

АНОТАЦІЯ

Мартинишин В. П. Фармако-токсикологічна оцінка та лікувальна ефективність препарату на основі S-похідної 1,2,4-тріазолу за дерматомікозів у собак. – Кваліфікаційна освітньо-наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового рівня доктора філософії за напрямом підготовки 21 – «ветеринарна медицина», спеціальність 211 – «ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Міністерства освіти і науки України, Львів, 2020.

Дисертаційна робота присвячена розробці та впровадженню у практику ветеринарної медицини нового протигрибкового препарату у формі лініменту з включенням до складу цієї м'якої лікарської форми, в якості діючої речовини, тіопохідної 1,2,4-тріазолу – (4-((5-децилтіо)-4-метил-4Н-1,2,4-тріазолу-3іл)метил) морфоліну, а за формоутворювальну основу використано стандартизовану олію розторопші плямистої (*Silybum marianum*, L.). На етапі фармакологічних досліджень з'ясовано фізико-хімічні властивості складників та лікарської форми в цілому (розчинність, схильність до кристалізації, стійкість, стабільність), які б забезпечували технологічні вимоги щодо її виготовлення і зберігання та оцінку протимікробної і протигрибкової дії, залежно від концентрації лікарської речовини. Визначено, що за цими характеристиками кращий ефект має 10 %-ий лінімент, який був використаний нами в подальших фармакологічних і токсикологічних дослідженнях під тимчасовою назвою «Дермовет», а в наступному, цей препарат отримав назву «ВетМікоДерм». За вивчення властивостей ВетМікоДерму при тривалому його зберіганні підтверджено, що свіжоприготовлений 10 %-ий лінімент,

виготовлений за принципом нелеткого олійного розчину, є прозорим із жовтуватим відтінком. У процесі зберігання (12 міс.) інтенсивність колірного показника в препараті не була вищою за еталон В₉. При цьому, рН досліджуваної м'якої лікарської форми впродовж періоду спостереження знаходилась у межах 5,9-6,1, що характеризує відсутність у ній будь-яких фізичних чи хімічних реакцій між компонентами. Хроматографічними дослідженнями підтверджено, що концентрація діючої речовини у 10 %-му лініменті впродовж зберігання знаходилась у допустимих межах і коливалась від 9,7 до 10,17 %. У лікарській формі не виявлено механічних включень, а відсоток супутніх домішок був незначним (0,17-0,35 %). Відсутність хімічної взаємодії між тіопохідною тріазолу і олією з насіння розторопші та кукурудзи (для порівняння), що підтверджено піками мас-спектрів для цієї речовини, є показником її стабільності незалежно від базової формоутворюючої речовини.

За визначення параметрів гострої токсичності препарату «ВетМікоДерм» встановлено, що його DL₅₀ для лабораторних щурів за внутрішньошлункового введення становить 15833,2 мг/кг м.т. і за вимогами СОУ 85.2-37-736:2011 досліджуваний засіб належить до малотоксичних речовин (4-ий клас токсичності). За хронічної інтоксикації щурів упродовж систематичного і тривалого (14 діб) задавання лініменту через зонд у дозах від 1/50 до 1/10 DL₅₀ загибель піддослідних тварин не наступала, функціональний стан їх був задовільним, рефлекторна діяльність збережена, відхилень у поведінкових реакціях не відзначено. За подальших досліджень, у тому числі гематологічних і біохімічних, виявлено, що більшість величин, які характеризують функціональний стан кровотворної і гепатобіліарної систем, на тлі дії стосованого препарату, не зазнавали вірогідних змін порівняно з контролем. За тривалого поступлення в організм щурів найвищої дози створеного нами лініменту (1/10 DL₅₀) виявлено незначне зростання індексу маси печінки, легень і серця. На тлі нейтрофільного лейкоцитозу відсоток лімфоцитів у крові тварин цієї групи був на 9,4 % нижчим, а вміст загального холестеролу в сироватці крові

на 15-у добу експерименту та активність ЛДГ і ЛФ – вірогідно зростали ($P < 0,05-0,01$).

За вивчення кумулятивних властивостей ВетМікоДерму в умовах «субхронічної токсичності» встановлено, що 9-ти добове задавання препарату в наростаючих дозах не спричиняло загибелі тварин та прояву клінічних ознак інтоксикації. Коефіцієнт кумуляції знаходився на рівні 1,22 (за цим показником препарат належить до сполук, що не володіють здатністю до кумуляції). До окремих відхилень, порівняно із щурами контрольної групи, за результатами гематологічних і біохімічних досліджень віднесено вірогідне зниження рівня глюкози в сироватці крові ($P < 0,01$) та підвищення в ній вмісту креатиніну і загального холестеролу ($P < 0,01$; $P < 0,05$). Активність АлАТ, АсАТ, ЛФ і ЛДГ теж вірогідно зростала ($P < 0,05-0,001$), порівняно з контрольною групою. За цих умов, виявлені зміни носили короткотерміновий характер і за припинення задавання препарату у піддослідних щурів гематологічні і досліджувані біохімічні константи не виходили за межі лімітованих та аналогічних у тварин контрольної групи.

Оцінюючи параметри токсичності лініменту «ВетМікоДерм» встановлено, що як одно- так і багаторазове його нанесення на шкіру не викликає загибелі лабораторних щурів, появи токсичних явищ, почервоніння чи алергічної реакції на місці аплікації препарату. З урахуванням вимог УГС (GРС) досліджуваний засіб належить до 5-ої категорії (клас 5, не класифікується). За тривалого (але обмеженого в часі) нанесення 10-ти кратних терапевтичних доз цього препарату на шкіру піддослідних щурів виявлено, що він сприяє зниженню відсотка лімфоцитів у крові, дещо підвищує вміст загального протеїну в сироватці крові та пригнічує показники, які характеризують функціональний стан нирок. Характерніші ознаки побічних ефектів від нанесення впродовж 28-и діб 10-и кратних терапевтичних доз лініменту (500 мг/кг м.т.) відзначено за гістологічних досліджень окремих органів і шкіри.

Встановлено вогнищеву білкову дистрофію в печінці і нирках зворотного характеру, у шкірі – потовщення епідермісу, наявність дрібновогнищевих поліморфноклітинних інфільтратів, порушення мікроциркуляторного русла та гіперплазію сальних залоз у дермі, що можна розцінювати як реакцію-відповідь на дію, хоч і не агресивного, але концентрованого (за діючою речовиною) агенту.

Клінічне випробування препарату «ВетМікоДерм» проведено на безпородних собаках віком 1-6 років, підібраних за принципом аналогів та наявністю в них характерних візуально подібних симптомів ураження шкіри. Ступінь вираження окремих ознак у тварин був різним, але найбільш характерними проявами дерматозу в них були втрата блиску і сухість шкіри, вогнищеве або дифузне випадіння шерсті, гіперемія, ексудація і гіперпігментація шкіри, свербіж, нашарування лусочок білого або сіруватобілого кольору, інколи з появою лупи. Хворі тварини знаходились у стані постійного неспокою, дратівливості, а окремі – намагалися розчухати або розгризати уражену ділянку шкіри. Як правило, на початкових етапах розвитку цієї патології місце ураження було вологим, зіпрілим. На цьому тлі у собак знижувався апетит, вони ставали ослабленими і малорухливими, нерідко від таких тварин віддавало різким неприємним запахом. За лабораторного підтвердження діагнозу «дерматомикоз» лінімент «ВетМікоДерм»

застосовували в якості основного засобу. Його підігрівали на водяній бані (t 35-50⁰C) упродовж 10–20 секунд, легко струшували і наносили тонким шаром на уражені ділянки шкіри 2–3 рази на добу протягом 10–14 діб, у важких випадках (у 3-х тварин площа ураження шкіри грибком була понад 60 %) – до одного місяця. Окрім того, за дуже сильного свербіжу додатково призначався таблетований препарат «Апоквель» або цукрові кубики «Екзекан». У випадках наявності зон зіпрілості чи підвищеної вологості ураженої ділянки використовувалася антибактеріальна присипка (стрептоцид, йодоформ або

ксероформ та цинку оксид). У 2-х собак, що поступили в клініку з ознаками розгризання шкіри, крім цього застосовували препарат «Чемі-спрей».

У процесі лікування позитивну динаміку щодо одужання тварин відзначали вже на 3–4-ту добу лікування (зменшувалося почервоніння шкіри, свербіж та клінічні ознаки запалення). На 10–14-ту доби лікування проявлялися видимі ознаки регенерації шкіри та відновлення шерстного покриву. Щодо тварин із значним (за площею) ураженням шкіри (понад 50 %), то в них курс лікування затягувався, а про повне відновлення шерстного покриву можна було говорити через 28–30 діб. Отже, на тлі ефективної фунгіцидної дії новостворений у формі лініменту препарат «ВетМікоДерм» проявляє також протизапальну, протисвербіжну, регенеративну і ранозагоювальну дію.

Крем «Тріосан», використаний нами в якості препарату порівняння, теж забезпечував ранозагоювальний ефект, однак процес повного виздоровлення тварин був, в середньому, на 3-4 доби тривалішим.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено новий препарат з протигрибковою дією «ВетМікоДерм», діючою речовиною якого є тіопохідна 1,2,4-тріазолу, а формоутворюючою – стандартизована олія розторопші плямистої (*Silybum marianum*, L.). Обґрунтовано технологію приготування такого лініменту за принципом нелеткого олійного розчину із визначенням оптимальної рецептури щодо конкретних вагових і об'ємних його складових. Уперше досліджено фізико-хімічні властивості новоствореного препарату, його стійкість до розшарування, стабільність у процесі зберігання і залежно від розчинників. В умовах доклінічних досліджень на лабораторних тваринах (щурі) з'ясовано параметри гострої і підгострої токсичності ВетМікоДерму за внутрішньошлункового та нашкірного застосування, а також його кумуляційні властивості. За результатами клінічних випробувань на собаках уперше розроблено схему лікування дерматомікозів з використанням в якості основного терапевтичного засобу препарату «ВетМікоДерм» – запропоновано найбільш

ефективний спосіб нанесення та кратність примінення лікувального засобу, що забезпечує досягнення позитивного результату в найкоротші терміни.

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведених експериментальних досліджень встановлено, що досліджуваний препарат «ВетМікоДерм» є безпечним як за одно-, так і за багаторазових внутрішньошлункового та наскірного застосування його лабораторним тваринам. За параметрами гострої токсичності та коефіцієнтом кумуляції він належить до IV класу токсичності, або малотоксичних сполук. З'ясовано, що лінімент «ВетМікоДерм» має лікувальну ефективність у собак із наскірною патологією грибкової природи. За цих умов препарат проявляє фунгіцидну, протизапальну, протисвербіжну та ранозагоювальну дії. Загоєння шкірних ран із повним відновленням шерстного покриву в собак із дерматомікозами, за дії досліджуваного лініменту, настає на 10-14-у доби. У випадках множинних ушкоджень чи ускладнень, викликаних вторинною патогенною мікрофлорою, курс лікування є дещо довшим (21-28 діб). За результатами досліджень розроблено нормативну документацію на препарат «ВетМікоДерм» (ТУ, методичні рекомендації).

Ключові слова: фармакологія, лінімент «ВетМікоДерм», S-похідна 1,2,4-тріазолу, олія розторопші плямистої, грибки, дерматомікоз, собаки, лабораторні щурі, параметри токсичності, кумуляція.

SUMMARY

***Martynyshyn V.P.* Pharmacotoxicological evaluation and therapeutic efficacy of the drug based on 1,2,4-triazole S-derivative for dermatomycosis in dogs. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.**

The dissertation for obtaining the educational-scientific level of Doctor of Philosophy in the field of preparation 21 - Veterinary Medicine, specialty 211 - "Veterinary Medicine" - Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi, Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2020.

The thesis is devoted to the development and introduction in veterinary medicine practice a new antifungal drug in the form of liniment with the composition of this soft medicinal form as the active substance thio-derivative 1,2,4-triazole – (4((5-decylthio)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)methyl) morpholine, the standardized oil of Milk Thistle (*Silybum marianum*, L) was used as a forming base. At the stage of pharmacological studies it was elucidated the physicochemical properties of the components and dosage forms in general (solubility, crystallization tendency, resistance, stability), which would provide the technological requirements for the manufacture and storage, and evaluation of antimicrobial and antifungal activity, depending on drug concentration. It was determined that according to these characteristics, the best effect is 10% liniment, which was used in further pharmacological and toxicological studies under the temporary name "Dermovet" and in the following, this preparation was called "VetMikoDerm". When studying the "VetMikoDerm" properties while prolonged storage it was confirmed that a freshly prepared liniment 10%, made according to the principle of a nonvolatile oil solution, is transparent with a yellowish tint. During storage (12 months) the colour indicator intensity in the product was not higher than the standard B₉. At the same time, the pH of the studied soft medicinal forms during the period of observation was in the range

of 5.9-6.1, which characterizes the absence of any physical or chemical reactions between the components. Chromatographic studies confirmed that the concentration of active liniment ingredient 10% during storage was within acceptable limits and ranged from 9,7 to 10,17 %. In medicinal form it was not detected any mechanical impurities, and the percentage of related ones was negligible (0,17-0,35 %). The absence of chemical interaction between the thio-derivative triazole and Milk Thistle oil and corn (for comparison), that was confirmed by the mass spectra peaks for this substance which is an indicator of its stability, despite of the underlying forming substances.

When determining the acute parameters toxicity of the "VetMikoDerm" drug it was established that its DL_{50} for laboratory rats for intragastric administration is 15833,2 mg / kg bw., and according to the requirements of SOU 85.2-37-736: 2011 the test agent belongs to low-toxic substances (4th toxicity class). While chronic intoxication of rats during systematic and long-term (14 days) administration of liniment through a probe in doses from 1/50 to 1/10 DL_{50} , there was not any tdeath of the experimental animals, their functional status was satisfactory, reflex activity was preserved, deviations in behavioral responses were not noted. In further studies, including hematological and biochemical studies, it was revealed that most of the values characterizing the functional state of the hematopoietic and hepatobiliary systems did not undergo significant changes in comparison with the control drug. For prolonged uptake by rats of the highest liniment dose produced by us (1/10 DL_{50}) it was revealed a slight increase in the index of liver, lung, and heart mass. At the background of neutrophilic leukocytosis, the percentage of lymphocytes in the blood of animals of this group was 9,4% lower, and the serum total cholesterol level on the 15th day of the experiment and the activity of LDH and LF-increased significantly ($P < 0,05-0,01$).

When studying "VetMikoDerm" cumulative properties in the conditions of "subchronic toxicity" it was established that the 9th days drug uptaking in increasing doses did not cause the death of animals and signs of no intoxication. The cumulation

coefficient was at 1,22 (this indicator refers to compounds that do not have the ability to cumulate).

Some deviations, compared with the rats of the control group, according to the results of hematological and biochemical studies include a significant decrease in glucose serum ($P < 0.01$) and increase in its creatinine level and total cholesterol ($P < 0,01$; $P < 0,05$). The activity of ALT, S-ASAT, ALP, and LDH was also significantly increased ($P < 0,05-0,001$) compared to control. However, the detected changes were short-term nature and, if the drug was discontinued in experimental rats, the hematologic and biochemical constants did not go beyond the limits and were analogous in the control group of animals.

Assessing the toxicity parameters of the liniment "VetMikoDerm" it was established that its single and repeated application to the skin does not cause death of laboratory rats, occurrence of toxic phenomena, redness or allergic reaction at the site of application of the drug. Based on the requirements of the GPC the test agent belongs to the 5th category (class 5, not classified).

With long-term (but limited in time) application of 10 therapeutic doses of this drug on the skin of experimental rats, it was found that it contributes to the reduction of the percentage of lymphocytes in the blood, slightly increases the content of total protein in the serum and suppresses the functional characteristics of the kidneys. More characteristic signs of side effects from the application for 28 days 10 multiple therapeutic doses of liniment (500 mg / kg bw) were noted according to histological examination of particular organs and skin. It was found focal protein liver and kidneys dystrophy of the opposite nature, in the skin - thickening of the epidermis, the presence of small-focal polymorpho cellular infiltrates, disturbances of the microcirculatory bed and hyperplasia of the sebaceous glands in the dermis, which can be regarded as a reaction-response to an action, though not an aggressive but concentrated (active substance).

Clinical trial of the drug "VetMikoDerm" was performed on outbred dogs aged 1-6 years, selected on the principle of analogues and the presence of characteristic

visually similar symptoms of skin lesions. The degree of severity of individual symptoms in the animals was different, but the most characteristic manifestations of dermatosis were loss of gloss and dry skin, campfire or diffuse hair loss, hyperemia, exudation and hyperpigmentation of the skin, itching, layering flakes of white or grayish-white colour, sometimes with dandruff. Sick animals were in a constant state of worry, irritability, and some have tried to scratch or chew the affected area of the skin. As a rule, in the initial stages of development of this pathology site of lesion was wet, sweaty. At this background, the appetite of dogs decreased, they become weakened and sedentary, often from such animals gave a sharp unpleasant odor. For laboratory confirmation of the diagnosis of "ringworm" liniment "VetMikoDerm" was used as the primary means. It was heated on a water bath (t 35-50⁰C) for 10-20 seconds, easily shaken and applied in a thin layer to the affected skin 2-3 times a day for 10-14 days in severe cases (in 3 animals the lesion area of the skin fungus was more than 60 %) to one month. In addition, for very severe itching additionally appointed preformed drug "Apokvel" or sugar cubes "Ekzekan". In the cases of splost zones or high humidity of the affected area it was used antibacterial powder (streptocid, iodoform or xeroform and zinc oxide). By the way, in addition to this, the drug "Chemi-spray" was given to 2 dogs that were enrolled in the clinic with signs of cracking of the skin.

During the treatment, positive dynamics of the animals was observed already on the 3-4-th day of treatment (decreased redness, itching and signs of inflammation). On 10-14th days of the treatment it was manifested visible signs of skin regeneration and hair restoration. Nevertheless, the treatment was delayed if to talk about animals with a significant (area) skin involvement (50 %), but full recovery was to be expected after 28-30 days. So, at the background of the effective fungicidal action created in the form of liniment drug "VetMikoDerm" also shows anti-inflammatory, anti allergic, regenerative and healing effect.

"Triosan" cream used as a comparison, is also provided a wound-healing effect, however, the healing process of the animals were 3-4 days longer, on average.

The scientific novelty of the obtained results. It was developed a new drug with antifungal action, "VetMikoDerm", ingredient of which is thio-derivative 1,2,4triazole and the standardized oil of Milk Thistle (*Silybum marianum*, L) was used as a forming base. It was also justified the technology of preparation of this liniment on the principle of a nonvolatile oil solution with the best possible recipes regarding specific weight and volume components. For the first time it was investigated the physico-chemical properties of new drug, its resistance to delamination, stability during storage depending on the solvents. In terms of preclinical studies on laboratory animals (rats) it was clarified the parameters of acute and subacute toxicity of "VetMikoDerm" for intragastric and cutaneous application and its cumulating properties. According to the results of clinical trials on dogs for the first time the scheme of treatment of ringworm using as the primary therapeutic agent of the drug "VetMikoDerm" – offered the most effective method of application and frequency of application of the therapeutic agent that provides a positive outcome in the shortest possible time.

The practical significance of the results obtained. Based on the experimental studies, it was established that the investigated preparation "VetMikoDerm" is safe for both single and multiple intragastric and cutaneous application to its laboratory animals. According to the parameters of acute toxicity and cumulation coefficient, it belongs to the IV class of toxicity, or low-toxic compounds. It has been found that liniment "VetMikoDerm" has therapeutic efficacy in dogs with skin pathology of fungal nature. In this case, it has fungicidal, anti-inflammatory, antipruritic and wound healing effects. Healing of skin wounds with complete restoration of the hair in dogs with dermatomycosis, under the action of the studied liniment, occurs on the 10-14th day. In the case of multiple injuries or complications caused by secondary pathogenic microflora, the course of treatment is somewhat longer (21-28 days). The regulatory documentation for the drug "VetMikoDerm" was developed according to the results of the research (TC, guidelines).

Keywords: liniment "VetMikoDerm", S-derivative of 1,2,4-triazole, milk thistle oil, fungi, dermatomycosis, dogs, laboratory rats, toxicity parameters, cumulation.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Статті у наукових фахових виданнях України,
включених до міжнародних наукометричних баз даних*

1. **Мартинишин, В. П.;** Гунчак, В. М.; Гутій, Б. В.; Глух, О. С. До методики приготування лініменту на основі тіопохідної тріазолу та його оцінка за фізичними властивостями і дією на окремі мікроорганізми та грибки. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького 2017, 19(82), с 36–40. doi:10.15421/nvlvet8208. *(Дисертант опрацював методичні підходи щодо конструювання м'яких лікарських форм, провів експериментальні дослідження, опрацював отримані результати та підготував статтю до публікації).*

2. **Мартинишин, В. П.** Дослідження параметрів гострої і підгострої токсичності лініменту «ВетМікоДерм» за нашкірного застосування. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького 2019, 20(92), с 59-63. doi:10.32718/nvlvet9212.

3. **Мартинишин, В. П.** Гістоструктура внутрішніх органів та шкіри щурів за довготривалої дії препарату «ВетМікоДерм». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. 2019, 21(94), с 136–141. doi:10.32718/nvlvet9425.

*Статті у науковому фаховому виданні України,
включеному до наукометричної бази даних «Web of Science»*

4. Hunchak, V. M.; **Martynyshyn, V. P.;** Gutyj, B. V.; Hunchak, A. V.; Stefanyshyn, O. M.; & Parchenko, V. V. Impact of 1,2,4-thio-triazole derivativebased liniment on morphological and immunological blood parameters of dogs suffering from dermatomycoses. Regulatory Mechanisms in Biosystems 2020, 11(2), p 294–

298. doi:10.15421/022044. *(Дисертант провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати, підготував статтю до друку).*

*Статті у наукових фахових виданнях інших держав,
включених до наукометричних баз даних «Scopus» і «Web of Science»*

5. Shcherbyna, R.; Parchenco, V.; **Martynyshyn, V.**; Hunchak, V. Evaluation of acute and subacute toxicity of oil liniment based on 4-((5(decylthio)-4-methyl-4H1,2,4 triazol – 3 IL) methyl) morpholine. J.Fac. Pharm. Ankara 42(1), 2018, pp 43– 49. doi: 10.1501/Eczfak-0000000601. *(Дисертант провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати, підготував статтю до друку).*

6. **Martynyshyn, V. P.**; Hunchak, V. M.; Yaroshenko, A. I.; Parchenco, V. V.; Shcherbyna, R. O.; Panacenco, V. V.; Hunchak, A. V. Chromagraphic Research of Liniment which Active Substance Belongs To New Detivaties of 1,2,4-Triazole. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 2019, RJPBCS. 10(1), pp 806-811. *(Дисертант провів експериментальні дослідження, проаналізував отримані результати, підготував статтю до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

7. **Martynyshyn, V.**; Hunchak, V.; Parchenco, V.; Gutyi, B.; Shcherbyna, R. Evaluation of a new antifungal drug cumulative powers based on 1,2,4-Triazole derivatives. Miedzynarodowa Konferencja naukowa Lwowsko-wroclawska szkola weterynaryjna (Lwow-Wroclaw 2018), 2018, p 113-118. doi: 4.6.2018. *(Дисертант виконав експериментальну частину роботи, провів обробку та аналіз даних, підготував статтю до друку).*

Патенти України на корисну модель

8. Книш, Є. Г.; Панасенко, О. І.; Парченко, В. В.; Щербина, Р. О.; Гунчак, В. М.; **Мартинишин, В. П.** (Запорізький державний медичний університет). Спосіб одержання 4-((5-децилтіо-4Н-1,2,4-тріазолу-3-ІЛ)метил) морфоліну. Патент України U2017 08903; опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2. *(Здобувач провів дослідження, отримав нові дані та брав участь в оформленні документів на патент).*

9. **Мартинишин, В. П.**; Гунчак, В. М.; Панасенко, О. І.; Парченко, В. В.; Щербина, Р. О. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького). Спосіб лікування дерматологічних захворювань. Патент України U2019 04928; опубл. 10.12.2019. Бюл. № 23. *(Здобувач провів дослідження, отримав нові дані та оформив документи на патент).*

Технічні умови на препарат

10. Технічні умови України. ТУ У 21.2–00492990–017:2020. Лінімент «ВетМікоДерм». **Мартинишин, В.П.**; Гунчак, В.М.; Парченко, В.В.; Панасенко, О.І. *(Дисертант виконав експериментальну частину роботи та брав участь у розробці технічних умов).*