



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.
Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.
Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11622
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 615.31:547.79:615.281

Acute and chronic toxicity of an antifungal agent based on 1,2,4-triazole

S. Stratii¹, V. Hunchak¹, R. Vasiv^{1✉}, N. Koropetska², Kh. Leskiv¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Article info

Received 30.09.2024

Received in revised form

31.10.2024

Accepted 01.11.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-811-16-53
E-mail: vasivros@ukr.net

Danylo Halytsky Lviv National
Medical University,
Pekarska St., 69, Lviv,
79010 Ukraine.

Stratii, S., Hunchak, V., Vasiv, R., Koropetska, N., & Leskiv, Kh. (2024). Acute and chronic toxicity of an antifungal agent based on 1,2,4-triazole. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(116), 149–154. doi: 10.32718/nvlvet11622

In the course of experimental studies, it was determined that the investigated antifungal agent for local application, with thiophene derivative of 1,2,4-triazole as the active ingredient and pumpkin and lavender oils as the base, is low in toxicity. The DL_{50} of the drug upon single dermal application is higher than 2000 mg/kg (Category 5), and for intragastric administration, it is above 5000 mg/kg (Class IV toxicity, “low-toxicity substances”). It was found that during the acute toxicity studies, “Fungimazole” did not cause any mortality in animals or any clinical signs of intoxication. Observations of the test animals showed that they had a satisfactory appetite, were active and mobile, and their behavioral and reflex responses were preserved. A transient suppression of the central nervous system state was noted in the animals at the highest applied dose of the investigated agent, but it was short-lived and recoverable. With prolonged (28-day) dermal application of the “Fungimazole” liniment at a therapeutic dose, no reactions were noted in the laboratory animals, particularly in the skin. The local and post-resorptive effects of the investigated agent at multiple (5 and 10 times) therapeutic doses were characterized by specific shifts in the homeostasis system of the animals. In the absence of characteristic changes in the hematopoietic system, signs indicating a depressed liver functional state were observed. In laboratory rats, the weight coefficients of the liver, spleen, and heart increased under these conditions. The number of platelets and lymphocytes in the blood also rose. The creatinine level in the blood serum and AsAT, AlAT, AP, and LDH activity were higher than the control values. Further studies showed that just 5–7 days after the last liniment application on the skin, the functional state of the experimental animals fully recovered and was similar to that before the experiment.

Key words: “Fungimazole”, acute toxicity, dermal toxicity, laboratory rats, antifungal agent.

Гостра та хронічна токсичність протигрибкового засобу на основі 1,2,4-тріазолу

С. Стратій¹, В. Гунчак¹, Р. Васів^{1✉}, Н. Коропецька², Х. Леськів¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

У процесі експериментальних досліджень було з'ясовано, що досліджуваній протигрибковій засіб для місцевого застосування, діючою речовиною якого є тіопхідна 1,2,4-тріазолу а основою – олія гарбузова і лавандова, є малотоксичним. DL_{50} препарату за одноразового наскрізного застосування вища за 2000 мг/кг м.т. (5 категорія), а за внутрішньошлункового – за 5000 мг/кг м.т. (IV клас токсичності, “малотоксичні речовини”). Встановлено, що за дослідження гострої токсичності, “Фунгімазол” не викликав ні загибелі тварин, ні жодних клінічних проявів інтоксикації. Спостереження за піддослідними тваринами показали, що вони мали задовільний апетит, були активними, рухливими, поведінкові і рефлексорні реакції збережені. Виявлене в них не тривале в часі пригнічення стану центральної нервової системи, від найбільшої застосованої дози досліджуваного засобу, мало короточасовий і відновлювальний характер. За тривалого (28 днів) наскрізного нанесення лініменту “Фунгімазол” в терапевтичній дозі реакції організму в лабора-

торних тварин, зокрема шкіри не відзначено. Місцева і пострезорбтивна дія досліджуваного засобу в кратних (5 і 10), по відношенню до терапевтичної, дозах характеризувалась певними зрушеннями в системі гомеостазу організму тварин. За відсутності характерних змін у тварин зі сторони кровотворної системи відзначено ознаки, які характеризують пригнічений функціональний стан печінки. У лабораторних щурів, за цих умов, зростали вагові коефіцієнти маси печінки, селезінки і серця. У крові зростала кількість тромбоцитів і лімфоцитів. Вищим за показник контролю був у сироватці крові рівень креатиніну та активність АсАт, АлАТ, ЛФ і ЛДГ. Подальші дослідження показали, що вже через 5–7 діб після останнього нанесення лініменту на шкіру функціональний стан організму тварин, які були в експерименті, повністю відновлювався і був таким, як до початку дослідю.

Ключові слова: “Фунгімазол”, гостра токсичність, нашкірна токсичність, лабораторні щури, протигрибковий засіб.

Вступ

Грибкові ураження шкіри у домашніх тварин є досить поширеною патологією. Терапія дерматофітних інфекцій у собак і котів є непростюю і, зазвичай, включає комбінацію місцевих і системних фунгіцидних засобів (Frymus et al., 2013).

Арсенал засобів протигрибкової дії є досить широким. На сьогодні до найбільш ефективних і вживаних у практиці ветеринарної медицини препаратів відносять гризеофульвін, тербінафін, інтраконазол, флуконазол та інші. Однак, ефективність їх не завжди є достатньою, і як наслідок видовжується період лікування тварин. Причиною низького такого терапевтичного ефекту може бути як недостатнє проникнення ліків у тканини так і вироблена до фунгіцидних засобів резистентність (Puls et al., 2018).

Місцева терапія дерматомікозів має свою історію. Описано використання ряду протигрибкових засобів за місцевого застосування. Так, з цієї метою часто рекомендують застосовувати еніл-коназол, вапняно-сірчані суміші, шампуні з міконазолом, хлоргексидину біглюконат тощо. Однак, вважається, що терапевтичний ефект мазей, паст, лініментів, гелів і кремів знижується через низьку здатність діючих речовин, з цих лікарських форм, проникати через шерсть. Крім того, описано випадки підвищеної чутливості собак і котів до частого нанесення на їх шкіру м'яких лікарських форм (Puls et al., 2018).

В практиці гуманної і ветеринарної медицини новими протигрибковими препаратами широкого спектру дії є засоби триазолового ряду (Deng et al., 2015; Martynyshyn et al., 2017; 2019; Hunchak et al., 2020). Нами, спільно з науковцями Запорізького державного медичного університету обґрунтовано склад, рецептуру та розроблено новий протигрибковий засіб у формі лініменту. Діючою речовиною препарату, під назвою “Фунгімазол”, є тіопохідна 1,2,4-тріазолу, а основою – олія гарбуза і лаванди (20:1).

Доклінічні дослідження є найважливішою й обов'язковою передумовою створення нових ветеринарних лікарських засобів. Це, передусім, стосується здійснення скрупульозної оцінки потенційної небезпеки препарату в умовах випробувань гарантованої якості. Схема з'ясування загальнотоксичної дії досліджуваного засобу, як правило, включає дослідження гострої (підгострої), хронічної токсичності та кумуляції побічних властивостей і віддалених ефектів (Kotsiumbas et al., 2006; Vasylyev et al., 2021; Kushnir et al., 2021; 2022; Karpenko et al., 2022; Lavryshyn et al., 2023; Sachuk et al., 2023).

Важливою передумовою здійснення токсикологічних досліджень є дотримання вимог до тварин, яких підбирають для експериментів, їх утримання і годівля.

Отже, формуючи план доклінічних досліджень нового протигрибкового препарату “Фунгімазол” було поставлено завдання дослідити гостру і хронічну його токсичність, визначити параметри токсичності та максимально толерантні, токсичні і летальні дози.

Мета досліджень

Метою досліджень було встановлення параметрів токсичності лініменту “Фунгімазол” за внутрішньошлункового і нашкірного застосування.

Матеріал і методи досліджень

Завдання досліджень полягало у встановленні токсичності фунгімазолу на лабораторних тваринах за одноразового внутрішньошлункового введення (“Гостра токсичність”); з'ясуванні токсичності досліджуваного лініменту на лабораторних тваринах при одноразовому нашкірному застосуванні (“Гостра нашкірна токсичність: процедура фіксованої дози”, “Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure” OECD №402 (9 October 2017)) (OECD, 2017); дослідженні токсичності препарату “Фунгімазол” за довготривалого нашкірного застосування (“Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study”, OECD №410) (OECD, 1981).

Дослідження проводили у відповідності з методичними рекомендаціями, а саме: “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин”, і “Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів” (Kosenko et al., 1997).

Дослідження з вивчення гострої та хронічної токсичності новоствореного протигрибкового лініменту проводили на лабораторних тваринах (білі щури) в умовах віварію ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок (Львів) та лабораторії кафедри фармакології і токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.

Експерименти на тваринах відповідали правилам і вимогам, передбаченим Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовується в експериментах і для інших наукових цілей (ENS №123, Страсбург, 1986) (Yevropeiska konventsiia..., 1986).

Вивчення гострої токсичності препарату “Фунгімазол” за внутрішньошлункового введення проводили на білих щурах, віком 3–4 місяці, масою тіла 220–240 г. Препарат вводили одноразово внутрішньошлунково. Досліджуваний засіб “Фунгімазол” застосовували в діапазоні доз 500, 1000, 3000 та 5000 мг/кг маси тіла. На кожну дозу препарату було використано по шість лабораторних тварин. При цьому, препарат у дозі 5000 мг/кг маси тіла було введено

повторно на подвійній кількості тварин. Спостереження за лабораторними тваринами вели впродовж 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, серцевий ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання (Kotsiumbas et al., 2006).

Дослідження з визначення гострої нашкодженості лініменту “Фунгімазол” проводили відповідно до вимог OECD №402 (Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure). Для дослідів використовували здорових, молодих тварин з непошкодженою шкірою, масою тіла 220–240 г. За день до нанесення досліджуваного засобу проводили видалення шерсті з дорзальної поверхні тіла. Лінімент на підготовлену поверхню шкіри (площа 10% від загальної поверхні тіла) наносили рівномірно, тонким шаром. Досліджуваний засіб тримали в контакті зі шкірою упродовж 24 годин за допомогою простої марлевої пов’язки та не подразливої стрічки.

Дослідження нашкодженості проводили у два етапи. На першому – при визначенні діапазону доз фунгімазол наносили у дозах 200, 1000 та 2000 мг/кг маси тіла, використовуючи при цьому одну тварину на дозу.

На другому етапі досліджень, з урахуванням вже отриманих результатів досліджень, проводили основний дослід, в якому досліджуваний засіб застосовували двом тваринам у дозі 2000 мг/кг маси тіла. Після нанесення препарату “Фунгімазол” спостереження за лабораторними тваринами вели впродовж 14 діб. При цьому звертали увагу на такі показники: зовнішній вигляд і поведінку тварин, стан їх шкіри і видимих слизових оболонок, відношення до корму, серцевий ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Вивчення нашкодженості препарату “Фунгімазол” за тривалого застосування проводили згідно з OECD №410 (Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study). Для дослідів використовували молодих, здорових тварин з непошкодженою шкірою, масою тіла 220–240 г. За день до нанесення досліджуваного препарату виголювали шерсть з дорзальної поверхні

тіла (10 % від загальної площі поверхні). Подібну процедуру проводили щотижнево. Досліджуваний препарат наносили рівномірно, наскільки це можливо, на підготовлену поверхню шкіри. Лінімент тримали в контакті зі шкірою 6 годин за допомогою пористої марлевої пов’язки та фіксуючої стрічки. Фунгімазол наносили на шкіру щоденно впродовж 28 діб. Після закінчення періоду експозиції залишки досліджуваного препарату акуратно видаляли, використовуючи дистильовану воду або відповідний розчинник.

Для експериментального дослідження за принципом аналогів було сформовано чотири групи тварин, по п’ять шурів у кожній. Тваринам контрольної групи на попередньо підготовлену ділянку шкіри наносили воду, тваринам I дослідної групи (D₁) – препарат “Фунгімазол” в дозі 0,6 мл/кг маси тіла; II дослідної групи (D₂) – 3 мл/кг маси тіла і III дослідної групи (D₃) – 6 мл/кг маси тіла.

На наступний день після закінчення введення досліджуваного препарату або на 29-у добу дослідів лабораторних тварин за легкого хлороформного наркозу декапітували, відбирали зразки проб внутрішніх органів, шкіри і крові. Проводили гематологічні, біохімічні і морфологічні дослідження. З’ясовано макроскопічну оцінку та визначено вагові коефіцієнти внутрішніх органів тварин контрольної і дослідних груп.

Для гематологічних досліджень використовували кров стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. Вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокритну величину, число лейкоцитів, МСН, МСV, МСНС досліджували з використанням гематологічного аналізатора Mythic-18. У сироватці крові визначали загальний протеїн (рефрактометр РФ-22), активність ферментів (АлАТ, АсАТ, ЛФ, ЛДГ) та вміст креатиніну і сечовини з’ясовували загально визначеними методами з допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 і стандартних наборів фірми Human.

Результати та їх обговорення

При вивченні гострої токсичності препарату “Фунгімазол”, за внутрішньошлункового введення, отримали дані, що наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати гострого дослідів за внутрішньошлункового введення препарату “Фунгімазол”

Кількість тварин у групі	Доза препарату мг/кг	Число загиблих		
		всього	у %	Середній час загибелі
6	500	0	0	0
6	1000	0	0	0
6	3000	0	0	0
6	5000	0	0	0
12	5000	0	0	0

У процесі експериментальних досліджень було встановлено, що одноразове внутрішньошлункове введення досліджуваного препарату “Фунгімазол”, навіть у найвищій досліджуваній дозі (5000 мг/кг м.т.), не спричиняло загибелі тварин. При цьому відзначено, що характерних клінічних ознак розвитку

патологічного стану у шурів, на тлі дії препарату, теж не було. У процесі спостереження за піддослідними тваринами було з’ясовано, що будь-які розлади з боку центральної нервової системи (судоми, парези, паралічі), системи харчотравлення та виділення відсутні. Поведінкові реакції і рефлекторна активність у тварин

збережена. Шкіра, шкірний (волосяний) покрив як і слизові оболонки мали природний колір і блиск. Місцева подразнювальна реакція на дію досліджуваного засобу не мала характерного прояву. При цьому було відзначено, що на тлі незначного і нетривалого в часі пригнічення, яке виникало після застосування препарату “Фунгімазол” в дозі 5000 мг/кг м.т., у тварин був збережений апетит, адекватна реакція на зовнішні подразники, відповідна рухова активність тощо. Отже, з урахуванням визначеної дози DL₅₀, яка є більшою за 5000 мг/кг м.т. досліджуваний засіб належить до IV класу токсичності, або малотоксичні речовини.

За дослідження гострої нашкодливості фунгімазолу було встановлено, що, як в початковій дозі (200 мг/кг м.т.), так і 10 разів більшої за неї (2000 мг/кг м.т.), досліджуваний засіб за 24-годинної експозиції викликав лише незначне почервоніння шкіри в місці нанесення препарату та слабе пригнічення стану центральною нервовою системою у лабораторних щурів, яке досить швидко зникало. Отже, з урахуванням того, що DL₅₀ за нашкодливої одноразової нанесення препарату “Фунгімазол”, є вищою за 2000 мг/кг м.т. досліджуваний засіб за класифікацією УГС належить до 5 категорії (клас 5).

Таблиця 2

Вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів (M ± m, n = 5)

Внутрішні органи	Групи тварин			
	контроль	1 група	2 група	3 група
Печінка	28,4 ± 0,46	28,3 ± 0,46	30,2 ± 0,64	29,4 ± 0,37
Селезінка	2,47 ± 0,22	2,32 ± 0,23	2,95 ± 0,79	2,57 ± 0,57
Серце	3,25 ± 0,19	3,36 ± 0,096	3,49 ± 0,08	3,73 ± 0,13
Легені	6,21 ± 0,25	8,13 ± 1,13	7,16 ± 0,48	6,26 ± 0,36
Нирки	8,99 ± 0,22	8,32 ± 0,29	8,87 ± 0,11	8,82 ± 0,12
Маса тіла, г	242,0 ± 16,4	244,0 ± 9,67	228,0 ± 6,82	232,0 ± 6,82

Примітка: * – P < 0,05, ** – P < 0,01

За результатами дослідження встановлено, що маса тіла тварин дослідних груп, особливо Д₂ і Д₃ дещо зменшилась (на 5,8 і 4,2 %). У лабораторних щурів першої дослідної групи відзначено тенденцію до незначного зниження вагових коефіцієнтів маси селезінки (на 6,1 %) і маси нирок (на 7,45 %).

У тварин 2-ої дослідної групи спостерігали зростання вагових коефіцієнтів маси печінки (на 6,3 %), селезінки (на 19,4 %) та серця (на 7,4 %), на тлі зниження вагового коефіцієнту маси нирок.

У тварин 3-ої дослідної групи, які отримували зовнішньо препарат в найвищій концентрації, теж тенденційно зростав ваговий коефіцієнт маси печінки (на 3,5 %), селезінки (на 4 %) і серця (на 14,8 %). Маса нирок у тварин груп Д₂ і Д₃ суттєвих змін не зазнавала.

Формоутворюючою основою в досліджуваному лініменті була олія гарбуза і лаванди, які забезпечували не лише агрегатний стан м'якої лікарської форми, але й очевидно, визначали її пострезорбтивну активність.

Загальновідомо, що кров, будучи особливо мобільною системою, швидко реагує на будь-які зміни в гомеостазі тварин. На таблиці 3 подано результати гематологічних досліджень у тварин за тривалого нашкодливої застосування лініменту “Фунгімазол” в

Оцінювали місцеву і, можливо, пострезорбтивну дію досліджуваного лініменту, з прогнозованою протигрибковою дією та встановили, що 28-ми добова щоденна його аплікація на шкіру не викликала загибелі тварин та клінічного прояву інтоксикації. Лабораторні щури увесь період досліду мали апетит, були активними і рухливими. Функціональний стан центральної нервової системи тварин дослідних груп нічим не відрізнявся від подібного в групі контролю. Відхилень зі сторони системи харчотравлення і виділення нами не відзначено (калові маси за характером і частотою дефекації та сеча – за кольором, кількістю і позовами до діурезу були однаковими у тварин дослідних і контрольної груп). Шкіра у тварин, на тлі дії препарату, була блискучою, нехарактерної її реакції на повторне нанесення лініменту не відзначено. Гіперемії, як і розчісування місця аплікації теж не було.

В кінці досліду, нами було проведено зважування тварин контрольної і дослідних груп, оскільки зміна їх маси тіла в період експерименту може відображати характер пошкоджень окремих органів та зміну певних функцій в організмі. Крім того, визначали вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів, як відсоткове співвідношення їх маси до маси тіла (табл. 2).

різних концентраціях. Встановлено, що динаміка змін гематологічних показників крові тварин 1-ої дослідної групи була мінімальною.

Кількість еритроцитів, лейкоцитів, вміст гемоглобіну у їх крові були близькими до аналогічних у тварин контрольної групи. Відзначено лише невірогідне зменшення в структурі клітин білої крові відсотка лімфоцитів і моноцитів (на 10 % і 5,4 %, відповідно).

У щурів групи Д₂ тенденційно зменшувалась, порівняно з контролем, кількість еритроцитів (на 10,4 %), вміст гемоглобіну (на 9,8 %), і число лейкоцитів (на 11,2 %), на тлі зростання на 11,7 % тромбоцитів. Стосовно тварин 3-ої дослідної групи, то в них за впливу найвищої досліджуваної концентрації препарату, як і в щурів 2-ої групи, але більш виражено, змінювалась кількість еритроцитів (зменшилась на 14,1 %), лейкоцитів (на 35,5%) і на 9,8 % меншим був вміст гемоглобіну. При цьому було визначено, що на тлі суттєвого зменшення в крові тварин цієї групи лейкоцитів відсоток лімфоцитів мав тенденцію до зростання.

Результати біохімічних досліджень сироватки крові тварин контрольної і дослідних груп в лабораторних щурів наведені в таблиці 4.

Таблиця 3

Морфологічні показники крові білих щурів за 28-ми добового нанесення на шкіру фунгімазолу ($M \pm m, n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	1 група	2 група	3 група
Гемоглобін, г/л	167,0 ± 3,42	169,2 ± 6,04	152,8 ± 6,23	150,6 ± 13,1
Еритроцити, $10^{12}/л$	7,97 ± 0,21	8,02 ± 0,26	7,14 ± 0,28*	6,85 ± 0,59
Лейкоцити, $10^9/л$	14,3 ± 2,48	13,8 ± 2,14	12,7 ± 1,62	9,22 ± 1,95
Гематокрит, %	42,2 ± 0,83	42,7 ± 1,25	38,7 ± 1,49	37,2 ± 3,29
МСНС, г/дл	53,04 ± 0,63	53,3 ± 1,03	54,0 ± 0,59	54,2 ± 0,35
МСН, пг	20,9 ± 0,25	21,1 ± 0,51	21,3 ± 0,26	21,98 ± 0,21*
МСV, мкм ³	39,6 ± 0,14	39,6 ± 0,29	39,5 ± 0,15	40,5 ± 0,19**
Тромбоцити, $10^9/л$	356,8 ± 38,4	398,2 ± 116,4	398,6 ± 52,4	378,4 ± 58,4
Лімфоцити, %	47,9 ± 4,82	43,1 ± 3,51	61,98 ± 3,70*	51,6 ± 4,63
Моноцити, %	5,84 ± 0,73	4,94 ± 0,66	6,38 ± 0,55	5,40 ± 0,39
Гранулоцити, %	46,3 ± 5,39	51,9 ± 3,34	31,6 ± 3,47	42,9 ± 4,63

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$

Таблиця 4

Біохімічні показники сироватки крові білих щурів на 29-у добу досліді ($M \pm m, n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	1 група	2 група	3 група
Загальний протеїн, г/л	65,9 ± 1,15	68,9 ± 2,003	62,4 ± 1,75	61,4 ± 1,77
Альбумін, г/л	29,1 ± 1,06	30,5 ± 1,10	31,1 ± 2,19	31,3 ± 1,35
Глобуліни, г/л	36,8 ± 1,84	38,4 ± 1,50	31,3 ± 1,88	30,1 ± 2,02
Сечовина, ммоль/л	6,88 ± 0,08	7,22 ± 0,2	7,20 ± 0,08	7,24 ± 0,09
Креатинін, мкмоль/л	44,3 ± 1,95	48,2 ± 1,98	50,1 ± 2,64	59,9 ± 2,68**
АсАТ, Од/л	54,3 ± 3,01	59,4 ± 3,71	71,4 ± 3,37**	83,2 ± 3,71***
АлАТ, Од/л	158,6 ± 6,93	175,5 ± 6,05	172,8 ± 10,5	216,7 ± 13,7**
ЛФ, Од/л	276,2 ± 9,21	297,4 ± 12,1	338,8 ± 22,3*	359,3 ± 30,7*
ЛДГ, Од/л	1751,8 ± 148,4	2337,4 ± 187,2*	2536,2 ± 153,9**	2560,4 ± 163,3**
Альбумін, г/л	29,1 ± 1,06	30,5 ± 1,10	31,1 ± 2,19	31,3 ± 1,35

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$

З'ясовано, що довготривале нашкірне застосування лініменту “Фунгімазол” у терапевтичній дозі не мало суттєвого впливу на функціональний стан печінки щурів. Так, за оцінкою біохімічних показників сироватки крові у тварин цієї дослідної групи відзначено зростання вмісту загального протеїну (на 4,5 %), рівня креатиніну (на 8,8 %) та активності АсАТ (на 9,4 %), АлАТ (на 10,7 %), ЛФ (на 7,7 %), і ЛДГ (на 33,4 %) ($P < 0,05$).

У крові тварин 2-ої та 3-ої дослідних груп характерним було зростання рівня креатиніну (на 13,1 та 35,2 %, $P < 0,01$) та підвищувалась активність ЛДГ (на 44,8 % та 46,2 %, ($P < 0,05$) відповідно).

За визначення активності ензимів сироватки крові у щурів 2-ої і 3-ої дослідних груп відзначено вірогідне зростання АсАТ на 30,5 % ($P < 0,01$) та 53,2 % ($P < 0,001$), АлАТ – на 8,95 % та 36,6 % ($P < 0,01$) та ЛФ – на 12,3 % та 30,1 % ($P < 0,05$) відповідно.

Отже, аналізуючи отримані дані, слід зазначити, що довготривале нашкірне застосування препарату, виготовленого на основі тіопохідної 1,2,4-триазолу та олії гарбуза і лаванди, у досліджуваних терапевтичних дозах не проявляло місцевої реакції організму. За оцінки пострезорбтивної дії досліджуваного засобу відзначено окремі, як правило, незначні відхилення у показниках, які характеризують гомеостаз тварин дослідних груп.

За відсутності характерних змін у тварин дослідних груп з боку кровотворної системи наявність окремих зрушень з боку печінки, особливо за 10-ти

кратної терапевтичної дози, є, очевидно, результатом адаптаційно-приспосувальної реакції організму. Відзначене пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки на 6,8 %, у тварин цієї групи, є результатом зменшення в крові протеїнів глобулінової фракції.

Реакція організму лабораторних щурів на тривале нашкірне, і у значних концентраціях, нанесення лініменту “Фунгімазол” характеризувалась і іншими показниками. Зокрема показовим було вірогідне зростання активності досліджуваних ензимів.

Подальші наші дослідження показали, що вже через кілька днів, після останнього нанесення лініменту на шкіру, функціональний стан організму щурів дослідних груп повністю відновлювався і був таким, як до початку досліді.

Висновки

1. DL₅₀ препарату “Фунгімазол” за одноразового внутрішньошлункового введення є більшою за 5000 мг/кг м.т., що визначає його як малотоксичний засіб (IV клас токсичності).

2. DL₅₀ за одноразового нашкірного нанесення препарату “Фунгімазол” є вищою за 2000 мг/кг м.т. За класифікацією УГС досліджуваний засіб належить до 5 категорії (клас 5).

3. Довготривале нашкірне застосування препарату “Фунгімазол” у 10-ти кратній, від терапевтичної, дозі спричиняє зміну функціонального стану печінки

(вірогідно зростає активність АсАТ, АЛАТ, ЛФ, ЛДГ та збільшується в крові концентрація креатиніну).

Перспектива подальших досліджень. Обґрунтування оптимальної дози, кратності нанесення препарату на шкіру і тривалості курсу лікування за клінічних випробувань.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Deng, S., Zhang, C., Seyedmousavi, S., Zhu, S., Tan, X., Wen, Y., Huang, X., Lei, W., Zhou, Z., Fang, W., Shen, S., Deng, D., Pan, W., & Liao, W. (2015). Comparison of the in vitro activities of newer triazoles and established antifungal agents against *Trichophyton rubrum*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(7), 4312–4314. DOI: 10.1128/AAC.00244-15.
- Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Pennisi, M. G., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., & Horzinek, M. C. (2013). Dermatophytosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of feline medicine and surgery*, 15(7), 598–604. DOI: 10.1177/1098612X13489222.
- Hunchak, Y., Gutjy, B., Sachuk, R., & Stravsky, Y. (2020). Study of the parameters of acute toxicity of the drug “Devimectin 1 %” with a single subcutaneous injection in white rats. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 28–31. DOI: 10.32718/nvlvet10005.
- Karpenko, Y., Hunchak, Y., Gutjy, B., Hunchak, A., Parchenko, M., & Parchenko, V. (2022). Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate. *Science Rise: Pharmaceutical Science*, 2(36), 18–25. DOI: 10.15587/2519-4852.2022.255848.
- Kosenko, M. V., Malyk O. H., Kotsiumbas I. Ya., Patereha I. P., & Chura D. O. (1997). Toksykologichnyi kontrol novykh zasobiv zakhystu tvaryn: Metodychni rekomendatsii. Kyiv (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. E., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kushnir, V. I., Kushnir, I. M., Patereha, I. P., Kutsan, O. T., Zhovnir, O. M., & Gutjy, B. V. (2022). Comparative assessment of various methods of studying the skin toxicity of a wound-healing drug. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 5(2), 3–7. DOI: 10.32718/ujvas5-2.01.
- Kushnir, V., Patereha, I., Kushnir, I., Gutjy, B., Martynyk, S., Chudyak, M., Yurynets, T., Smuk, V., & Kishko, A. (2021). Determination of acute and sub-acute toxicity of the drug “Tilovet 20 %”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(101), 15–20. DOI: 10.32718/nvlvet10103.
- Lavryshyn, Y., Gutjy, B., Verveha, B., Kutsan, O., Hunchak, V., Khariv, I., Kushnir, V., Vasiv, R., Leskiv, K., & Guta, Z. (2023). Definition of Acute Toxicity and Cumulative Properties of the Drug “Lipointersil”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 83–89. DOI: 10.32718/nvlvet11214.
- Martynyshyn, V. P., Hunchak, V. M., Yaroshenko, A. I., Parchenko, V. V., Panasenko, O. I., Shcherbyna, R. O., Hunchak, A. V. (2019). Chromographic research of liniment, which active substance belongs to new derivatives of 1,2,4-triazole. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.*, 10(1), 806–811. DOI: 10.13140/RG.2.2.35871.61609.
- Martynyshyn, V., Gunchak, V., Gutjy, B., & Hlukh, O. (2017). To the method of preparation of the liniment on the basis of thiopropyl triazole and his assessment of physical properties and performance on individual microorganisms and fungi. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 36–40. DOI: 10.15421/nvlvet8208.
- OECD (1981). Test № 410 “Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study”. URL: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070745-en.pdf?expires=1733758886&id=id&accname=guest&checksum=A9A04A3E594969363F08231EA4C6C8F1>.
- OECD (2017). Test № 402 “Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure”. URL: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070585-en.pdf?expires=1733758783&id=id&accname=guest&checksum=D0AEB3D95D9CA2282B838B3E4A36A198>.
- Puls, C., Johnson, A., Young, K., Hare, J., Rosenkrans, K., Young, L., & Moriello, K. (2018). Efficacy of itraconazole oral solution using an alternating-week pulse therapy regimen for treatment of cats with experimental *Microsporum canis* infection. *Journal of feline medicine and surgery*, 20(10), 869–874. DOI: 10.1177/1098612X17735967.
- Sachuk, R., Gutjy, B., Stravskyy, Y., Katsaraba, O., Dyshkant, O., & Kalynovska, L. (2023). Research on the specific toxicity of the drug “BTF plus” – a means for normalizing metabolic processes in animals and poultry. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(111), 33–42. DOI: 10.32718/nvlvet11106.
- Vasylyev, D., Priimenko, B., Aleksandrova, K., Mykhalchenko, Y., Gutjy, B., Mazur, I., Magrelo, N., Sus, H., Dashkovskyy, O., Vus, U., & Kamratska, O. (2021). Investigation of the acute toxicity of new xan-thine xenobiotics with noticeable antioxidant activity. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 315–318. DOI: 10.15421/2021_47.
- Yevropeiska konventsia pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuietsia dlia doslidnykh ta inshykh tsilei. Strasburh, 18 bereznia 1986r. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text (in Ukrainian).