

На правах рукописи



КОШУТИН СТАНИСЛАВ ВАЛЕРЬЕВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПРЕПАРАТА ФЕНИЛГИДРАЗИНА ГИДРОХЛОРИД**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**



Санкт-Петербург - 2009

Работа выполнена на кафедре фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины».

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор **Андреева Надежда Лукояновна**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор

Щербаков Григорий Гаврилович

доктор ветеринарных наук, профессор

Уразаев Дмитрий Николаевич

Ведущая организация – ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «11» декабря 2009 года в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5. тел. 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «11» ноября 2009 года и размещён на сайте <http://spbgavm.ru> «11» ноября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,



Л.М. Белова

1. Общая характеристика работы

Актуальность темы. Сахарный диабет определяют как группу заболеваний, характеризующихся гипергликемией, вызванной дефицитом синтеза, секреции инсулина или нарушением его рецепции (Гой-Толлот И., Даминет С., 2001). Одним из важнейших принципов лечения сахарного диабета у животных является восстановление и поддержание нормального уровня гликемии (Fleeman L.M. et al., 2004).

На сегодняшний день введение инсулина – основной способ лечения больных диабетом животных (Fleeman L.M., Rand J.S., 2000; Карпенко Л.Ю., Солонкова Н.П., 2006), нередко ведущий к снижению синтеза собственного инсулина поджелудочной железой. Кроме того, ветеринарные врачи всего мира постоянно сталкиваются с осложнениями при инсулиновой терапии, такими как выработка антител на инъецируемый инсулин, рецидивность клинических признаков и т.д. Нельзя, также, забывать, что действию инсулина могут препятствовать такие сопутствующие расстройства как панкреатиты, спонтанный гипердренкортицизм и т.д. (Нельсон Р. У., 2002). Длительное применение препаратов группы инсулина может вызвать резистентность к ним, для преодоления которой необходимо применение комбинированной терапии, включающей использование новейших препаратов. Поэтому разработка новых сахароснижающих средств при данной патологии остается одной из наиболее важных задач современной науки.

Уже с 1887 г, благодаря выдающемуся немецкому ученому Э. Фишеру, известна способность замещенного гидразина вступать в реакцию с моносахарами с образованием плохо растворимых в воде озазонов. Уникальным соединением гидразина является фенилгидразина гидрохлорид. Изучение возможности применения данного соединения в качестве сахароснижающего средства, в том числе при экстренной терапии у животных, является актуальной задачей для ветеринарной фармакологии.

Вышеизложенное и послужило основанием для проведения наших исследований.

Цели и задачи исследований. Основная цель исследований заключалась в изучении фармако-токсикологических свойств препарата фенилгидразина гидрохлорид.

В связи с этим необходимо было решить следующие задачи:

1. Выяснить безвредность (токсичность) препарата.
2. Определить эффективность фенилгидразина гидрохлорида при лечении сахарного диабета.
3. Провести клинические исследования и разработать рекомендации по применению фенилгидразина гидрохлорида в качестве гипогликемического средства в ветеринарии.

Научная новизна. Впервые для ветеринарии предложен гипогликемический препарат фенилгидразина гидрохлорид, определена его токсичность и эффективность в сравнительном аспекте с другими гипогликемическими средствами.

На основании исследований установлена гипогликемическая активность фенилгидразина гидрохлорида. Изучена возможность коррекции уровня гликемии у кошек.

Подана заявка на патент РФ «Фенилгидразина гидрохлорид для лечения сахарного диабета у кошек».

Практическая значимость. Разработаны рекомендации по применению фенилгидразина гидрохлорида в качестве гипогликемического средства в ветеринарии (Одобрены и рекомендованы Координационным советом по животноводству и ветеринарии Северо-Западного научно-методического центра Россельхозакадемии (протокол № 2 от 13.10.2009 г.)).

Отработаны схемы и дозы применения фенилгидразина гидрохлорида при сахарном диабете у кошек. Предложена рациональная лекарственная форма препарата для перорального применения.

Данные о гипогликемическом действии фенилгидразина гидрохлорида могут быть использованы в учебном процессе.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 18 и 19 международной, межвузовской конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2006, 2007), на второй всероссийской научно-практической конференции «Ветеринарная медицина – теория, практика и обучение» (Санкт-Петербург, 2007), на первом международном конгрессе ветеринарных фармакологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства» (Санкт-Петербург, 2008), на семинаре RSAVA «Ветеринарная медицина домашних животных» (Казань, 2008), на международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГОУ ВПО «СПбГАВМ» (Санкт-Петербург, 2009), на 63-й научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2009), а также на первом международном съезде ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2009), на Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства РФ по направлению «Ветеринария», диссертационная работа была признана одной из лучших, автор был награжден дипломом и почетной грамотой (Москва, 2009), на Всероссийской выставке научно-технического творчества молодежи автору были вручены свидетельство, диплом и медаль (удостоверение № 77) «За успехи в научно-техническом творчестве» (Москва, протокол № 13 от 25 июня 2009 г.).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Данные по изучению нового фармакологического препарата фенилгидразина гидрохлорид и возможности его использования в ветеринарной практике.
2. Токсикологическое исследование фенилгидразина гидрохлорида и его влияние на организм животных.
3. Эффективность использования препарата фенилгидразина гидрохлорид для предупреждения гипергликемии при сахарном диабете.
4. Актуальность использования фенилгидразина гидрохлорида в ветеринарии.

Публикации материалов исследований. По теме диссертации опубликовано девять научных работ, одна из них в рецензируемом журнале ВАК Минобразования и науки РФ.

Внедрение. Материалы диссертации включены в лекционный курс и лабораторно-практические занятия на кафедре фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины», в учебный процесс кафедры анатомии, фармакологии с токсикологией ФГОУ ВПО «Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии», а также в учебный процесс кафедры фармакологии и общей патологии Института ветеринарной медицины новосибирского государственного аграрного университета.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 25 таблицами, 8 фото и 2 рисунками. Список литературы включает 203 источника, в том числе 109 зарубежных авторов.

2. Собственные исследования

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2006 по 2009 год на кафедре фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». Клинические испытания проводили в ветеринарных клиниках «Элвет» и ООО «Диалог» г. Санкт-Петербурга. Опыты были поставлены на 140 белых мышах, 249 белых крысах и 21 кошке различных пород.

При разработке препарата фенилгидразина гидрохлорид использовали соединение фенилгидразина гидрохлорид ($C_6H_5NHNH_2 \cdot HCl$), представляющий из себя белый порошок. Содержание основного вещества - >99,9%.

В работе были использованы фармакологические, гематологические, биохимические, токсикологические и другие методы исследования. Фармакологи-

ческие и возможные токсикологические свойства фенилгидразина гидрохлорида изучали на лабораторных животных в сравнении с препаратом группы инсулина короткого действия новорапид и в сравнении с коммерческим негормональным пероральным сахароснижающим препаратом манинил, относящимся к производным сульфонилмочевины.

Острую токсичность препарата изучали по методу Кербера в два этапа – предварительный и окончательный. На предварительном этапе определяли дозы препарата, вызывающие токсический эффект. Дозы фенилгидразина гидрохлорида для заключительных опытов были подобраны так, чтобы низшая из них не вызывала гибели животных, а высшая вызывала 100% смертность и между ними несколько доз, вызывающих гибель больше или меньше 50%.

Изучение раздражающего действия испытуемого препарата проводили на белых крысах в течение 14 дней. Фенилгидразина гидрохлорид в форме водного раствора в разведениях 1:100; 1:200; 1:300; 1:400 ежедневно наносили на кожу. На 15 день опыта проводили заключительное нанесение, определяли pH и проницаемость капилляров методом Мак-Клюра и Олдрича на месте аппликации, а также брали биопсии, которые далее фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение семи суток. После фиксации участки кожи промывали проточной водой в течение 4-х часов, а затем обрабатывали в спиртах восходящей крепости. Далее заливали в парафин с точкой плавления 52-54 °С, с добавлением к нему 5% пчелиного воска. Кусочки кожи из второй порции абсолютного спирта переносили на 2 часа в смесь равных количеств ксилола и абсолютного спирта до их просветления, а затем помещали в кашицу из парафина в ксилоле (в термостате при температуре 37 °С) на 3 часа. После этого кусочки кожи переносили в чистый расплавленный парафин при 60 °С и заливали в фарфоровые тигли. Залитые блоки монтировали на деревянных кубиках и резали на микротоме. Полученные срезы устанавливали на предметных стеклах и окрашивали гематоксилин-эозином по Ван Гизон. Результаты сравнивали с эталоном, в качестве эталона использовали 0,9%-ный раствор натрия хлорида.

Сенсибилизирующее действие фенилгидразина гидрохлорида изучали после определения раздражающего действия путем его нанесения на новый симметрично расположенный участок левой боковой поверхности туловища животного в идентичных разведениях в течение 11 дней. На 11 день проводили заключительное нанесение, определяли pH на месте аппликации и проницаемость капилляров методом Мак-Клора и Олдрича, а также брали биопсии, которые фиксировали и окрашивали так же как и при исследовании раздражающего действия. Результаты сравнивали с эталоном, в качестве эталона использовали 0,9%-ный раствор натрия хлорида.

Подострую токсичность изучали на белых крысах. Животным в течение 10 дней перорально вводили фенилгидразина гидрохлорид в форме желатиновых капсул, наблюдая за состоянием здоровья, поведенческими реакциями, потреблением корма и воды. Общая продолжительность наблюдения составила две недели. На 15-й день проводили аутопсию подопытных животных и учитывали патологоанатомическую картину.

С целью определения хронической токсичности препарат был испытан в течение 90 дней на мышах и крысах. Фенилгидразина гидрохлорид вводили внутрь в форме желатиновых капсул, один раз в день, в дозах: первая группа – 0,07, вторая группа - 0,08, третья группа – 0,09 г/кг живой массы. Животным контрольной группы вводили желатиновые капсулы, не содержащие препарата. По истечении указанного срока производили убой животных, некроскопию, учитывая характер макро- и микроскопических изменений в органах и тканях, а также взвешивание внутренних органов в сравнении с контрольными.

Обработку материала для гистологического исследования проводили общепринятыми методами – фиксировали в 10%-ном растворе формалина, заливали в парафин и окрашивали гематоксилин-эозином.

Дополнительно проводили взвешивания животных, исследование крови по периодам на клинические (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, лейкограмма) и биохимические (активность аланиндегидрогеназы (АЛТ),

активность аспаратдегидрогеназы (АСТ), концентрация креатинина, активность щелочной фосфатазы, концентрация мочевины) показатели крови.

Оценка гипогликемического действия фенилгидразина гидрохлорида *in vivo* проводилась в сравнении с коммерческим препаратом манинил (N-[4-[2-(5-хлор-2-метоксибензамидо)-этил]-фенилсульфонил]-N³-циклогексилмочевина) и инсулином короткого действия новорапид.

Опыт проводился на белых крысах самцах линии «Wistar». Было сформировано 3-и подопытные и 1 контрольная группы, по 10 голов в каждой. Всем животным ввели аллоксан 1-водный однократно подкожно в дозе 150 мг/кг. Утром натощак на третьи сутки после введения аллоксана определяли уровень сахара в крови животных и доводили его до уровня $17,13 \pm 0,08$ ммоль/л путем внутривенного введения 40% раствора глюкозы. Расчет необходимого для введения объема глюкозы проводился с учетом общего количества крови, равного $7,47 \pm 0,15$ % живой массы крысы. Через 2 мин после введения раствора глюкозы определяли уровень сахара в крови животных. Крысам 1-ой подопытной группы внутрь однократно вводили фенилгидразина гидрохлорид в форме желатиновых капсул в дозе 0,09 г/кг. Экспериментальным животным 2-ой подопытной группы подкожно в область передней брюшной стенки вводили новорапид, в дозе 1 ЕД/кг, а животным 3-ей подопытной группы перорально вводили манинил, в дозе 0,0002 г/кг. Все выбранные дозировки соответствуют максимальным рекомендуемым среднесуточным дозам данных препаратов. Животным контрольной группы вводили желатиновые капсулы, не содержавшие препарата. В течение 100 мин после введения препаратов проводили определения уровня сахара в крови с 5 минутным интервалом с помощью прибора One Touch Ultra.

Гипогликемическое действие фенилгидразина гидрохлорида *in vitro* изучали в крови, взятой у здоровых лабораторных крыс. В сыворотку, полученную из проб крови, вносили глюкозу в форме порошка и исследуемый препарат в форме раствора. Контролем являлась сыворотка с внесенным в нее изотоническим раствором натрия хлорида, в объеме аналогичном объему, вносимого в

опытные пробы, раствора изучаемого препарата. Определение сахара в пробах проводили одновременно, непосредственно после внесения компонентов, энзиматическим колориметрическим методом.

Клинические исследования фенилгидразина гидрохлорида проводили на кошках, возраст которых был от 4-х до 9-и лет, различных пород, с диагнозом сахарный диабет. Диагноз ставили на основании клинических признаков с обязательным лабораторным подтверждением в соответствии с критериями Мировой Организации Здравоохранения (1999). Животные находились в равных условиях кормления и содержания. Кратность кормления составляла 2 раза в сутки. Животные были разделены на подопытную и контрольную группы. Подопытная группа состояла из 15 животных, контрольная – из 6. Подопытным животным назначали фенилгидразина гидрохлорид из расчета 0,09 г/кг, перорально, 2 раза в сутки, за 15-20 мин до кормления, 3 дня подряд после определения сахара в крови с помощью прибора One Touch Ultra. Препарат вводили в форме желатиновых капсул. Контрольным животным вводили желатиновые капсулы, не содержавшие препарата. О наступлении терапевтического эффекта у больных животных судили по результатам определения сахара в крови через 2 часа 15 мин после введения препарата в подопытной группе в сравнении с контрольной. Об изменении физиологического состояния больных судили по следующим признакам: общее состояние, температура тела, диурез и др. Производили гематологическое исследование до начала лечения и после на 4-й день, в подопытной и контрольной группах. Учитывали динамику лейкограммы. Гематологические исследования проводили по методам, общепринятым в клинической диагностике.

3. Результаты исследований

3.1 Разработка нового гипогликемического средства

Диагноз «диабет» вызывает постоянную необходимость в контроле уровня гликемии. Поэтому несомненной задачей современной ветеринарии является совершенствование средств и методов коррекции гликемии.

Так, на кафедре фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины» разработан новый гипогликемический препарат фенилгидразина гидрохлорид. Целью разработки препарата было получение эффективного негормонального средства для применения при экстренной помощи животным, больным сахарным диабетом.

Механизм действия фенилгидразина гидрохлорида связан со способностью замещенного гидразина вступать в реакцию озонирования с моносахарами крови с образованием озазонов.

3.2 Токсикологическая характеристика препарата

Изучение безвредности всякого нового лекарственного препарата начинают с определения острой токсичности. Установлено, что максимально переносимая доза фенилгидразина гидрохлорида при пероральном пути введения составляет: для белых мышей $0,191 \pm 0,01$ г/кг, для крыс - $0,265 \pm 0,008$ г/кг (рис.).



Рис. ЛД₅₀ фенилгидразина гидрохлорида для белых крыс и белых мышей при пероральном введении

Согласно данным, представленным Физер Л. и Физер М. (1971) ЛД₅₀ для белых мышей при пероральном введении соединения фенилгидразина гидрохлорид составляет 0,175 г/кг. Имеющиеся разногласия можно объяснить разной чувствительностью животных к препарату. Тем не менее, наши результаты не противоречат друг другу.

При изучении местнораздражающих свойств фенилгидразина гидрохлорида на крысах установлено, что данный препарат обладает местнораздражающим действием при нанесении в водном разведении 1:100. Сенсибилизирующего действия у фенилгидразина гидрохлорида не обнаружено.

При изучении подострой токсичности фенилгидразина гидрохлорида на белых крысах выяснили, что пероральное применение препарата в течение 10 дней в дозе 0,09 г/кг не оказывает отрицательного влияния на общее состояние здоровья животных. В результате некроскопии у подопытных животных не установлено видимых патоморфологических изменений внутренних органов.

При изучении хронической токсичности фенилгидразина гидрохлорида уже на 60-е сутки у подопытных животных было отмечено увеличение массовых коэффициентов печени и селезенки.

Кроме того в ходе эксперимента выявлено влияние фенилгидразина гидрохлорида на гематологические показатели крови. На 60-е и 90-е сутки у подопытных мышей отмечено снижение количества эритроцитов в крови по отношению к контрольной группе в среднем на $3,26 \times 10^{12}/л$. Также отмечалась гемоглобинопения до $93,5 \pm 12,17$ ($p < 0,01$), $89,17 \pm 8,56$ ($p < 0,05$) и $87,0 \pm 12,0$ ($p > 0,05$) г/л уже на 60-е сутки. Отмечено снижение количества лейкоцитов в крови мышей, получавших фенилгидразина гидрохлорид в дозе 0,09 г/кг до $6,65 \pm 0,44 \times 10^9/л$ ($p < 0,05$) к 90-м суткам. Число лейкоцитов в крови мышей, получавших фенилгидразина гидрохлорид в дозе 0,08 г/кг, также снизилось по отношению к числу лейкоцитов, зарегистрированному до опыта.

Введение минимальной из выбранных дозировки (0,07 г/кг) уже на 30-е сутки спровоцировало повышение уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крыс до $145,7 \pm 38,92$ ($p < 0,02$).

По окончании сроков эксперимента производили аутопсию животных с изучением патологоанатомической картины.

Результаты патологоанатомического вскрытия, а также гистоморфологического исследования внутренних органов свидетельствуют об отсутствии токсического действия фенилгидразина гидрохлорида на структуру внутренних органов при его кратном применении.

Все вышесказанное позволяет отнести фенилгидразина гидрохлорид к соединениям, безвредным для животных, при применении однократно или в течение непродолжительного курса лечения.

3.3 Фармакологическая активность фенилгидразина гидрохлорида

Целесообразность передачи нового препарата в практику, а также возможные области его клинического применения могут быть полностью выяснены только в результате оценки разных сторон его фармакологической активности (Беленький М.Л. , 1963). Поэтому важнейшим этапом настоящей работы было изучение специальных свойств препарата фенилгидразина гидрохлорид в сравнении с уже известными препаратами. При анализе эффективности применения фенилгидразина гидрохлорида в отношении гипогликемического действия установили, что в дозе 0,09 г/кг препарат снижает уровень сахара в крови животных на 4,49 ммоль/л, что соответствует 10,42 мг глюкозы при учете массы животного, равной $172,5 \pm 7,5$ г, тогда как достоверной разницы между уровнем гликемии у животных контрольной группы и у животных, которым вводили препарат манинил не обнаружено. Подкожное введение новорапида, в рекомендуемой дозе 1 ЕД/кг, вызывало снижение гликемии до $8,32 \pm 0,55$ к 70-ой мин опыта. Таким образом, инъекирование новорапида вызывало снижение уровня сахара на 5,1 ммоль/л ($p < 0,01$), что соответствует 11,83 мг глюкозы при учете массы животного, равной $172,5 \pm 7,5$ г. Соответственно, эффективность фенилгидразина гидрохлорида существенно не уступает эффективности новорапида.

При изучении сахароснижающих свойств фенилгидразина гидрохлорида

и манинила в модельном эксперименте в крови, полученной от крыс, установлено, что в 0,5 мл сыворотки фенилгидразина гидрохлорид, в количестве 0,2 мг понижает уровень глюкозы на 1,88 ммоль/л, что соответствует 0,17 мг глюкозы. Внесение к аналогичному объему сыворотки 0,4 мг фенилгидразина гидрохлорида, с учетом разведения сыворотки, понижает уровень сахара на 4,41 ммоль/л, что соответствует 0,39 мг глюкозы. Таким образом в экспериментальных условиях фенилгидразина гидрохлорид снижает уровень глюкозы в крови соотношении 1 : 1. После внесения манинила достоверного снижения уровня глюкозы не отмечено.

Таким образом, в ходе эксперимента установлено, что фенилгидразина гидрохлорид обладает сахароснижающей активностью *in vitro*.

3.4 Клинические исследования препарата

Клинические исследования показали эффективность применения фенилгидразина гидрохлорида. Это проявлялось в снижении уровня сахара в крови животных, которым вводили фенилгидразина гидрохлорид в сравнении с контрольными животными, не получавшими препаратов, влияющих на уровень гликемии, а также по сравнению с показателями постпрандиального сахара, зарегистрированного до проведения исследований. Так, в группе подопытных животных снижение постпрандиального сахара по отношению к зарегистрированным до проведения исследований показателям, на протяжении опыта наблюдалось в среднем на $3,8 \pm 1,18$ ммоль/л ($p < 0,05$).

В контрольной группе не отмечалось достоверного изменения уровня постпрандиальной гликемии по сравнению с результатами, полученными до испытаний.

При анализе полученных гематологических показателей отмечено снижение количества гемоглобина и эритроцитов по отношению к показателям, полученным до начала лечения, но не ниже показателей физиологической нормы. Отклонений в лейкограмме не наблюдалось.

Таким образом, применение фенилгидразина гидрохлорида существенно не повлияло на картину крови подопытных животных.

С учетом данных DCCT (1996) целью терапии сахарного диабета должно быть достижение как можно более близкого к физиологически нормальным показателям гликемического статуса. Bastyr и коллеги (Bastyr E.J. et al., 2000) показали, что целевое влияние на показатели постпрандиальной гликемии в противоположность влиянию на уровень гликемии натощак ассоциируется с меньшей частотой развития гипогликемических состояний. Так, применение фенилгидразина гидрохлорида позволяет снизить уровень постпрандиальной гликемии к нормальным показателям гликемического статуса.

Часто вследствие имеющейся инсулинорезистентности приходится использовать большие дозы инсулина, что увеличивает риск возникновения гипогликемий (Klein R., 1996). Использование же фенилгидразина гидрохлорида позволит значительно снизить необходимость в инъекировании препаратов группы инсулина и поможет уменьшить риск возникновения толерантности к вводимым препаратам. Кроме того, применение предложенной пероральной формы фенилгидразина гидрохлорида может быть востребованным для лечения при гипергликемических состояниях в условиях, когда использование инъекционных средств затруднено.

3.5 Расчет стоимости фенилгидразина гидрохлорида

В условиях рыночной экономики ветеринарные специалисты вынуждены учитывать финансовые возможности владельцев животных. В этой связи мы подсчитали стоимость исследуемого препарата и сравнили ее с другими гипогликемическими препаратами.

Чтобы рассчитать стоимость 100 г фенилгидразина гидрохлорида мы учитывали стоимость действующего вещества – фенилгидразина гидрохлорида, имеющегося в оптовой и розничной продаже от производителя по России, содержащего не менее 99,9 % основного вещества, а также стоимость капсулирования.

Средняя стоимость 100 г фенилгидразина гидрохлорида 1604 рубля. Средняя стоимость капсулирования препарата в твердые желатиновые капсулы, массой 50 мг по России составляет 14 коп за шт. Таким образом, стоимость капсулирования 100 г препарата составляет 280 рублей. Отсюда следует, что 100 г препарата стоит 1884 рубля, что существенно дешевле других гипогликемических препаратов (таблица).

Таблица

Сравнительная стоимость некоторых гипогликемических препаратов

Препараты:	Стоимость 100 мг препарата, руб.	Стоимость 100 г препарата, руб.
манинил	16,16	16166,66
глюренорм	21,61	21611,11
фенилгидразина гидрохлорид	1,88	1884,00

Из таблицы 2 видно, что фенилгидразина гидрохлорид по сравнению с манинилом и глюренормом имеет значительно более низкую, доступную цену, что в условиях рыночной экономики немаловажно.

Выводы

1. Фенилгидразина гидрохлорид проявляет высокую гипогликемическую активность при пероральном применении белым крысам с экспериментальной моделью сахарного диабета. Назначение его в дозе 0,09 г/кг снижало уровень сахара в крови животных на 4,49 ммоль/л, что соответствует 10,42 мг глюкозы при учете массы животного, равной $172,5 \pm 7,5$ г.
2. ЛД₅₀ фенилгидразина гидрохлорида для белых мышей и белых крыс при пероральном введении составляет соответственно 191 мг/кг и 265 мг/кг.
3. Препарат не обладает сенсibiliзирующими свойствами и в водных разведениях более 1 : 100 не оказывает местнораздражающего действия
4. Применение фенилгидразина гидрохлорида в дозе 0,09 г/кг в течение 10 дней не оказывает токсического действия на организм животного, назначение в течение 3 месяцев снижает количество гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов в крови и повышает уровень щелочной фосфатазы.
5. Подкожное введение препарата новорапид в рекомендуемой дозе 1 ЕД/кг, вызывало снижение уровня сахара на 5,1 ммоль/л, что соответствует 11,83 мг глюкозы. Т.е. по эффективности фенилгидразина гидрохлорид существенно не уступает новорапиду. Действие фенилгидразина гидрохлорида проявлялось на 10 минут раньше чем у новорапида. Достоверного снижения уровня гликемии у животных, которым вводили манинил не обнаружено.
6. При сравнении действия препаратов фенилгидразина гидрохлорид и манинил в модельном эксперименте (in vitro) в крови, полученной от лабораторных животных установлено, что фенилгидразина гидрохлорид снижал уровень глюкозы крови в соотношении 1 : 1. При этом манинил не проявлял гипогликемического действия.
7. Применение фенилгидразина гидрохлорида в дозе 0,09 г/кг при терапии кошек больных сахарным диабетом способствует снижению постпрандиального сахара в среднем на $3,8 \pm 1,18$ ммоль/л ($p < 0,05$).

Рекомендации производству

1. Для коррекции гликемии при сахарном диабете у кошек предложен новый эффективный негормональный препарат фенилгидразина гидрохлорид, обладающий гипогликемическим действием.
2. Разработаны рекомендации по применению фенилгидразина гидрохлорида в качестве гипогликемического средства в ветеринарии (Одобрены и рекомендованы Координационным советом по животноводству и ветеринарии Северо-Западного научно-методического центра Россельхозакадемии (протокол № 2 от 13.10.2009 г.)).
3. Полученные результаты можно использовать в учебном процессе при чтении лекций, проведении лабораторно-практических занятий и научных исследований профильных ВУЗов и факультетов, а также при написании монографий и учебных пособий по ветеринарии.

Список опубликованных работ

1. Кошутин С.В. Определение действия препарата фенилгидразина гидрохлорид на уровень сахара в сыворотке крови // *Международный вестник ветеринарии.* – 2009. - № 3. – С. 39 – 41.
2. Кошутин С.В. Новые возможности фармакокоррекции уровня сахара в крови / С.В. Кошутин, Н.Л. Андреева // *Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки.* – СПб., 2006. – вып. 17. – С. 21 – 22.
3. Кошутин С.В. Изучение действия препарата П1 на снижение количества глюкозы в водном растворе / С.В. Кошутин, Н.Л. Андреева // *Новые фармакологические средства в ветеринарии: Мат. XIX междунар. науч.-практич. конф.* – СПб., 2007 – С. 30 – 31.
4. Кошутин С.В. Определение сахароснижающей способности препарата П2 // *«Ветеринарная медицина домашних животных»* – Казань, 2008. – Выпуск 5. – С. 102 – 104.
5. Кошутин С.В. Возможность применения П2 для коррекции углеводного обмена // *Материалы международной научной конференции профессорско-*

преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. – СПб., 2009. – С. 56 – 58.

6. Кошутин С.В. Определение LD_{50} препарата «Фенилгидразина гидрохлорид» для лабораторных животных // Материалы 63-й научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ. – СПб., 2009. – С. 36 – 38.

7. Кошутин С.В. Изучение местнораздражающего действия препарата «Фенилгидразина гидрохлорид» // Материалы 63-й научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ. – СПб., 2009. – С. 38 – 39.

8. Кошутин С.В. Определение сенсibiliзирующего действия препарата фенилгидразина гидрохлорид / Кошутин С.В., Андреева Н.Л. // Материалы первого международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». – СПб., 2009. – С. 38 – 39.

9. Кошутин С.В. Изучение динамики массовых коэффициентов внутренних органов при кратном введении фенилгидразина гидрохлорида // Материалы первого международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». – СПб., 2009. – С. 39.