses` organism.

Keywords: horse, prazifen, organs, tissues, residual quantities.