КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОВЕДЕНИЯ КОШЕК И СОБАК

Область техники

Настоящее изобретение относится к области фармацевтики и предназначается для использования в ветеринарии при решении часто встречающихся поведенческих проблем, связанных с состоянием стресса у кошек и собак. Предложено эффективное успокоительное (противотревожное, антистрессовое) средство для коррекции поведения МДЖ, проявляющих чувство страха (тревоги) в отношении транспортировки, громких звуков, посещения новых мест, разлуки с хозяином и других распространенных бытовых ситуаций. Действующим началом нового лекарственного препарата является янтарно-кислый тразодон (сукцинат тразодона), который при той же эффективности успокоительного действия, которую проявляют тразодон или его гидрохлорид, традиционно используемые в медицине, устраняет или, по меньшей мере, значительно снижает выраженность побочных эффектов, характерных для тразодон-содержащих медицинских препаратов.

По оценкам специалистов до 90% собак, живущих в домашних условиях, могут иметь те или иные аномалии поведения, среди которых есть обусловленные породой и/или психотипом и проявляемые постоянно, и временные, связанные с той или иной стрессовой ситуацией. Постоянные поведенческие отклонения обычно включают агрессивность к своим собратьям и людям, избыточную вокализацию и подвижность, оскаливание и т.д.; ситуативные, как правило, представляют собой различные фобии или тревожные состояния, связанные с громкими звуками (гроза, фейерверки), разлукой с хозяином, транспортировкой, посещением ветклиники. Последние свойственны и для значительной части домашних кошек. Очевидно, что неадекватное поведение собак и кошек доставляет значительные неудобства их хозяевам и ставит

владельцев животных перед необходимостью найти надежные способы и средства, которые позволяли бы достаточно быстро справляться с ситуацией и корректировать поведение питомцев. Одним из таких способов является психологическая подготовка животных с помощью специальных тренировок, которая, однако, требует много времени и при этом помогает далеко не во всех случаях. В связи с этим, остается актуальной задача разработки ветеринарных препаратов для МДЖ с успокоительным (антистрессовым) эффектом.

Предшествующий уровень техники

Информация о ветеринарных препаратах с анксиолитическим или психотропным действием, специально предназначенных для коррекции аномального поведения МДЖ в стрессовых ситуациях, крайне ограничена, как и само число такого рода средств.

Одной из групп успокоительных препаратов для МДЖ являются средства, основанные на использовании феромонов, примерами которых являются спреи «Адаптил» - модулятор поведения для собак, выпускаемый французской фирмой CEVA SANTE ANIMALE, и аналогичный ему препарат «Феливей» (CEVA) – корректор поведения для кошек *(http://www.vetlek.ru/shop/?gid=32151&id=8789)*.

Общим недостатком препаратов этого типа являются короткий срок их действия, узкий спектр влияния, где стрессовые ситуации фактически ограничиваются помещением или перемещением животного в непривычное или некомфортное для него место, а также выраженная аллергенность и высокая стоимость.

Вторая, наиболее многочисленная группа успокоительных препаратов для кошек и собак, это многокомпонентные составы, которые содержат различные комбинации известных лекарственных

растений. Типичными представителями этой группы успокоительных средств являются такие препараты, как успокаивающие капли «Фитекс» (ООО «Группа ЭКСПА» режим доступа *http://www.fauna-vesh.ru/catalog.php?id=242*), препарат «Кот Баюн» (ООО «Веда», режим доступа *https://veterinarka.ru/vetmedicaments/kot-bayun*) и Relaxivet - линейка препаратов (ЭкоПром, режим доступа *https://www.ecoprm.org/catalog/476).*

Основным недостатком средств этой группы является недостаточно высокая эффективность, необходимость курсового использования и отсутствие быстродействия, необходимого для нормализации поведения животного в короткие сроки.

И, наконец, третья группа средств, применяемых для этих целей в ветеринарии МДЖ, - это относительно новые препараты, включающие в качестве ДВ соединения, известные из медицины (психиатрии) как обладающие анксиолитическим и/или антидепрессивным эффектом, в частности фенибут (патент РФ № 2367428 С1, 20.09.2009) и гвайфенезин (патент РФ № 2683936, 03.04.2019). Первое из названных средств представляет собой сложный комбинированный препарат мягкого действия, включающий 6 основных активных ингредиентов и предназначенный для курсового применения, начинающегося за несколько дней до предполагаемого стресса и продолжающегося в течение нескольких дней после его завершения, а недостатком второго является плохо воспринимаемый животными (кошками) вкус ГФ и возникающие в связи с этим сложности применения и сопутствующие побочные эффекты.

Сравнительно недавно в число транквилизаторов, рассматриваемых некоторыми зарубежными исследователями в качестве возможных кандидатов на применение с целью коррекции

поведения собак и кошек при стрессе, вошел используемый в психиатрии (атипичный) антидепрессант - тразодон.

Тразодон (ТР) синтезирован в середине 60-х гг. в Италии и был (на основе итальянской заявки 2780665 15.12.1965, IT) защищен патентами США (US 3,381,009 30.04.1968) и ряда европейских стран (Великобритания-GB 117068, 12.06.68; Бельгии-BE 743313, 28.05.70 и др.) в составе группы 1,2,4-триазоло [4,3-a] пиридинов, обладающих транквилизирующим, анальгезирующим и гипотензивным действием.

В последующее 20-летие активно изучалась фармакология и фармакокинетика ТР, исследовались его свойства как антидепрессанта и анксиолитика (Bryant SG., Clin Pharm. 1982 Sep-Oct;1(5):406-17; Byrne JE., 1982,259(2):259-70; Fabre LF., J Clin Psychiatry. 1990 Sep;51 Suppl:23-6; Rickels K., Arch Gen Psychiatry. 1993 Nov;50(11):884-95 и др.).

Сегодня известно, что после приема внутрь ТР быстро адсорбируется из ЖКТ; время достижения максимальной концентрации в плазме составляет 1-2 ч. Вещество легко проникает через гистогематические барьеры, включая ГЭБ, быстро поступает в ткани и биологические жидкости (желчь, слюна, грудное молоко), где его связывание с белками плазмы составляет 89-95%. ТР активно метаболизируется в печени путем гидроксилирования и окисления с участием изоферментов цитохрома р450 (CYP3A4, CYP3A5 и CYP3A7).

Выведение ТР из организма (примерно 20% выводится в неизмененном виде с желчью, а 75% выделяется из организма с помощью почек) носит двухфазный характер (Bryant S., Clin Pharm. 1982, 1(5):406-17), где, по разным данным, T1/2 для первой фазы соответствует 1 - 5 часам, для второй 5 - 12 часам, а полностью вещество выводится за 98 часов.

Что касается фармацевтических свойств ТР, то основным действием, оказываемым данным веществом на организм человека, по оценке специалистов является антидепрессивное. Кроме того, установлено, что ТР демонстрирует тимолептический, анксиолитический, седативный и миорелаксирующий эффект. Механизм действия ТР основан на взаимодействии с серотониновыми рецепторами мозга, главным образом, с подтипами А и С 5-НТ2, в отношении которых он является антагонистом, и избирательном подавлении процесса обратного захвата серотонина синапотосомами нейронов головного мозга (Marek G.J., et. Al., 1992, Psychopharmacology, 109, 2-11).

В настоящее время ТР во многих странах зарегистрирован в качестве лекарственного средства и получил достаточно широкое распространение в медицинской практике, главным образом, в психиатрии. Показаниями для его применения в медицине являются психические (аффективная напряженность, раздражительность, страх) и соматические (сердцебиение, головная боль, миалгия, учащенное мочеиспускание, усиленное потоотделение) проявления тревожности; депрессия; различные фобии; бессонница. В медицине тразодон используют в виде перорального средства, представленного в таблетированной форме. Примерами применяемых препаратов на основе тразодона являются: Триттико (Азиенде Кимике Риуните Анжелини Франческо (А.К.Р.А.Ф. С.п.А) – таблетки гидрохлорида ТР; Desyrel (Pragma Pharms Llc.) - таблетки гидрохлорида ТР; Oleptro (Angelini Pharma) – таблетки гидрохлорида ТР с замедленным высвобождением. Из них на территории РФ доступен таблетированный препарат Триттико, включенный в Государственный реестр разрешенных к применению лекарственных средств.

Обращает на себя внимание то, что во многих научно-исследовательских работах сообщается о возможности применения ТР

как в свободном виде, так и в форме фармацевтически приемлемой соли, однако во всех известных сегодня коммерческих препаратах медицинского назначения он применяется исключительно в виде соли соляной кислоты – гидрохлорида тразодона, и все экспериментальные данные, полученные в научных и клинических исследованиях, относятся только к этой конкретной соли, поэтому свойства и особенности других солей ТР фактически не исследованы.

Из применения в медицинской практике хорошо известны побочные эффекты тразодона, представленного в виде гидрохлорида, которые включают рвоту, диарею, сонливость (выраженный снотворный эффект), нарушение координации движений, вялость, слабость, вплоть до обморочного состояния. В качестве основного недостатка чаще всего указывается избыточно выраженное седативное действие (Fabre LF . 1990, J Clin Psychiatry.;51 Suppl:23-6). В связи с этим, многие современные научные разработки ставят задачей устранение указанных неблагоприятных воздействий ТР на организм.

Так, RU 2 126801 C1, (27.02.1999) предоставляет правовую охрану фармкомпозиции с активностью тразодона и уменьшенными побочными эффектами, включающей активный агент и носитель, где активным агентом является алкил (в частности метил-)-производное тразодона или его фармацевтически приемлемая соль; RU 2 128180 C1 (27.03.1999) раскрывает (S)- или (R)-энантиомер алкил-замещенного по одному положению тразодона или его фармацевтически приемлемой соли, которые обладают фармакологическими показателями тразодона, но имеют пониженное сродство к адренергическим рецепторам и устраняют связанные с этим побочные действия; в EA 017019 B1 (28.09.2012) предлагается способ очистки тразодона и получаемая на основе очищенного вещества фармацевтическая композиция, включающая тразодон или его

гидрохлорид, содержащие не более 15 частей алкилирующих веществ на миллион, ответственных за ряд побочных эффектов.

На сегодняшний день специальных лекарственных средств на основе тразодона, предназначенных для применения животным, на мировом ветеринарном рынке не существует. Однако в некоторых зарубежных странах специалистами активно исследуются возможности использования существующих тразодон-содержащих медицинских препаратов для коррекции аномального поведения кошек и собак, в частности при различных тревожных расстройствах, включающих страх транспортировки, разлуки с хозяином, громких звуков, посещения ветклиники и/или госпитализации, ограничения подвижности, например, в послеоперационный период, а также в случаях проявления агрессии (Gruen ME., 2008, J Am Vet Med Assoc., 233(12):1902-7; Gruen ME, 2014, J Am Vet Med Assoc., 245(3): 296–301; Gilbert-Gregory SE, J Am Vet Med Assoc., 249 (11):1281-1291; Stevens B., 2016, J Am Vet Med Assoc., 249(2):202-7; Bunna Chea and Mario Georgi., 2017, Am.J.Anim.Vet. Sci., 12(4), 188-194; US 5,554,383, 10.09.1996).

На основании этих исследований практикующие ветврачи ряда стран рекомендуют владельцам кошек и собак в различных стрессовых ситуациях использовать тразодон непосредственно в виде известных сегодня медицинских препаратов (режим доступа: *http://www.dvm360.com*: John Ciribassi, 01.05.2015; Jennifer L. Garcia; 16. 02.2017; Kathryn Primm 27.06.2016; Karen L. Overall, 01.08.2014 и др.). В свете этого не является неожиданностью тот факт, что присущие известным коммерческим препаратам многочисленные побочные эффекты , и прежде всего, глубокий сон, вялость, заторможенность, нарушение координации движений, наблюдаемые в течение нескольких часов после применения тразодон-содержащего препарата, отмечаются и при попытках использования этих препаратов для кошек и собак.

Очевидно, что в условиях ситуативного применения их домашним питомцам многочасовой глубокий сон или психо-физиологическое состояние, нарушающее нормальный режим жизни животного и его хозяина (во время и/или после завершения действия факторов стресса), во многих случаях является крайне нежелательным побочным действием препарата.

Особое место в ряду стрессовых ситуаций, сопровождающихся нежелательными поведенческими проявлениями, особенно у котов и кошек, занимает период половой охоты, поскольку в основе их задействованы механизмы, не связанные напрямую с чувством страха или тревоги. Сегодня одним из основных методов коррекции поведения, связанного с естественной реализацией кошками их репродуктивной функции, является системное применение гормональных контрацептивных препаратов (ГКП), и прежде всего, современных бигормональных ГКП, оказывающих на организм животных мягкое и обратимое воздействие (Зейналов О.А. и др., 2019, РВЖ, №3, 12-20). Однако существуют ситуации, когда прием бигормональных контрацептивов не показан, в частности, если с момента начала течки прошло более 2-х дней, или когда кошки страдают одним из перечисленных в инструкциях к таким препаратам (например, см. Инструкцию к препарату СексБарьер, режим доступа: *http://www.skiff-pharm.ru/seks-baryer-dlya-koshek-kapli*) заболеваний.

В вышеупомянутых случаях ветврачи иногда рекомендуют применять различные психотропные средства, изменяющие поведение животных (Simpson B.S., Simpson D.M. Behavioral pharmacotherapy. Part II. Anxiolytics and mood stabilizers // Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian-2006. - Vol. 18, P.1067-1081; Overall K.L. Pharmacologic treatments for behavior problems // Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice – 2007.- Vol. 27, P. 637-665). Однако

главное условие их эффективного действия - курсовое лечение, тогда как специализированных препаратов для ситуационного применения с целью быстрого решения поведенческих проблем кошек в период половой охоты на современном ветеринарном рынке нет.

Раскрытие изобретения

Задачей настоящего изобретения была разработка нового успокоительного тразодон-содержащего препарата, предназначенного для коррекции поведения кошек и собак в различных стрессовых ситуациях, который был бы лишен побочных эффектов в виде состояния вялости и/или нарушения координации движений, и/или продолжительного глубокого сна (технический результат).

Поставленная задача была решена путем применения в качестве активного начала в успокоительном средстве для МДЖ конкретной соли тразодона - сукцината тразодона. Теоретической предпосылкой для предлагаемого решения послужили известные данные о полезных свойствах янтарной кислоты, проявляемых этим соединением в организме млекопитающих.

Организмом человека янтарная кислота вырабатывается в количестве примерно 200 мг в сутки; при этом фактически весь объем синтезированного соединения потребляется в многочисленных обменных процессах, участником которых оно является, в частности в одном из важнейших энергетических циклов – цикле Кребса.

Известно, что янтарная кислота является стимулятором энергетического обмена у человека и сельскохозяйственных животных, а также выраженным антиоксидантом и кардиопротектором (Басанкин А.В., Фармако-токсикологическое обоснование применения янтарной кислоты в животноводстве и ветеринарии, автореферат дисс., Казань, 2007, режим доступа: *http://medical-diss.com/veterinariya/farmako-toksikologicheskoe-obosnovanie-primeneniya-yantarnoy-kisloty-v-*

zhivotnovodstve-i-veterinarii#ixzz5VjpDankP; Gross GJ Mol Cell Biochem. 2005 Apr; 272(1-2):221-7*; https://cosmetic-oil.com/?p=3951*).

В литературе приводится также информация о том, что янтарная кислота проявляет в организме млекопитающего свойства детоксиканта, увеличивая скорость катаболизма токсичных соединений (Krop S , Fed Proc. 1946;5 (1 Pt 2):187), и иммунопротектора, повышая защитные функции организма (https://adella.ru/health/yantarnaya-kislota.html), а также данные, что у некоторых видов животных, в частности у домашних птиц, это соединение демонстрирует противострессовый эффект (Басанкин А.В., 2007). И наоборот, в стрессовых ситуациях часто отмечается снижение уровня собственного синтеза сукцината организмом, которое также характерно для условий, вызывающих «напряженное» состояние иммунитета (*https://alko03.ru/opyanenie/pohmele/yantarnaya-kislota.html*).

Особую роль играет способность сукцинатов нормализовать сон, в связи с чем в официальной и народной медицине янтарная кислота рекомендуется как средство в борьбе с депрессией, хронической усталостью и сонливостью (Zhang JH et al., J. Ethnopharmacol. 2018, 213:230-255).

Важно, однако, отметить, что решение задачи коррекции поведения МДЖ в стрессовых ситуациях предполагает, что действие ДВ (соли тразодона) должно проявляться при однократном применении, достаточно быстро и в сравнительно низких дозах, тогда как медицинское применение сукцината, позволяющее реализовать указанные полезные свойства этого соединения, предусматривает длительное курсовое применение кислоты, причем в высоких концентрациях. В связи с этим, при создании настоящего изобретения открытым оставался вопрос, достаточным ли будет получаемое в результате диссоциации соли количество аниона сукцината для

устранения выраженных побочных эффектов тразодона. Соответственно, получение желаемого технического результата, даже при наличии у данного соединения указанных полезных свойств, в данном случае не являлось очевидным для специалиста фактом.

Практически разработка нового антигельминтика включала следующие этапы:

а) Получение сукцината тразодона и лекарственной формы на его основе.

Сукцинат тразодона получали из гидрохлорида тразодона (фирмы Shenyang Funing Parmaceutical Co.Ltd.) путем связывания молекулы соляной кислоты с образованием тразодона-основания, последующей реакции его с янтарной кислотой и кристаллизации продукта (пример 1).

Для проведения испытаний на животных использовали составы с различным содержанием сукцината тразодона, применявшиеся в виде таблеток или капель для применения per os. Таблетки получали методом прямого прессования в нескольких вариантах, отличавшихся количеством ДВ, ориентированным на вид и массу тела животного (пример 1, табл. I). При проведении экспериментов их использовали в количестве, необходимом для достижения запланированных доз (в мг/кг веса животного). Жидкая форма представляла собой водный раствор сукцината тразодона, дополнительно включавший один-два вспомогательных вещества, выбранных из числа фармацевтически приемлемых стабилизаторов, консервантов, вкусовых добавок, который использовали в объеме, необходимом для достижения эффективной дозы ТР.

б) Определение острой токсичности сукцината тразодона и содержащего его лекарственного состава

Оценку данного показателя проводили на мышах и крысах в соответствии с общепринятой схемой определения острой токсичности

лекарственных средств (пример 2). В результате проведенных исследований было рассчитано значение LD50 для субстанции тразодона сукцината и для содержащего его лекарственного состава, в соответствии с которыми и ДВ, и полученный препарат отнесен к веществам III класса опасности согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76).

в) Выбор критериев для определения психоэмоционального состояния животных и разработка системы его оценки.

По результатам наблюдения за животными, находящимися в состоянии стресса, для оценки степени выраженности их аномального поведения были отобраны наиболее часто проявляющиеся признаки тревоги и страха, общие для различных стрессовых ситуаций. В их число вошли вокализация, гиперсаливация, усиленное вылизывание, аномальная (повышенная или пониженная) двигательная активность, нечистоплотное поведение (уринация и/или дефекация), а также «деструктивное поведение», выражающееся в появлении признаков агрессии, попытках порчи окружающих предметов и др. По каждому из признаков (в зависимости от степени проявления) начислялись баллы от 0 до 2, которые затем суммировались для каждого животного в отдельности, а при необходимости – для группы в целом с целью определения среднего значения.

г) Определение эффективных доз и степени проявления побочных эффектов при применении двух солей ТР.

Представленные в научной литературе сведения, относящиеся к возможной дозировке гидрохлорида тразодона для кошек, единичны и фактически ограничиваются информацией об эффективности при разовом применении дозы 50 мг/гол (Stevens B., J Am Vet Med Assoc. 2016 249(2):202-7), что в среднем для взрослых кошек составляет достаточно

широкий интервал от 6 до 25 мг/кг, и использовании более высоких доз (от 50 до 100 мг/гол) - для достижения сильного снотворного действия (Orlando JM., J Feline Med Surg. 2016, 18(6):476-82). Это привело к необходимости уточнения эффективных доз ДВ (ТР в виде обеих солей, гидрохлорида и сукцината) в указанном интервале. При этом по результатам сравнительных исследований, проведенных на кошках со страхом транспортировки (пример 4, таблицы VIa-VIг), было установлено, что для проявления необходимого успокоительного действия при минимальном выражении побочных эффектов предпочтительной является доза ДВ, составляющая 6±1 мг/кг. Из сравнения эффекта двух различных солей (гидрохлорида и сукцината) с очевидностью следует, что при всех исследованных дозах в случае применения ТР в форме сукцината наблюдается значительно менее выраженное проявление нежелательных действий препарата в виде общей сонливости, вялости, заторможенности, нарушения координации движений, чем в случае гидрохлорида ТР, а при минимальной из исследованных доз – и их полное отсутствие.

По литературным данным, при различного рода тревожных расстройств у собак тразодон в форме гидрохлорида демонстрировал приемлемый уровень успокоительного действия при разовом применении в следующих дозах: от 3,5 до 12 мг/кг (Gilbert-Gregory, 2016), от 7 до 10 мг/кг (Gruen, 2014); 5 мг/кг для собак с весом более 10 кг и 10 мг/кг для собак с весом менее 10 кг (Orlando JM., J Feline Med Surg. 2016 Jun;18(6):476-82).

С учетом наличия достаточно определенных (для различных стрессовых воздействий) данных относительно дозировки тразодона в форме гидрохлорида при применении собакам, для дальнейших клинических испытаний на этом виде животных предварительно был избран интервал доз ДВ от 5 до 10 мг/кг. При проведении собственного

эксперимента по уточнению дозы для сукцината ТР (пример 5) предпочтительной, как с точки зрения эффективности, так и в плане минимизации побочных действий, была признана доза, соответствующая 6 ± 1 мг/кг.

д) Клинические исследования действия сукцината тразодона в различных стрессовых ситуациях

В отличие от эксперимента по сравнению действия ТР в виде двух (известной и предлагаемой) солей, большая часть проведенных клинических исследований (пример 6) предусматривала а) применение препарата на основе сукцината тразодона в нескольких различных стрессовых ситуациях, б) использование предлагаемого средства во всех случаях в одних и тех же дозах, предварительно определенных как оптимальные для получения необходимого успокоительного эффекта с минимальным проявлением побочного действия (6± 1 мг/кг); в) с целью исключения эффекта «привыкаемости» к действию раздражителя включение в испытание контрольной группы животных, получавших препарат-плацебо, аналогичный по внешним признакам и содержанию вспомогательных компонентов с опытными образцами и г) использование для оценки психоэмоционального состояния контрольных и опытных животных среднего по группе показателя выраженности признаков стрессового состояния.

Более детально (с оценкой индивидуальных показателей поведения) в рамках клинических испытаний было исследовано применение нового препарата для коррекции поведения котов и кошек в период половой охоты (пример 7).

Полученные результаты подтвердили преимущества применения нового успокоительного средства для МДЖ, в котором ТР представлен в форме соли янтарной кислоты, в сравнении с медицинскими препаратами

на основе гидрохлорида, которые выражаются в более «мягком» действии нового средства при сохранении его эффективности.

Таким образом, по совокупности полученных результатов может быть сделан вывод о том, что разработано новое средство на основе сукцината тразодона для коррекции поведения МДЖ при стрессе, которое в течение 30-60 минут после приема обеспечивает нормализацию поведения животных (успокоение) в различных стрессовых ситуациях, включая период половой охоты, причем без характерного для известных медицинских аналогов одновременного или последующего проявления нежелательных побочных эффектов в виде сонливости, вялости, заторможенности и нарушения координации движений (технический результат).

Варианты осуществления изобретения

Пример 1. Получение сукцината тразодона и содержащей его лекарственной формы

В отсутствии коммерческой субстанции сукцината тразодона соль синтезировали из гидрохлорида (фирма Shenyang Funing Parmaceutical Co.Ltd.) путем связывания молекулы соляной кислоты с получением тразодона основания и последующей обработки его янтарной кислотой. Очищенная субстанция представляла собой кристаллический порошок белого (или белого с кремовым оттенком) цвета с Т плав.= 149-153°С, легко растворимый в горячей воде, умеренно растворимый в воде комнатной температуры и спиртах, нерастворимый в хлороформе.

Строение полученного соединения было подтверждено с помощью методов масс-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии и элементного анализа в лаборатории органического микроанализа Института Органической Химии РАН.

Для определения эффективных доз сукцината тразодона и проведения клинических испытаний использовали составы с различным содержанием ДВ, применявшиеся в виде таблеток массой 100, 300 и 500 мг, а также в форме раствора для введения per os. Таблетки получали методом прямого прессования в трех вариантах, отличавшихся количеством ДВ, ориентированным на массу тела животного (таблица I). При проведении экспериментов их использовали в количестве, необходимом для достижения запланированных доз. В качестве вспомогательных веществ использовали традиционно применяемые при данном способе таблетирования маннитол, диоксид кремния, стеарат магния, а также, необязательно, пищевой краситель. В связи с тем, что лекарственный состав не имел выраженного запаха и обладал приятным слабокислым вкусом, обязательного введения каких-либо дополнительных компонентов для маскировки или улучшения вкуса не требовалось.

Таблица I. Варианты таблеток для проведения испытаний (с пищевым красителем зеленым).

Наименование компонента	Содержание компонента в таблетке (мг)		
	1 таблетка (100 мг) на 4 кг веса животного	1 таблетка (300 мг) на 8 кг веса животного	1 таблетка (500 мг) на 20 кг веса животного
Тразодона сукцинат	24,0	48,0	120,0
Маннитол	71,9	147,9	375,9
Кремния диоксид	1,0	1,0	1,0

Магния стеарат	3,0	3,0	3,0
Краситель пищевой	0,1	0,1	0,1

Жидкую форму препарата получали путем растворения сукцината ТР в горячей воде с добавлением бета- или гидроксипропил-циклодекстрина (с целью повышения растворимости), и последующего введения в полученный раствор консерванта (нипагин, нипазол, шаромикс) и необязательно вкусовой добавки. Предпочтительный состав содержал в 1 мл 50 мг сТР, 300 мг гп-ЦД и 0,01 мл шаромикса. В основном в экспериментах использовали таблетированные формы, жидкую форму применяли в отдельных опытах (см. пример 4, таб. 6г) в дозе 0,5 мл (25 мг сТР)/4кг для сравнения эффективности с таблетированной формой.

Пример 2. Определение острой пероральной токсичности субстанции (тразодона сукцината) и препарата.

Исследования проводились в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Опыты ставили на мышах и крысах в соответствии с общепринятой схемой определения острой токсичности лекарственных средств, отдельно для субстанции (тразодона сукцината) и содержащего её препарата в таблетированной форме. В каждом случае было сформировано 7 опытных и 1 контрольная группа белых крыс, а также 7 опытных и 1 контрольная группа белых мышей, по 10 особей в каждой. Препарат вводили посредством внутрижелудочного зонда в дозе согласно схеме, указанной в таблице II. В качестве суспензатора использовали 1%-ный крахмальный гель.

Таблица II. Схема внутрижелудочного введения субстанции тразодона сукцината белым мышам и крысам для определения острой токсичности.

№ группы	Доза, мг/кг	
	Белые мыши	Белые крысы
1	400	400
2	800	800
3	1200	1600
4	1600	2300
5	2000	2700
6	2500	3000
7	3000	3500
Контроль	равный объем 1%-ного крахмального геля	

Период наблюдения составлял 14 суток. Следили за общим состоянием, поведением, приёмом корма и воды, проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью.

В результате проведенных исследований были определены показатели острого токсического действия субстанции, рассчитанные методом Миллера и Тейнтера (таблицы III и IV).

Таблица III. Расчёт LD50 для тразодона сукцината методом Миллера и Тейнтера.

Белые мыши					
Группы лабораторных животных	Доза, мг/кг	Количество животных		% гибели	Соответствующие пробиты
		выживших	павших		
1	400	10	0	0	3,04
2	800	9	1	10,0	3,72
3	1200	5	5	50,0	5,00

4	1600	3	7	70,0	5,74
5	2000	0	10	100,0	6,96
6	2500	0	10	100,0	6,96
7	3000	0	10	100,0	6,96
Белые крысы					
Группы лабораторных животных	Доза, мг/кг	Количество животных		% гибели	Соответствующие пробиты
		выживших	павших		
1	400	10	0	0	3,04
2	800	8	2	20,0	4,16
3	1600	6	4	40,0	4,75
4	2300	5	5	50,0	5,00
5	2700	3	7	70,0	5,75
6	3000	0	10	100,0	6,96
7	3500	0	10	100,0	6,96

Таблица IV. Параметры острой пероральной токсичности на мышах и крысах, мг/кг

Вид животных	Параметры токсичности					
	МПД	LD_{16}	LD_{50}	LD_{84}	LD_{100}	SLD_{50}
Белые мыши	400	840	1200 (1091,6-1308,4)	1690	1935	±108,4
	Параметры токсичности					
	МПД	LD_{16}	LD_{50}	LD_{84}	LD_{100}	SLD_{50}
Белые крысы	400	760	2300 (2079,5-2520,5)	2730	2945	±220,5

Из полученных данных следует, что средне-смертельная пероральная доза субстанции тразодона сукцината при внутрижелудочном введении мышам и крысам составляет 1200 мг/кг и 2300 мг/кг, соответственно.

При определении пероральной острой токсичности успокоительного препарата применялась та же схема эксперимента, за исключением того, что для введения животным использовали суспензию мелкоизмельченных таблеток в 1%-ном крахмальном геле.

Значения LD50, определенные для успокоительного препарата, составляли для мышей и крыс, соответственно, 1900мг/кг и 3400 мг/кг.

Таким образом, согласно ГОСТ 12.1.007-76 как субстанци (тразодона сукцинат), так и содержащий её в качестве ДВ таблетированный препарат относятся к умеренно опасным веществам (III класс опасности).

Пример 3. Выбор критериев и системы оценки выраженности признаков аномального поведения (психоэмоционального статуса)

По результатам наблюдения за животными, находящимися в состоянии стресса, для оценки степени выраженности их аномального поведения были отобраны наиболее часто проявляющиеся признаки тревоги и страха, общие для различных стрессовых ситуаций. В их число вошли 6 признаков: вокализация, гиперсаливация, усиленное вылизывание, аномальная (повышенная или пониженная) двигательная активность, нечистоплотное поведение (уринация и/или дефекация), а также «деструктивное поведение», подразумевающее элементы агрессивности, попытки повреждения окружающих предметов и т.д. (таблица V).

Таблица V. Система оценки психоэмоционального статуса кошек и собак

№	Показатель	Оценка, балл

		2	1	0
1.	Вокализация	Частая/ периодическая	Умеренная	Естественная или отсутствует
2.	Двигательная активность	Чрезмерная/ периодическая	Неподвижность (поведенческая депрессия)	Естественная
3.	Гиперсаливация	Выраженная	Умеренная	Отсутствует
4.	Вылизывание	Постоянное/ частое	Периодическое	Отсутствует
5.	Нечисто-плотное поведение: уринация и/или дефекация	Выраженное	Умеренное	Отсутствует
6.	Деструктивное поведение	Выраженное	Умеренное	Отсутствует

По каждому из 6 признаков (в зависимости от степени проявления) начислялись баллы от 0 до 2, которые затем суммировались для каждого животного в отдельности. При этом суммарное количество баллов, составлявшее более 6 (из 12 возможных), считали показателем явной выраженности аномального (измененного) поведения.

Пример 4. Сравнение действия гидрохлорида и сукцината тразодона при применении в одних и тех же дозах.

Для проведения эксперимента было отобрано 6 домашних кошек разного пола и возраста, с весом от 3,5 до 5 кг, которые, по словам хозяев, плохо переносили транспортировку, проявляя при этом различные формы аномального поведения. Оценку реального наличия признаков стресса и степени их выраженности для каждой из кошек в данном случае проводили на основании предоставленной владельцами видеосъемки.

Исследования проводили на одной и той же группе животных в два этапа с разницей в 1 месяц. На первом этапе животные за 1 час до проведения транспортировки, согласно рекомендуемой в литературе дозе, получали препарат Триттико (гидрохлорид тразодона) из расчета 50 мг тразодона/голову, а через неделю в той же дозе – новый препарат (с сукцинатом тразодона).

Транспортировка кошки из дома длилась примерно 30 минут и осуществлялась индивидуальной сумке - переноске хозяином на общественном или личном транспорте. В поездках владельца сопровождал исследователь, который оценивал психо - эмоциональный статус кошки (согласно таблице V), и фиксировал проявления побочного действия лекарства в индивидуальной карте. Кроме того, владельцы животных должны были отмечать все особенности поведения кошек в течение ближайших часов после возвращения их домой. Результаты первого этапа эксперимента представлены в таблицах VIa и VIб.

Таблица VIa. Оценка психоэмоционального состояния кошек при транспортировке после приема препарата Триттико (50 мг ДВ/гол).

№	Кличка	Порода, возраст, вес	Доза ДВ: мг/кг	Оценка состояния стресса (баллы)		Побочные эффекты во время или после
				исходно (*)	во время транспор-тировки	

					(минуты)				стрессового воздействия
					5	10	20	30	
1	Вася	б/п, 3 года, 4 кг	12,5	6	0	1	0	0	вялость, нарушение координации движений
2	Хрюша	б/п, 3 года, 4 кг	12,5	8	7	7	5	4	по окончании испытаний – глубокий сон несколько часов
3	Винни	б/п, 2 года, 4,5 кг	11,1	9	1	0	1	1	не отмечено
4	Флинт	б/п, 2 года, 5 кг	10,0	8	0	0	1	0	сонливость, нарушение координации движений
5	Ксана	б/п, 11 лет, 3,5 кг	14,0	7	0	0	1	0	сонливость, слезотечение
6	Фокс	б/п, 4 года, 5 кг	10,0	7	4	4	4	3	по окончании испытаний – глубокий сон несколько часов

*Исходная выраженность признаков страха в данном опыте определена по итогам опроса владельцев и анализа предоставленной ими видеосъемки

Таблица VIб. Оценка психоэмоционального состояния кошек при транспортировке после приема средства по изобретению (48 мг ДВ/гол).

№	Кличка	Порода возраст вес	Доза ДВ: мг/кг	Оценка состояния стресса (баллы)					Побочные эффекты во время или после стресса
				исходно	во время транспортировки (минуты)				
					5	10	20	30	
1	Вася	б/п, 3 года, 4 кг	12,0	6	0	0	0	0	небольшое нарушение координации
2	Хрюша	б/п, 3 года, 4 кг	12,0	8	6	2	2	0	не отмечено
3	Винни	б/п, 2 года, 4,5 кг	10,8	9	1	0	1	0	не отмечено
4	Флинт	б/п, 2 года, 5 кг	9,6	8	2	0	0	0	вялость в течение 2-3 часов
5	Ксана	б/п, 11 лет, 3,5 кг	13,7	7	0	0	1	0	не отмечено
6	Фокс	б/п, 4 года, 5 кг	9,6	7	2	2	0	0	не отмечено

На основании полученных данных были сделаны следующие выводы:

А) Как гидрохлорид, так и сукцинат тразодона в дозе 48-50 мг/гол (в среднем 10-14 мг/кг, через час после приема демонстрировали выраженное и при этом сравнимое по эффективности успокоительное действие на животных.

Б) Прием гидрохлорида ТР в используемой дозе приводил к возникновению отчетливых побочных эффектов, выражавшихся в вялости и сонливости, заторможенности реакций и нарушении координации движений у 5 из 6 испытуемых животных (83,3%).

После приема сукцината только у 2 из 6 кошек (33,3%) наблюдалось побочное действие, выражавшееся в некотором нарушении координации и относительно кратковременном проявлении вялости.

Второй этап эксперимента, проводившийся на тех же животных через месяц после первого, осуществляли по той же схеме, за исключением того, что дозы обоих препаратов (Триттико с гидрохлоридом и нового средства на основе сукцината тразодона) были снижены в два раза и составляли 24-25 мг/гол, или в среднем 5-7 мг/кг.

Результаты второго этапа эксперимента представлены в таблицах VIв и VIг.

Таблица VIв. Оценка психоэмоционального состояния при транспортировке кошек после приема препарата Триттико (25 мг ДВ/гол).

№	Кличка	Порода возраст вес	Доза ДВ: мг/кг	Оценка состояния стресса (баллы)		Побочные эффекты во время или после стресса
				исходно (*)	во время транспортировки (минуты)	

					5	10	20	30	
1	Вася	б/п, 3 года, 4 кг	6,25	6	2	1	1	0	не отмечено
2	Хрюша	б/п, 3 года, 4 кг	6,25	8	6	3	3	2	Неуве-ренные движения
3	Винни	б/п, 2 года, 4,5 кг	5,6	9	5	2	0	0	не отмечено
4	Флинт	б/п, 2 года, 5 кг	5,0	8	2	1	1	1	общая вялость, сонливость
5	Ксана	б/п, 11 лет, 3,5 кг	7,1	7	3	2	0	0	сонливость в течение 4-5 часов
6	Фокс	б/п, 4 года, 5 кг	5,0	7	4	3	2	2	не отмечено

Таблица VIг. Оценка психоэмоционального состояния при транспортировке кошек после приема средства по изобретению (24 мг ДВ/гол).

№, фор-ма	Кличка	Порода возраст вес	Доза ДВ мг/кг	Оценка состояния стресса (баллы)		Побочные эффекты во время или
				исхо дно	во время транспортировки (минуты)	

					5	10	20	30	после стресса
1* (ж)	Вася	б/п, 3 года, 4 кг	6,0	6	2	0	0	0	не отмечено
2	Хрюша	б/п, 3 года, 4 кг	6,0	8	3	3	1	0	не отмечено
3* (ж)	Винни	б/п, 2 года, 4,5 кг	5,3	9	2	0	1	0	не отмечено
4	Флинт	б/п, 2 года, 5 кг	4,8	8	1	1	0	0	не отмечено
5* (ж)	Ксана	б/п, 11 лет, 3,5 кг	6,9	7	0	0	1	0	небольшая заторможенность реакции
6	Фокс	б/п, 4 года, 5 кг	4,8	7	4	3	3	1	не отмечено

Примечание: (ж)* – применялась жидкая форма препарата

Анализ полученных данных позволил сделать следующие выводы:

а) При использовании доз препарата в интервале доз 5-7 мг/кг у гидрохлорида тразодона отмечалась несколько меньшая скорость действия в ответ на наступление стрессовой ситуации, чем в случае сукцината, по меньшей мере, у половины кошек.

б) У кошек, получавших препарат с гидрохлоридом ТР, побочные эффекты, хотя и значительно менее выраженные, чем на первом этапе (при более высоких концентрациях ДВ) регистрировались у 3 из 6 животных, тогда как при применении сукцината ТР лишь в одном случае (у возрастной кошки с малым весом) зарегистрирована небольшая заторможенность реакций на внешние воздействия.

в) Замена половине кошек, получавших сукцинат тразодона в терапевтически эффективной дозе (5-7 мг/кг), твердой лекарственной формы на жидкую (при сохранении той же концентрации ДВ), не привела к каким-либо ощутимым изменениям ни в части воздействия на побочные эффекты, ни в плане эффективности действия, за исключением того, что визуально у кошек, получавших препарат в виде капель, можно было отметить несколько более раннее начало успокоительного эффекта. Это обстоятельство вполне объяснимо в условиях присутствия циклодекстрина, который, как известно, обладает способностью повышать растворимость и биодоступность лекарственных средств (RU 2419621 C2, 27.05.2011; Yang GF et al., 2006, J.Phys. Chem. B, 110 (13), 7044-8 и др.), и может рассматриваться далее в плане возможности последующего снижения терапевтической дозе для нового препарата в этой форме.

Таким образом, проведенный сравнительный эксперимент показал, что побочное действие имеет дозо - зависимый характер, однако при одной и той же дозе ДВ, как низкой, так и высокой, в случае применения ТР в форме сукцината оно выражено значительно слабее, чем в случае гидрохлорида ТР, причем как в количественном, так и в качественном отношении. Кроме того, установлено, что снижение дозы в среднем до 6±1,0 мг/кг применительно к таблеткам Триттико (с гидрохлоридом) при сохранении высокого процента (50%) животных с побочными явлениями несколько снижает и скорость наступления успокоительного действия,

тогда как новый препарат (с сукцинатом ТР) демонстрирует примерно ту же эффективность действия, что и при высоких дозах, но при этом практически не вызывает побочных эффектов. Для дальнейших клинических испытаний нового средства с сукцинатом ТР на кошках была избрана доза, равная 6±1 мг/кг.

Пример 5. Уточнение эффективной дозы сукцината тразодона для собак.

Эксперимент проводился в условиях тревоги разлуки в рамках интервала доз, который по данным литературы, оценивается как обеспечивающий необходимый успокоительный эффект в различных стрессовых ситуациях применительно к ТР-содержащим коммерческим препаратам и составляет примерно 5-10 мг/кг.

В исследование включались домашние собаки, испытывающие тревогу разлуки с хозяином (для подтверждения анамнеза владельцы предоставляли видеосъёмку животного в моменты разлуки).

Всем собакам перорально был введен успокоительный препарат, из которых трем - в дозе (по сукцинату тразодона) 9 мг/кг и трем – в дозе 6 мг/кг. После дачи препарата владельцы оставляли собак, которых на 4 часа помещали в индивидуальные клетки в помещении стационара ветеринарной клиники Био-Вет.

Результаты наблюдения за животными фиксировались каждый час. Определение эффективности успокоительного препарата проводилось согласно предварительно разработанной схеме оценки (таб. V). Особое внимание уделялось побочным действиям лекарственного средства, которые фиксировались в специальном разделе оценочного листа. После завершения эксперимента владельцу предлагалось ещё в течение 4-6 часов записывать особенности поведения питомца дома.

Принятые в эксперимент 6 собак проявляли тревогу разлуки, выражающуюся в вокализации (2 балла - у всех), повышенной

двигательной активности (2 балла – у всех), деструктивном поведении (собаки 4 и 5), интенсивном вылизывании (собаки 1,2,3 и 5), нечистоплотном поведении (собаки 1 и 6). Суммарное количество баллов для отобранных в эксперимент животных составляло 7-10 из 12 возможных, что говорит о явной выраженности тревоги разлуки у испытуемых животных.

Результаты исследования представлены в таблице VII.

Таблица VII. Оценка психоэмоционального состояния собак при тревоге разлуки с хозяином после приема средства по изобретению.

№	Кличка	Порода Возраст, вес	Доза ДВ: мг/кг	Оценка состояния при отборе, баллы	Оценка состояния после разлуки с хозяином (во времени, в часах), баллы					Побочные действия
					0,5	1	2	3	4	
1	Дэни	Той, 3 года, 4 кг	9	8	8	3	0	0	0	некоторая заторможенность реакций во время и в течение 2-3 ч. после окончания экспери-мента

2	Нюша	Б/п, 4 года, 20 кг	9	8	6	0	0	0	0	сонное состояние на протяжении 6-7 часов
3	Лиза	Б/п, 13 лет, 10 кг	9	10	8	0	0	0	0	не отмечено
4	Дэйни	Йорк, 2 года, 4 кг	6	7	7	3	0	0	0	не отмечено
5	Кузя	Бесендже р, 8лет, 12 кг	6	7	7	0	0	0	0	не отмечено
6	Ксю-ша	Той 1,5 года, 3 кг	6	8	6	0	0	0	0	не отмечено

Из данных, приведенных в таблице VII, следует, что у всех собак после приема препарата наблюдался явный успокоительный эффект, выражающийся у каждого из животных либо в полном исчезновении основных признаков страха, либо в существенном ослаблении их выраженности. Время устойчивого успокоительного действия наступало через 1 час после приема препарата и разлуки с хозяином.

При явном терапевтическом эффекте дозировка тразодона 9 мг/кг вызвала у одной из собак побочное действие в виде слабой заторможенности, а у второй –длительного сонливого состояния. Для дозы ТР 6 мг/кг веса ни у одного животного побочного действия препарата отмечено не было. С учетом этого, при проведении клинических исследований на собаках в дальнейшем применяли успокоительный препарат по изобретению в дозировке (по тразодону) 6±1 мг/кг, т.е. в тех же терапевтических дозах, что и применительно к кошкам.

Пример 6. Клинические испытания препарата с сукцинатом тразодона в различных стрессовых ситуациях, сопровождающихся проявлением чувства страха или тревоги.

Клинические исследования предлагаемого в настоящем изобретении средства для коррекции аномального поведения МДЖ проводили в Москве и Московской области; постановку отдельных экспериментов выполняли на базе ветеринарной клиники БиоВет (г. Москва). В отличие от двух оценочных экспериментов по сравнению действия ТР в виде двух (известной и предлагаемой) солей (пример 4) и уточнения дозы ДВ для собак (пример 5), системные клинические исследования предусматривали:

а) применение препарата на основе сукцината тразодона в нескольких различных стрессовых ситуациях, сопровождающихся различными проявлениями страха или тревоги, в число которых (с учетом объема проведенных на первом этапе сравнительных испытаний при страхе транспортировки у кошек и тревоге разлуки у собак) были включены следующие: страх транспортировки у собак, тревога разлуки у кошек и страх громких звуков у кошек и собак;

б) использование предлагаемого средства во всех случаях в одной и той же дозировке тразодона сукцината, предварительно определенной как

оптимальная для получения необходимого успокоительного эффекта с минимальным проявлением побочного действия (6± 1 мг/кг);

в) с целью исключения эффекта «привыкаемости» к действию раздражителя определение эффективности лечения проводили в сравнении с контрольной группой животных, получавших препарат-плацебо, аналогичный по внешним признакам и содержанию вспомогательных компонентов с опытными образцами и

г) для оценки психоэмоционального состояния контрольных и опытных животных использовали средний по группе показатель выраженности признаков стрессового состояния.

Отбор животных и общая схема экспериментов.

Отбор животных проводили среди взрослых клинически здоровых кошек и собак, содержащихся в домашних условиях, и, по отзывам владельцев, испытывающих чувство страха (тревоги) в отношении определенных раздражителей или ситуаций. До начала испытаний проводили предварительные эксперименты с наблюдением за поведением животных в указанной хозяином ситуации и отбирали из них только тех, для которых предварительный анамнез подтверждался, причем с высокой степенью выраженности признаков страха (или тревоги) согласно разработанной нами системе оценки (в баллах) психоэмоционального состояния представленной в таблице V (пример 3).

Как правило, в эксперимент включали 12 особей, из которых рандомно (по таблице, составленной с помощью генератора случайных чисел, режим доступа: *https://randstuff.ru/number/)* формировали 2 группы, опытную и контрольную (по 6 животных в каждой), где животные первой группы подвергались действию раздражителя на фоне заданного предварительно лекарственного препарата (сукцината тразодона), а второй – после приема препарата-плацебо, включающего

только вспомогательные вещества, входящие в состав испытуемого успокоительного средства. Животные получали препарат (опытные - сукцинат ТР в количестве, обеспечивающем ранее определенную оптимальную дозу, а контрольные - плацебо), однократно, до кормления, перорально принудительно (путем помещения на корень языка или с помощью таблеткодавателя), обычно за час до воздействия стресс-фактора, после чего животные находились под постоянным наблюдением специалиста-исследователя. Результаты наблюдения регистрировались в индивидуальных картах, после чего оценивался психоэмоциональный статус каждого животного в баллах и затем определялось среднее значение выраженности признаков страха для группы в целом (опытной или контрольной). Полученные данные обрабатывались статистически с использованием программы Microsoft Excel. Помимо эффективности действия препарата в специальную графу индивидуальной карты животного вносились данные наблюдения, касающиеся проявления побочных эффектов успокоительного средства, если таковые имели место.

Страх транспортировки **(собаки).**

Первичный отбор животных для эксперимента проводили среди взрослых, клинически здоровых собак разных полов и пород, содержащихся в домашних условиях и, по данным, полученным от хозяев, испытывающих тревогу разлуки с владельцем. Для подтверждения анамнеза специалист сопровождал владельца с животным в транспорте и регистрировал (с оценкой в баллах в соответствии с таблицей V) проявление признаков страха без применения препарата. По результатам проверки в эксперимент было включено 12 животных (8 самцов и 4 самки) в возрасте от 2 до 5 лет, весом от 2 до 50 кг, с выраженностью признаков страха более 6 баллов, из которых далее указанным выше способом были сформированы контрольная и опытная группы.

Транспортировка из дома длилась примерно 30 минут на общественном или личном транспорте через 1, а затем повторялась через 3,6 и 8 часов после дачи препарата. В поездках владельца сопровождал исследователь, который фиксировал данные психоэмоционального статуса собак, согласно таблице V, в индивидуальной карте.

Собак мелких пород перевозили в индивидуальной сумке- переноске, а средних и крупных - на поводке в намордниках.

Результаты определения эффекта препарата при коррекции поведенческих проблем собак при транспортировке представлены в таблице VIII.

Таблица VIII. Оценка выраженности страха транспортировки у собак.

Время опыта (часы)	Средний балл выраженности признаков стресса в группе	
0	7,33±0,33	7,83±0,17
1	1,5±0,43	7,0±0,26
3	1,33±0,21	6,83±0,31
6	2,83±0,60	7±0,26
8	5,33±0,33	7,17±0,31

Как следует из представленных данных, у всех собак опытной группы, перевозимых через 1 и 3 часа после дачи препарата наблюдалось, хотя и неполное, но четко выраженное и достаточное для осуществления транспортировки (средний балл выраженности признаков страха по группе 1,3-1,5) успокоительное действие, которое, хотя и в менее выраженной степени (средний балл 2,8), регистрировалось через 6 часов и практически прекращалось только

через 8 часов (средний балл 5,3). Все контрольные животные проявляли признаки страха при всех 4-х поездках с равной (присущей им исходно) степенью выраженности, что указывает на отсутствие в рамках опыта «привыкаемости» к стресс-фактору.

Никаких побочных эффектов ни во время эксперимента, ни по возвращении получавших препарат животных домой отмечено не было.

Тревога разлуки (кошки).

Отбор животных для эксперимента проводили среди взрослых, клинически здоровых кошек разных полов и пород, содержащихся в домашних условиях и, по словам владельцев, испытывающих тревогу разлуки с хозяином. Для подтверждения данной поведенческой проблемы непосредственно наблюдали животное в естественных условиях содержания, в присутствии и при отсутствии хозяина (без применения препарата). По результатам проведенных наблюдений в исследование было включено 12 животных (8 самцов и 4 самки), в возрасте от 2 до 8 лет, весом 3-5 кг, с наиболее яркими (с оценкой в баллах более 6 из 12) проявлениями признаков тревоги (вокализация, двигательная активность, деструктивное и нечистоплотное поведение).

Исследование проводилось в домашних условиях по следующей схеме:

а) Препарат и плацебо задавали до кормления, перорально принудительно, однократно.

б) После введения животному препарата владелец, в отсутствии которого кошка испытывает тревогу разлуки, покидал квартиру и отсутствовал не менее, чем на 8 часов. Наблюдение за животным осуществлялось остальными членами семьи, находящимся дома, которые в специальном оценочном листе отмечали (через определенные промежутки времени) наличие и степень выраженности таких признаков, как дефекация и мочеиспускание вне лотка, деструктивное

поведение, вокализация, отсутствие аппетита, вылизывание или самоочищение (от шерсти).

в) По окончании эксперимента проводилась оценка эффективности успокоительного препарата на основании результатов наблюдения за животным в течение 8 часов и определением их в виде баллов согласно таблице V).

Полученные данные представлены в таблице IX.

Таблица IX. Оценка выраженности признаков тревоги разлуки у кошек

№	Кличка	Оценка состояния при отборе: баллы	Оценка состояния после разлуки с хозяином (через определенное время, в часах), баллы								
			0,5ч	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	6 ч	7ч	8ч
	Опытная группа										
1	Мурка	6	7	2	1	1	2	1	2	3	7
2	Пята	8	7	2	1	0	1	0	0	2	4
3	Тайга	8	8	3	3	2	0	0	0	3	4
4	Кот	7	6	1	0	1	1	1	1	2	6
5	Мышь	8	5	5	1	0	1	1	0	2	4
6	Феня	9	6	4	1	0	1	1	2	8	6
	среднее	7,67	6,5	2,83	1,67	0,67	1,0	0,67	0,83	3,33	5,17
	Контрольная группа										

7	Пупс	7	6	6	8	6	6	6	4	5	6
8	Настя	7	6	6	7	6	6	9	6	7	7
9	Маруся	9	7	7	5	7	7	7	6	5	5
10	Дуся	7	7	6	6	7	6	5	4	6	6
11	Конек	8	6	7	7	6	6	6	6	6	8
12	Норка	7	7	7	8	8	6	7	5	7	6
	сред-нее	7,5	6,5	6,5	6,67	7,33	6,5	7,0	5,83	6,33	6,33

Уже через 60 мин. после дачи препарата наблюдателем зарегистрировано значительное успокоительное действие (2,83±0,60 баллов), выражающееся в явном ослаблении обычно проявляемых признаков тревоги. Животные вели себя спокойно, играли.

Через 3 часа после дачи препарата терапевтическое действие не только сохранилось, но и (в расчете на группу) усилилось: у всех кошек без исключения кошек признаки тревожности полностью исчезли (средний по группе балл = 0,67±0,33). После 6 часов нахождения кошек без присутствия владельца у животных наблюдалось постепенное нарастание беспокойства, через 7 часов после дачи препарата средняя оценка выраженности тревоги по группе составила уже 3,33±0,95 балла, а через 8 часов практически вернулась к уровню, близкому к исходному 5,17±0,54.

Побочных эффектов препарата (в частности, седативного эффекта, вялости, заторможенных реакции, раскоординации движений) отмечено не было.

Страх громких звуков (кошки).

В исследование было включено 12 кошек с наиболее яркими проявлениями признаков страха громких звуков, в число которых

вошли самцы (3) и самки (9) различных пород, весом от 3,5 до 6 кг, в возрасте от 4 до 9 лет, которые были рандомно поделены на 2 группы, опытную и контрольную.

После приема лекарственного препарата (или препарата-плацебо) животных помещали в индивидуальные клетки, размещенные в помещении стационара ветеринарной клиники, где они находились последующие 8 часов. За ширмой, расположенной непосредственно перед клеткой (в 1 м от неё), устанавливалась беспроводная портативная акустическая система (BBK BTA7000), которая воспроизводила запись взрыва петард с громкостью 80 dB. Воспроизведение включалось через 1, 3, 6 и 8 часов после дачи препарата и длилось не менее 1 мин.

Уже при первом действии раздражителя (через 60 минут после приема препарата) животные вели себя спокойно и практически не реагировали на повторное (через 3 и 6 часов) применение раздражителя (таблица X).

Таблица X. Оценка выраженности страха громких звуков у кошек.

Время опыта (часы)	Средний балл выраженности признаков стресса в группе	
	Опыт	Контроль
0	5,5±0,22	4,83±0,17
1	0,3±0,21	4,33±0,33
3	1,33±0,21	4,67±0,21
6	1,83±0,31	4,0±0,37
8	4,83±0,40	4,50±0,52

Среднее значение оценки (в баллах) реакции опытных кошек на раздражитель через час было близким к 0. Спокойная реакция

опытных животных на громкий звук (повторное применение раздражителя через 3 часа после приема препарата) сохранялась. По истечении 6 часов с момента дачи препарата, у опытных кошек регистрировалось постепенное (средний по группе балл – 1,8) возвращение признаков страха, а через 8 часов средняя оценка выраженности составила величину, близкую к исходной (4,83±0,40 баллов). Высокая выраженность признаков страха у кошек контрольной группы сохранялась в течение всего эксперимента на уровне, близком к исходному.

Никаких побочных эффектов, в том числе нарушения координации, слабости, заторможенности, глубокого сна, у получавших препарат кошек отмечено не было.

Собаки

Для проведения исследований было отобрано 12 клинически здоровых животных (с оценкой выраженности страха громких звуков более 6 баллов), в число которых вошли самцы (6) и самки (6) различных пород, весом от 1,0 до 55 кг, в возрасте от 2 до 12 лет. Из отобранных животных были сформированы 2 группы, опытная и контрольная, по 6 животных в каждой.

Результаты проведенных испытаний приведены в таблице XI.

Таблица XI. Оценка выраженности страха громких звуков у собак.

Время опыта (часы)	Средний балл выраженности признаков стресса в группе	
	Опыт	Контроль
0	6,33±0,33	6,17±0,33
1	0,5±0,22	6,17±0,31
3	1,5±0,22	6,0±0,26
6	2,67±0,33	6,0±0,33

8	5,67±0,21	6,0±0,30

Из представленных в таблице XI результатов можно заключить, что все собаки опытной группы, в отличие от контроля, уже через 1 час после приема препарата воспринимали действие раздражителя практически без выраженных признаков страха (средний по группе балл - 0,5).

Успокоительное действие препарата, хотя и в меньшей степени, чем в первые 3 часа (средний балл -1,5), наблюдалось в течение 6 часов (средний балл по группе - 2,67). Через 8 часов средняя оценка выраженности страха приблизилась к исходной. (5,83 балла). При этом никаких побочных эффектов препарата, в том числе характерных для гидрохлорида тразодона, ни у одного опытного животного отмечено не было.

В контрольной группе при повторах действия раздражителя признаков адаптации или «привыкаемости» к звуковому сигналу не отмечалось: выраженность степени страха сохранялась на исходном уровне (среднее значение в баллах составляло 6,17 – 6,0).

Пример 7. Оценка возможности применения сукцината тразодона в качестве экспресс-метода подавления поведенческих признаков половой охоты.

В испытания были включены клинически здоровые, интактные животные (8 котов и 8 кошек) в возрасте от 2 до 6 лет, массой тела от 3 до 4 кг, содержащиеся на передержке в приюте для бездомных животных БИМ. Самки вводились в исследование по мере наступления эструса.

Таблица XII. Регистрационные данные кошек, включенных в эксперимент.

№	Номера чипа	Пол	Порода	Масса, г	Возраст
1	8222	♂	Без породы	3600	8
2	7202	♂	Без породы	3200	6
3	7223	♂	Без породы	4100	4
4	6933	♂	Без породы	3900	2
5	6477	♂	Без породы	4100	5
6	0559	♂	Без породы	3800	6
7	0982	♂	Без породы	3900	4
8	3245	♂	Без породы	4000	6
9	3845	♀	Без породы	4100	4
10	2942	♀	Без породы	2800	5
11	1317	♀	Без породы	3900	5
12	1318	♀	Без породы	4000	3
13	7512	♀	Персидская	2800	2
14	5389	♀	Без породы	3700	3
15	7417	♀	Без породы	3900	3
16	7474	♀	Без породы	2900	5

Дизайн эксперимента для кошек

Кошек с выраженными признаками половой охоты помещали в индивидуальные клетки в отдельном помещении. В том же помещении, в клетках содержалось не менее двух интактных котов. Утром до кормления, кошкам перорально, принудительно, однократно задавалась таблетка (100мг) либо препарата (опыт), либо плацебо (контроль). Через 30 минут после приема начиналось наблюдение за поведением животных, которое продолжалось в течение 8 часов; при этом данные психоэмоционального статуса кошек (в баллах) и побочные действия фиксировались в индивидуальной карте.

Дизайн эксперимента для котов

Коты с выраженными признаками половой охоты помещались в индивидуальные клетки в отведенном помещении в присутствии 2 кошек (в отдельных клетках, в том же помещении), находящихся в состоянии половой охоты. Сукцинат ТР в виде таблеток (опыт) и таблетки-плацебо (контроль) задавались по той схеме, что и в опыте с кошками. Аналогичным образом проводилось и последующее наблюдение за животными. Результаты испытаний приведены в таблицах XIII и XIV.

Таблица XIII. Оценка выраженности полового поведения у кошек до и после применения сукцината тразодона.

Номер чипа	Суммарная выраженность признаков половой охоты до применения препарата (баллы)	Суммарная выраженность признаков половой охоты после применения препарата (баллы)				
		через 30 мин.	через 1 час	через 3 часа	через 6 часов	через 8 часов
Опытная группа						
3845	7	5	0	1	2	4
2942	8	6	0	1	1	1
1317	8	4	0	1	1	1
1318	8	4	1	2	2	5
7512	8	5	1	1	2	4
5389	7	5	0	1	2	1
Контрольная группа						
7417	7	6	5	6	7	6
7474	8	6	7	6	5	7

Как следует из представленной таблицы XIII, у всех кошек опытной группы уже через 30 мин. после дачи препарата наблюдалось заметное снижение выраженности проявлений половой охоты, через 1 час наступало практически полное успокоение животных, выражающееся в исчезновении или максимальном ослаблении проявления таких признаков эстрального поведения, как вокализация, гиперактивность, лордоз и др., которое сохранялось, как минимум в течение 6 часов. Через 8 часов у половины кошек наблюдалось постепенное возвращение обычных проявлений полового поведения, хотя и с меньшей интенсивностью, чем до введения успокоительного средства. Кошки, получавшие таблетки-плацебо, в течение всего времени наблюдения в среднем сохраняли исходный уровень проявления признаков половой охоты.

Никаких побочных эффектов, в том числе выраженного снотворного действия, вялости, заторможенности и нарушения координации движений, в ходе проведения эксперимента у животных опытной группы отмечено не было.

Таблица XIV. Оценка выраженности полового поведения у котов до и после применения сукцината тразодона.

Номер чипа	Суммарная выраженность признаков половой охоты до применения препарата (баллы)	Суммарная выраженность признаков половой охоты после применения препарата (баллы)				
		через 30 мин.	через 1 час	через 3 часа	через 6 часов	через 8 часов
Опытная группа						
8222	5	5	0	1	2	4
7202	6	6	0	1	1	4

7223	6	4	0	2	1	1
6933	5	4	1	2	2	3
6477	6	5	1	1	2	1
0559	8	5	0	1	2	4
Контрольная группа						
7417	6	6	4	6	7	6
7474	7	7	5	6	6	6

Из данных таблицы с очевидностью следует, что у всех котов, получавших препарат (сукцинат тразодона), практически полное подавление нежелательных признаков полового поведения наступало в интервале от 30 до 60 минут после дачи препарата. Успокоительное действие сукцината тразодона сохранялось на высоком уровне до истечения 6 часов с момента применения препарата, через 8 часов – только у 2 из 6 животных было отмечено сохранение успокоительного эффекта препарата на максимальном уровне. Никаких аномалий в поведении животных, как и в эксперименте с кошками, отмечено не было.

Таким образом, однократное применение сукцината тразодона в дозе 6-8 мг/кг (1 таблетка, содержащая 24 мг ДВ, на животное весом 3-4 кг) оказывало явное успокоительное действие на кошек и котов, находящихся в состоянии половой охоты, которое начиналось через 30 минут после дачи препарата, через 1 час достигало максимума (практически полного устранения признаков эстрального поведения) и продолжалось не менее 6 часов (обычно 7-8 ч.)

Животные в период действия препарата были спокойны, однако не находились в состоянии глубокого сна и адекватно реагировали на происходящее вокруг. Побочного действия, выражающегося в

нарушении координации движений, заторможенности, а также других нежелательных реакциях при этом не наблюдалось.

Промышленная применимость

Суммируя изложенное, можно заключить, что результатом настоящего изобретения является разработка успокоительного средства, которое может быть широко применено в ветеринарной практике для кошек и собак, с помощью которого возможно эффективно решить задачу коррекции аномального поведения животных, возникающего как следствие стресса под действием различных внешних факторов (транспортировка, громкие звуки, разлука с хозяином, страх новых мест и т.д.), а также в период половой охоты. Предлагаемое средство – первый ветеринарный тразодон-содержащий препарат указанного назначения, в котором в качестве действующего начала ТР использован в виде соли янтарной кислоты (сукцината). Применение сукцината тразодона в составе разработанного лекарственного средства, не снижая эффективности действия препарата, обеспечивает полное устранение или, как минимум, существенное подавление выраженности основных побочных эффектов, регистрируемых у всех медицинских препаратов с ТР, в которых он традиционно используется в свободном виде или в виде гидрохлорида.