



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34981 (13) C2

(51) 7 A61K31/015, A61K31/10, A61P31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) АНТИСЕПТИЧНИЙ ЗАСІБ "БІМАСТИН"

1

(21) 99074303  
(22) 27 07 1999  
(24) 16 06 2003  
(46) 16 06 2003, Бюл. №6, 2003р  
(72) Головкин Анатолій Миколайович, Кузьмін Анатолій Альбертович, Малінін Олег Олександрович, Вечтомов Валерій Якович, Макеєв Вячеслав Федорович  
(73) Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини  
(56) RU C1 2108112 10 04 1998  
US A 5443385 22 08 1995

2

(57) Антисептичний засіб, що включає водний розчин метилцелюлози, диметилсульфоксид та воду дистильовану, який відрізняється тим, що він додатково містить стандартний 20% розчин хлоргексидину біглюконату, при наступному співвідношенні компонентів, мас %

Водний розчин метилцелюлози	- 0,25 - 1,5
Диметилсульфоксид	- 2,0 - 6,0
20% розчин хлоргексидину біглюконату	- 0,5 - 2,0
Вода дистильована при pH = 5,0	- решта

Найбільш поширеними у тварин є серозні, катаральні та змішані форми маститів

В результаті дослідження запального ексудату від хворих на мастити корів були виділені бактерії слідоючих родів ешерихій, стрептококів, стафілококів, микоплазм та герсиній, але найчастіше діагностували присутність родів стрептококів та стафілококів

Існує лікувальний засіб "мастисан", який застосовують для терапії різноманітних форм маститів /А.И.Ивашур "Система мероприятий по борьбе с маститами коров" - Москва - Росагропромиздат, - 1991 / "Мастисан" - масляниста суспензія білого або жовтуватого кольору, склад бензилпеницилін, стрептомицин, норсульфазол або сульфадимезин, олія або вазелінове масло, емульгатори

Недоліком мастисана є те, що для його використання необхідно багато лікувальних процедур, що затримує одужання тварин

Для лікування тварин, хворих на мастити, застосовують антибіотики еритромицин, тетрациклін, стрептомицин, амінокс то інші /Машковский М.Д. Лекарственные средства, 1972, т. 2 /

Існує антисептичний комплекс, в який входить водний розчин метилцелюлози, диметилсульфоксид та вода дистильована або фізрозчин /Методическое руководство по борьбе с маститами коров в хозяйствах Ростовской области, изд. Дон СХИ, 1971, С. 13-14/ Цей антисептичний комплекс може бути прототипом

Визначення чутливості виділених культур мікроорганізмів показало, що з 20 протимікробних

препаратів вони виявилися стійкими до них у 30-50% випадків. Недоліком багатьох антибіотиків є низька протимікробна дія, особливо тих, які тривалий час застосовувалися для терапії корів, хворих на мастити. Відомі засоби мають недостатньо високу антисептичну активність

В основу винаходу, що передбачається, поставлено завдання підвищення антисептичної активності протимаститних препаратів

Поставлена задача вирішується таким чином до антисептичного комплексу, в який входить водний розчин метилцелюлози, диметилсульфоксид та вода дистильована, додають стандартний 20% розчин хлоргексидину біглюконату, для підвищення антисептичної активності

Антисептичний засіб "Бімастин", що заявляється, має виражену антисептичну активність завдяки додаванню розчину хлоргексидину біглюконату

Антисептичний засіб "Бімастин" включає водний розчин метилцелюлози, диметилсульфоксид та воду дистильовану, стандартний 20% розчин хлоргексидину біглюконату, при наступному співвідношенні компонентів, мас %

Водний розчин метилцелюлози	- 0,25 - 1,5
Диметилсульфоксид	- 2,0 - 6,0
20% розчин хлоргексидину біглюконату	- 0,5 - 2,0
Вода дистильована при pH = 5,0	- решта

Порівняльний аналіз з прототипом дозволяє зробити висновок про те, що антисептичний засіб "Бімастин" відрізняється від існуючого "антисептичного комплексу" антисептичною активністю з

(13) C2

(11) 34981

(19) UA

більш вираженим ефектом завдяки додаванню розчину хлоргексидину біглюконату, що відповідає критерію "новизна"

"Бімастин" уявляє собою прозору рідину, що виготовляють на 1% розчині метилцелюлози. До цієї рідини додають диметилсульфоксид, потім додають стандартний розчин хлоргексидину біглюконату. Його виготовляють таким чином: 1мл 2% розчину хлоргексидину біглюконату вносять в колбу місткістю 100мл, доводять до м'якої дистильованою водою рН = 5,6 - 6,5 і змішують. Концентрація хлоргексидину біглюконату складає 20мкг/мл.

Приготування робочого розчину препарату "Бімастин"

0,2мл препарату "Бімастин" вносять в колбу місткістю 100мл. Доводять до м'якої підкисленою дистильованою водою і змішують. Вимірюють оптичну щільність стандартного розчину хлоргексидину біглюконату відносно води на спектрофотометрі при довжині хвилі 256nm у кюветі з товщиною шару 10мм.

Паралельно, в тих же умовах, проводять визначення оптичної щільності робочого розчину препарату "Бімастин".

Вміст хлоргексидину біглюконату в препараті "Бімастин" у відсотках  $X$  обчислюють по формулі  $X = D_1 \cdot D_0$ ,

$D_1$  – оптична щільність розчину препарату "Бімастин".

$D_0$  – оптична щільність стандартного розчину хлоргексидину біглюконату.

Для визначення ефективності "Бімастину" було виготовлено три серії препарату з вмістом 0,5, 1,0% та 2,0% хлоргексидину біглюконату, які в дозах 10-15мл вводили інтрацистерально двічі на добу коровам, хворим на мастити.

Приклад 1. П'ять дійних корів дослідного господарства "Фрунзе" хворих на серозні та серозно-катаральні мастити лікували бімастином, який містив 0,5% хлоргексидину. Препарат вводили інтрацистерально по 10-15мл двічі на день після попереднього ретельного відвоювання молока або запального ексудату з уражених чвертей вимені. Коров лікували на протязі 5 діб, здійснено 10 введення препарату. В результаті виявлено, що одужання від маститу не наступило ні в одній тварині.

Приклад 2. У тому ж господарстві 9 корів, хворих на катаральні та серозно-катаральні мастити, лікували бімастином, який містив 1% хлоргексидину біглюконату. Лікування проводили за аналогічною схемою прикладу 1. Одужання наступило у 8 корів /90%/ за 3,6 доби при 6,8 введення препарату у середньому на виліковану тварину.

Приклад 3. Сім дійних корів хворих на серозні та серозно-катаральні мастити лікували бімастином з вмістом 2% хлоргексидину біглюконату. Препарат вводили у цистерну ураженої чверті вимені по 10-15мл також двічі на добу після здоявання тварин. Внаслідок лікування одужало 6 корів /86%/ за 5 днів, на протязі яких зроблено 10 введення препарату. Оптимальна концентрація хлоргексидину біглюконату 0,65-2,0%.

Приклад 4. Бімастин в дозах 10 і 15мл вводили у цистерну однієї чверті вимені трьом здоровим лактуючим коровам. За тваринами вели спостере-

ження на протязі двох днів з використанням загальновідомих методів клінічного обстеження. Молочну залозу досліджували, звертаючи увагу на симетричність чвертей, колір шкіри, розмір і стан лимфовузлів, залозу пальпували для визначення хворобливості, наявності ущільнень та місцевої температури.

В результаті було встановлено, що після введення "Бімастину" здоровим тваринам навіть у максимальних дозах на протязі двох днів спостереження у корів були відсутні ознаки пперемі, набряку і хворобливості молочної залози. Показники загального стану тварин /температура, пульс, дихання, апетит/ залишалися без змін. Надої молока не зменшувалися, органолептичні властивості його не погіршувалися.

На підставі проведених досліджень був зроблений висновок, що бімастин нешкідливий при введенні його здоровим і хворим на мастити коровам.

З метою обґрунтування кратності застосування та визначення оптимальних доз препарату була вивчена фармакодинаміка виведення бімастину з молоком.

Період очікування /каренції/ після застосування препарату бімастин визначався по основній діючій речовині – хлоргексидину біглюконату, яка має протимікробну та фунгіцидну дію.

Для проведення цього дослідження брали по 2мл молока, додавали до нього 2мл ацетону, ретельно змішували скляною паличкою і центрифугували при 1500 обертах на хвилину на протязі 10 хвилин. По 0,01-0,1м надосадової рідини /в залежності від концентрації хлоргексидину біглюконату/ вміщували на платівку "силуфол УФ254". Поруч на платівку вміщували розчини з відомою кількістю хлоргексидину біглюконату.

Платівки розміщували у хроматографічній камері, заповненій сумішшю рухомих розчинників: етилацетат – 50% розчин оцтової кислоти /3:1/. Після підйому фронту рухомих розчинників на висоту 6-8см від лінії старту, платівку виймали з камери, висушували на повітрі і опромінювали ультраріфолетовим світлом в приладі "Хроматоскоп". Хлоргексидин виявлявся у вигляді темних плям на зеленому фоні платівки. Кількісне визначення хлоргексидину в молоці здійснювали шляхом порівняння площі і інтенсивності плям хлоргексидину в пробі і стандартних кількостях свідка.

Результати визначення концентрації хлоргексидину в пробах молока наведені в таблиці 1.

З наведених даних видно, що через 24 години після останнього введення у всіх піддослідних тварин концентрація хлоргексидину в молоці була нижче межі визначення /0,2мкг/мл/. Таким чином, в іху людини молоко придатне через 24 години після введення препарату.

Для підтримування рівня, який забезпечує антибактеріальну та протизапальну дію в ураженій долі вимені, препарат слід вводити 2-3 рази на добу. На підтвердження цього проведемо вивчення чутливості мікрофлори до хлоргексидину у різних концентраціях.

Чутливість виділених від хворих на мастити тварин культур стафілококів, стрептококів, ешеріхій, ієрсиній до хлоргексидину була вивчена в умо-

вах *in vitro* Препарат гальмував розмноження стафілококів та ієрсиній у концентрації 12,5мкг/мл, ешерихій - 100мкг/мл і стрептококів - 6,25мкг/мл /дивись таблицю 2/

Проведені дослідження свідчать про те, що хлоргексидін має хороші бактерицидні властивості і найменшого концентрацією, при якій препарат починає діяти концентрація 6,25мкг/мл

Терапевтична ефективність бімастина у корів, хворих на мастити. Досліди проведені в першому півріччі 1999 року в трьох господарствах ксп "Вільшанське" і дослідних господарствах Інституту тваринництва УААН "Українка" і "Фрунзе" з використанням корів чорно-рябої породи

Початок захворювання і форму течії маститів визначали по загальному стану тварини, відповідним морфологічним та клінічним змінам молочної залози в цілому і окремих її чвертей, змінам якості молока та характеру запального секретар також бактеріологічними дослідженнями молока та секрету з уражених чвертей молочної залози. Взагалі у тварин діагностували мастити серозного, катарального та серозно-катарального характеру

Всього лікуванню піддано 85 хворих на мастити корів, у тому числі 55 - бімастином /дослідні/ і 30 - мастисаном /контрольні/

Про одужання тварин судили по зникненню клінічних ознак захворювання, відновленню органолептичних показників молока та добового надоя а також по негативним результатам реакції з мастидіном та проби відстоювання

Результати терапевтичної ефективності бімастина наведені у таблиці 3

Одержані результати свідчать про те, що у 54 /98,1%/ корів дослідної групи одужання наступило в середньому через 3,1 дня при кількості лікувальних процедур в середньому 6,1. В контрольній групі одужало лише 25 /83,4%/ корів, для чого знадобилося в середньому 4,7 дня при середній кількості лікувальних процедур, яка дорівнює 9,2. Таким чином терапевтична ефективність бімастина в порівнянні з мастисаном вища на 14,7%, курс лікування менш тривалий на 1,6 доби, а необхідна для одужання кількість лікувальних процедур менша на 3,1

На підставі одержаних результатів можна зробити висновок, що бімастин не має кумулятивних властивостей, нешкідливий для організму, швидко виводиться з молоком, має хороші терапевтичні властивості і тому може бути рекомендований для застосування у ветеринарній практиці як антисептичний засіб

Таблиця 1

Динаміка виведення хлоргексидину з молоком

Час після введення, годин	Концентрація хлоргексидину в молоці, мкг/мл				Стандартна помилка
	Корова № 2660	Корова № 2302	Корова № 1752	Середнє значення	
4	60	80	100	80	11,5
6	40	40	60	46,6	6,6
8	20	10	50	26,6	12,0
10	10	20	25	19,4	3,3
12	10	20	25	18,3	4,4
24	Нмв	Нмв	Нмв		

Примітка Нмв - концентрація препарату нижче межі визначення

Таблиця 2

Чутливість мікроорганізмів, які виділені з молока хворих на мастити корів, до хлоргексидину

Культури	Мінімальна подавляюча концентрація хлоргексидину, мкг/мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	25
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6,25
<i>Escherichia coli</i> K99	100
<i>Yersinia enterocolitica</i>	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5

Таблиця 3

Порівняльна терапевтична ефективність препаратів при маститах у корів

Найменування господарств	Кількість корів в групах	Подовженість курсу лікування, в середньому, днів	Кількість лікувальних процедур, у середньому	Одужало корів, кількість і відсоток
Бімастин /дослідні/				
Ксп "Вільшанське"	17	3,0	6,0	17 /100%/
Досл. госп-во "Українка"	16	3,3	6,2	16 /100%/
Досл. госп-во "Фрунзе"	22	3,1	6,2	21 /95,4%/
Всього	55	3,1	6,1	54 /98,1%/

		Мастисан /контрольні/		
Ксп "Вільшанське"	15	4,6	9,2	13 /86,6%/
Досл. госп-во "Українка"	8	5,0	9,7	6 /75%/
Досл. госп-во "Фрунзе"	7	4,4	8,8	6 /85,7%/
Всього:	30	4,7	9,2	25 /83,4%/