

Научная статья

УДК 619.616.995

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-3-386-399>

Биотрансформация фенбендазола в организме овец после введения твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с арабиногалактаном

Иван Алексеевич Архипов¹, Михаил Владимирович Арисов²,
Салават Самадович Халиков³, Павел Павлович Кочетков⁴

^{1,2,4} Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва, Россия

³ Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

¹ arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

² director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

³ salavatkhaliakov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4736-5934>

⁴ pkochetkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6688-5540>

Аннотация

Цель исследований – изучение биотрансформации фенбендазола в организме овец после введения твердой дисперсии фенбендазола (ТДФ), полученной по механохимической технологии с арабиногалактаном.

Материалы и методы. ТДФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ назначали овцам перорально. Пробы сыворотки крови животных исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) с целью определения концентрации фенбендазола (ФБЗ) и его метаболитов сульфоксида и сульфона через 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 33, 48 и 72 ч после введения ТДФ и исходного ФБЗ (субстанции). Содержание остаточных количеств ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец определяли через 1, 3, 6, 11 и 21 сут после введения препаратов. Описана пробоподготовка и валидация метода.

Результаты и обсуждение. Получена значительная разница в метаболизме, фармакокинетике и сроках выведения ФБЗ и его метаболитов после введения овцам базового препарата (субстанции ФБЗ) и ТДФ в равной дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. ФБЗ и его метаболиты начали обнаруживать в сыворотке крови через 2 ч после введения ТДФ и через 4 ч после применения базового ФБЗ. Фармакокинетические параметры ФБЗ и его метаболитов характеризуют большую концентрацию препарата в крови и более продолжительное время его удержания в кровотоке после введения ТДФ по сравнению с показателями базового препарата. Максимальную концентрацию ФБЗ и его метаболитов обнаруживали в органах и тканях овец, получивших ТДФ на третьи сутки в количестве в печени ФБЗ $4862,3 \pm 296,2$; сульфоксида $18243,5 \pm 486,1$ и сульфона $2482,3 \pm 132,4$ нг/г, а после введения базового ФБЗ на шестые сутки – в десятикратной меньшей концентрации. ФБЗ и его метаболиты не обнаруживали в органах и тканях овец на 16-е сутки после применения базового ФБЗ и на 21-е сутки после введения ТДФ.

Ключевые слова: фенбендазол, твердая дисперсия, сульфоксид, сульфон, фармакокинетика, сроки выведения, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, овцы

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует.



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Для цитирования: Архипов И. А., Арисов М. В., Халиков С. С., Кочетков П. П. Биотрансформация фенбендазола в организме овец после введения твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с арабиногалактаном // Российский паразитологический журнал. 2023. Т. 17. № 3. С. 386–399.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-3-386-399>

© Архипов И. А., Арисов М. В., Халиков С. С., Кочетков П. П., 2023

Original article

Biotransformation of fenbendazole in sheep after administration of fenbendazole solid dispersion prepared by mechanochemical technique with arabinogalactane

Ivan A. Arkhipov¹, Michail V. Arisov², Salavat S. Khalikov³, Pavel P. Kochetkov⁴

^{1,2,4} All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV” (VNIIP – FSC VIEV), Moscow, Russia

³ A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of the RAS, Moscow, Russia

¹ arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

² director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

³ salavatkhalikov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4736-5934>

⁴ pkochetkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6688-5540>

Abstract

The purpose of the research is to study the biotransformation of fenbendazole in the body of sheep after administration of fenbendazole solid dispersion (FSD) prepared by mechanochemical technique with arabinogalactan.

Materials and methods. The FSD at a dose of 2.0 mg/kg for the active substance was administered orally to sheep. Animal blood serum samples were studied by high performance liquid chromatography / tandem mass spectrometry (HPLC-TMS) to determine the concentration of fenbendazole (FBZ) and its sulfoxide and sulfone metabolites at 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 33, 48 and 72 hours after administered FSD and initial FBZ (substance). FBZ and its metabolite residual quantity in the organs and tissues of the sheep was determined at 1, 3, 6, 11, and 21 days after the drug administration. The prepared sample and validated method were described.

Results and discussion. A significant difference was found in the metabolism, pharmacokinetics, and timing of the FBZ and its metabolite elimination after the base drug (FBZ substance) and FSD were administered to sheep in an equal dose of 2.0 mg/kg for the active substance. FBZ and its metabolites began to be detected in blood serum 2 hours after the FSD and 4 hours after the base FBZ. Pharmacokinetic parameters of FBZ and its metabolites characterize a higher drug concentration in the blood and a longer retention time in the circulation after the FSD as compared with the base drug parameters. The FBZ and its metabolite maximum concentration was found in the organs and tissues of the sheep that received the FSD on day 3 in the liver amount of 4862.3±296.2 ng/g of FBZ; 18243.5±486.1 ng/g of sulfoxide; and 2482.3±132.4 ng/g of sulfone; and tens of times lower concentration after the base FBZ on day 6. FBZ and its metabolites were not detected in the organs and tissues of the sheep on day 16 after the base FBZ, and on day 21 after the FSD.

Keywords: fenbendazole, solid dispersion, sulfoxide, sulfone, pharmacokinetics, elimination time, liquid chromatography, mass spectrometry, sheep

Acknowledgements. The study was supported financially by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

Financial transparency: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests.

For citation: Arkhipov I. A., Arisov M. V., Khalikov S. S., Kochetkov P. P. Biotransformation of fenbendazole in sheep after administration of fenbendazole solid dispersion prepared by mechanochemical technology with arabinogalactan. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2023;17(3):386–399. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-3-386-399>

© Arkhipov I. A., Arisov M. V., Khalikov S. S., Kochetkov P. P., 2023

Введение

Наиболее часто применяемым препаратом для лечения гельминтозов животных является фенбендазол (ФБЗ), который обладает широким спектром действия, включая нематод и цестод. Препарат эффективен в дозе 7,5–10 мг/кг против нематод, 15 мг/кг против легочных простотронгирид, в дозе 100 мг/кг против *Fasciola spp.* и *Dicrocoelium dendriticum* [1, 12]. На плотоядных животных доза препарата составляет 50 мг/кг трехкратно. ФБЗ безопасен в применении и не токсичен для животных, за исключением редких случаев диареи и рвоты [26, 30].

Антигельминтная активность препарата против трихоцефал ниже, чем против других нематод. В химическом отношении ФБЗ представляет собой 5-(фенистио)-2 бензимидазол карбамат. Механизм действия ФБЗ заключается в ингибировании активности фумарат редуктазы, снижении усвояемости гликогена в кишечнике гельминтов и нарушении микротубулярной функции и митохондриального метаболизма. ФБЗ ограниченно абсорбируется в желудочно-кишечном тракте животных из-за слабой растворимости в воде. При введении внутрь ФБЗ абсорбируется в желудочно-кишечном тракте и метаболизируется путем окисления в микросомах печени до сульфоксида ФБЗ (ФБЗ-SO) и сульфона ФБЗ (ФБЗ-SO₂) [26, 30].

Согласно биофармацевтической системе классификации, ФБЗ относится к IV классу препаратов со слабой биодоступностью и плохой растворимостью и плохо адсорбируется слизистой оболочкой кишечника [29]. Этот факт приводит к снижению антигельминтной эффективности и требованию повышения дозы препарата для лечения гельминтозов. Использование механохимической технологии и метода комплексации «гость-хозяин» приводит к повышению растворимости, усвояемости, биодоступности и антигельминтной активности ФБЗ и изменению его фармакологических свойств [14]. Твердые

дисперсии фенбендазола (ТДФ) с натриевой солью глицерризиновой кислоты, поливинилпирролидоном, полученные методами механохимической технологии, показали повышение антигельминтной эффективности [2–4]. Результаты изучения физико-химических свойств ТДФ показали повышение растворимости, снижение размеров частиц, разрушение кристаллической структуры и образование аморфного состояния с включением антигельминтика в парах полимера после механохимической обработки [8, 9].

Целью наших исследований было изучение влияния механохимической обработки ФБЗ с арабиногалактаном (АГ) на фармакокинетику и биотрансформацию ФБЗ и его метаболитов в организме овец после перорального введения ТДФ в уменьшенной дозе 2 мг/кг по ДВ.

Материалы и методы

Аналитический стандарт ФБЗ (99%) произведен Changzhou Yabang Pharmaceuticals (Jiangsu, Китай). Аналитические стандарты сульфоксида ФБЗ и сульфона ФБЗ (чистота $\geq 99\%$), арабиногалактан, муравьиная кислота для ВЖХ/МС, формиат аммония (97%) получены от Sigma-Aldrich (Дармштадт, ФРГ), ацетонитрил для ВЖХ – от фирмы КристоХром (С.-Петербург, РФ), гидроксид аммония, этилацетат – от фирмы Chimmed (Москва). Все другие растворители, реагенты были в аналитически реагентном состоянии.

Приготовление ТДФ проводили в одну стадию механохимического процесса ФБЗ и водорастворимого полимера АГ (1 : 9) в шаровой мельнице LE-101 (Венгрия) в течение 4 ч при 60 оборотов в мин, в подвижной среде с металлическими шарами диаметром 23 мм и массой 110 г. Полученный порошок в форме ТД при смешивании с водой превращался в супрамолекулярный комплекс.

Фармакокинетические исследования проводили на 48 овцах в двух опытах. За 3 месяца

до опыта животных не дегельминтизировали. Баранчиков в возрасте 7–8 месяцев массой тела 32,3–38,2 кг перед опытом для акклиматизации содержали в течение 7 сут в станках. Кормили овец два раза в день, согласно зоотехнических норм, водой обеспечивали вволю. Всех животных каждый час в течение 12 ч после введения ТДФ и ежедневно в течение опыта осматривали для выяснения переносимости препарата [5]. Опыты проводили в соответствии с правилами хорошей лабораторной практики РФ [7].

Биотрансформацию ФБЗ и его метаболитов в организме овец изучали на 36 баранчиках в возрасте 6–8 месяцев, массой тела 31,6–35,3 кг, которые были разделены на две равноценные группы по 18 животных в каждой. Животные первой группы получали перорально ТДФ в форме 10%-ного порошка с водой в дозе 20 мг/кг, что соответствовало 2,0 мг/кг по ДВ. Овцы второй группы получали базовый препарат – субстанцию ФБЗ в дозе 2,0 мг/кг. На 1, 3, 6, 11, 16 и 21-е сутки после введения препаратов по три животных из каждой группы были убиты. Образцы мышечной ткани, сердца, легких, почек, печени, кожи/жира и фекалий по 30 г брали отдельно от каждого животного, помещали в пластмассовые контейнеры и хранили до анализов в холодильнике при температуре -20°C.

Определение концентрации ФБЗ и его метаболитов в экстрактах биоматриц овец проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ МС/МС) с использованием данных, полученных ранее [6, 11, 13, 15]. Для этого использовали жидкостной хроматограф высокого давления Agilent 1290 (Agilent Technologies, США) с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (QQQ), управляемый с помощью программы «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition Triple Quadrupole Version B.06.00B.06.00». Оптимальные параметры хроматографирования были достигнуты при следующих условиях: градиентный режим подачи подвижной фазы (компонент элюента А – 5 мМ формиата аммония в воде; компонент элюента В – 5 мМ муравьиной кислоты в ацетонитриле); скорость подачи элюента – 0,3 мл/мин; колонка – Kromasil Eternity XT 2.5-C 18, 2.1 × 100 мм (диаметр сорбента 2,5 мкм), предколонка – Kromasil Eternity 2.1 × 10 мм; объем вводимой пробы – 5 мкл; температура термостата колонки 30°C.

Раствор 5 мМ формиата аммония в воде готовили следующим образом: в мерную колбу объемом 100 мл помещали навеску формиата аммония массой 0,0315 г, добавляли деионизированную воду (2/3 объема), тщательно перемешивали до полного растворения вещества, затем доводили до метки деионизированной водой. Для приготовления 5 мМ раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле в мерную колбу объемом 100 мл помещали 18,8 мкл муравьиной кислоты, добавляли ацетонитрил (до 2/3 объема), тщательно перемешивали, доводили до метки ацетонитрилом.

Детектирование аналитов и внутреннего стандарта осуществляли в режиме записи сигналов выбранных ионных реакций (MRM) при работе электроспрея в отрицательном режиме (ESI-), температуре ионизации 350 °C, потоке газа 10 л/мин, давлении небулайзера 40 psi и напряжении +/- 5000 В.

Для приготовления основных стандартных растворов аналита взвешивали по 0,01 г ФБЗ, ФБЗ сульфоксида и сульфона и растворяли их в 10 мл ацетонитрила, получая раствор с концентрацией 1 мг/мл.

Промежуточные стандарты аналита готовили из основных методом смешения и разбавления до достижения концентрации 100 мкг/мл в ацетонитриле. Концентрации промежуточных стандартных образцов составляли 0,5; 2,5; 10; 25; 50 и 100 мкг/мл для каждого из аналитов.

Калибровочные образцы ФБЗ, ФБЗ сульфоксида, ФБЗ сульфона в органах и тканях готовили путем добавления к 1 г (990 мкл для сыворотки крови) гомогенизированного биоматериала, помещенного в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл, 10 мкл соответствующего промежуточного раствора аналита (0,5; 2,5; 10; 25; 50 и 100 мкг/мл) до достижения концентраций 5, 25, 100, 250, 500 и 1000 нг/г. После этого стандартные образцы вортиксовали в течение 10 с и оставляли в покое в течение 30 мин. перед использованием при комнатной температуре. Стандартные образцы использовали свежеприготовленными.

Подготовку проб органов и тканей и сыворотки крови к анализу проводили следующим образом. Отбирали навеску 1,0 г (1,0 мл для сыворотки крови) гомогенизированного биоматериала в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл. Затем добавляли 7 мл этила-

цетата, содержащего 1% (об/об) аммиака водного, вортиксовали и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 10 мин. при 550 об/мин., центрифугировали 5 мин. при 9000 об/мин. Экстракты отбирали в чистые полипропиленовые пробирки объемом 15 мл, добавляли 3 мл гексана (кроме образцов сыворотки крови), вортиксовали и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 10 мин. при 550 об/мин. Затем образцы центрифугировали 5 мин. при 9000 об/мин., отбрасывали гексановую фракцию, этилацетатную фракцию переливали в чистые полипропиленовые пробирки. Упаривали при 50 °С в токе азота. Сухой остаток растворяли в 1 мл подвижной фазы, проводя обработку образцов в УЗ-ванне при комнатной температуре в течение 5 мин., центрифугировали при 12000 об/мин., фильтровали через шприцевые фильтры и переносили в виалу объемом 1 мл для последующего хроматографирования.

Валидацию методики количественного определения ФБЗ сульфоксида, ФБЗ сульфона и ФБЗ выполняли в соответствии с руководствами [16, 18, 19) по показателям: линейность, степень извлечения, специфичность, прецизионность, правильность (точность), пределы количественного и качественного определения [14, 27].

Для количественного определения ФБЗ сульфоксида, ФБЗ сульфона и ФБЗ методом MRM было проведено исследование распада ионов под действием бомбардирующего потока молекул азота с последующим разрешением продуктов распада (методика MS/MS).

Для построения калибровочных зависимостей отношений величин MRM-сигналов аналитов от концентраций в биоматрицах был выбран диапазон от 5 до 1000 нг/г (нг/мл для сыворотки крови). Экстракты калибровочных стандартных образцов инжескировались в хромато-масс-спектрометрическую систему поочередно (от меньшей к большей концентрации) по 3 инжески на уровень.

Коэффициенты интерполяции найденных линейных зависимостей использовали в дальнейшем при определении содержания аналитов в опытных образцах органов и тканей овец, а также в контрольных образцах биоматриц.

Метрологические характеристики методики оценивали по содержанию аналитов в контрольных образцах биоматриц овец [10,

14, 16, 18, 19]. Для эксперимента были использованы несколько стандартных образцов биоматриц (контрольных стандартных образцов, QC) аналита на низком (5 нг/г, LQC), среднем (250 нг/г, MQC) и высоком (1000 нг/г, HQC) уровнях концентраций. На протяжении исследования (в разные дни) были проведены измерения концентраций аналитов в трех сериях контрольных образцов (по 3 инжески каждого QC).

Данную методику использовали для идентификации ФБЗ и его метаболитов в модельных пробах и образцах биологических матриц овец для установления параметров фармакокинетики и определения остаточных количеств ФБЗ в органах и тканях овец после применения супрамолекулярного комплекса фенбендазола.

Результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы SAS/Stat № 9.4 SAS System for Windows. Обсчеты полученных фармакокинетических кривых проводили с использованием однокамерной модели на ПО Microsoft Excel PKSolver 2.0 [31].

Результаты и обсуждение

Полученные результаты изучения фармакокинетики ФБЗ и его метаболитов в организме овец, приведенные в таблице 1, указывают на значительную разницу в кинетике ФБЗ и его метаболитов после введения базового препарата и ТДФ в равной дозе по 2,0 мг/кг по ДВ. Концентрация ФБЗ была установлена в сыворотке крови овец через 2 ч после введения ТДФ и только через 4–6 ч после назначения базового ФБЗ. Содержание ФБЗ и его метаболитов было в 2,5–4,8 раза выше в сыворотке крови овец после введения ТДФ. Максимальная концентрация ФБЗ и его метаболитов составила 54,3; 61,4 и 51,3 нг/мл соответственно. Концентрация ФБЗ, ФБЗ-SO и ФБЗ-SO₂ в сыворотке крови овец была максимальной через 33 ч после введения ТДФ и составила соответственно 54,3; 61,4 и 51,3 нг/мл, ФБЗ, ФБЗ-SO и ФБЗ-SO₂ после применения базового препарата – 23,1; 16,1 и 18,4 нг/мл соответственно. В последующие сроки исследования содержание ФБЗ и его метаболитов снижалось и после 144 ч базовый препарат не обнаруживался в пробах сыворотки крови, а после введения ТДФ, ФБЗ и его метаболиты не обнаруживали спустя 360 ч.

Таблица 1 [Table 1]

Концентрация фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения твердой дисперсии фенбендазола и базового фенбендазола
 [The concentration of fenbendazole and its metabolites in the blood serum of sheep after the introduction of solid dispersion of fenbendazole and basic fenbendazole]

Время после введения, ч. [Time after administration, hours]	Концентрация, нг/мл [Concentration, ng/ml]					
	фенбендазола [fenbendazole]		фенбендазол сульфоксида [fenbendazole sulfoxide]		фенбендазол сульфона [fenbendazole sulfone]	
	М	RSD*	М	RSD	М	RSD
<i>Базовый фенбендазол [Base fenbendazole]</i>						
0	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
4	6,7	3,3	-	-	-	-
6	6,8	10,5	6,4	4,4	5,7	4,8
8	6,9	8,1	8,5	8,3	8,6	8,4
12	8,4	21,8	12,6	2,7	13,4	7,0
24	16,5	6,3	19,7	2,2	20,2	4,8
33	23,1	8,2	16,1	5,3	18,4	3,1
48	29,2	7,5	12,5	4,5	15,7	4,0
72	12,4	12,1	9,1	11,2	8,0	10,2
96	3,3	4,5	2,3	3,5	2,4	3,1
144	-	-	-	-	-	-
288	-	-	-	-	-	-
360	--	-	-	-	-	-
<i>Твердая дисперсия фенбендазола [Fenbendazole solid dispersion]</i>						
0	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
2	8,6	9,4	6,4	6,2	7,5	9,7
4	11,3	10,4	15,2	18,4	8,0	8,2
6	18,5	21,3	15,4	16,0	12,8	13,6
8	24,2	23,6	17,2	18,8	20,1	16,0
12	32,3	30,8	25,6	26,2	21,4	21,6
24	38,8	36,5	30,1	31,7	30,2	26,4
33	54,3	54,3	61,4	62,0	51,3	47,6
48	49,5	41,0	38,3	41,6	42,5	44,6
72	44,4	42,4	24,5	23,6	30,8	26,6
96	26,2	23,4	8,5	7,1	12,2	11,6
144	12,1	12,4	-	-	-	-
288	6,4	5,3	-	-	-	-
360	-	-	-	-	-	-

Примечание [Note]. * RSD - относительное стандартное отклонение [relative standard deviation], %

Фармакокинетические параметры фенбендазола и его метаболитов свидетельствуют о значительном повышении (в 2,5 раза) скорости абсорбции и поступления ФБЗ в кровь после введения ТДФ по сравнению с показателем базового препарата (табл. 2, 3). Время всасывания в кровь половины введенной дозы ТДФ составило 13,91 ч, а базового ФБЗ 26,53

ч. Существенная разница (в 5,0 раз) получена по показателю клиренса. Также отмечено повышение в 2,57; 2,53 и 2,26 раза максимальной концентрации соответственно ФБЗ, сульфона и сульфоксида ФБЗ в крови овец после применения ТДФ. О высокой скорости метаболизма ФБЗ после введения ТДФ указывают следующие показатели: площадь под кривой

«концентрация действующего вещества – время»; площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до ∞ ; площадь под кривой «произведение времени на концентрацию препарата, тС». Установлено повышение в 2,6; 2,5 и 2,4 раза значения показателя площади под кривой концентрация-время после назначения ТДФ по сравнению с базовым препаратом; значения

AUMC ФБЗ, сульфоксида и сульфона были превышены в 7,1; 3,8 и 4,6 раза соответственно в сравнении с показателями базового препарата. Среднее время удержания в системном кровотоке после введения ТДФ для ФБЗ составило 371,34 ч, для сульфоксида – 67,14 ч и 81,23 ч для сульфона фенбендазола по сравнению с показателями животных, получавших базовый препарат: соответственно 61,1; 55,1 и 57,1 ч.

Таблица 2 [Table 2]

Фармакокинетические параметры фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения твердой дисперсии фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг
[Pharmacokinetic parameters of fenbendazole and its metabolites in the blood serum of sheep after the introduction of solid dispersion of fenbendazole at a dose of 2.0 mg/kg]

Параметр [Parameter]	Значение параметра для [Parameter value for]					
	фенбендазола [fenbendazole]		сульфоксида [sulfoxide]		сульфона [sulfone]	
	М	RSD	М	RSD	М	RSD
k_a , ч ⁻¹	0,062	43,4	0,032	2,0	0,0236	4,6
k_{10} , ч ⁻¹	0,0094	112,4	0,0264	3,6	0,0230	3,7
$t_{1/2ka}$, ч	13,91	53,8	23,23	1,9	26,29	4,8
$t_{1/2k10}$, ч	236,2	102,6	23,82	3,6	28,43	3,6
V, л/кг	27,48	36,7	16,82	4,9	16,92	4,8
CL, л/ч	0,18	78,4	0,5	5,6	0,41	8,2
T_{max} , ч	42,84	11,9	32,14	2,6	40,12	4,2
C_{max} , нг/мл	50,66	4,6	42,16	4,2	41,18	4,9
AUC _{0-t} , нг/мл.ч	3086,23	3,7	2431,61	4,3	2438,12	4,8
AUC _{0-inf} , нг/мл.ч	20673,83	85,2	3987,6	5,3	4714,17	8,6
AUMC, нг/мл.ч ²	1293272,7	129,4	269683	7,2	374367	12,6
MRT, ч	371,34	94,8	67,14	2,6	81,23	4,2

Примечание [Note]. М – средняя величина [mean value]; RSD – относительное стандартное отклонение [relative standard deviation], %; k_a – константа скорости абсорбции [absorption rate constant]; k_{10} – константа элиминации [elimination constant]; $t_{1/2ka}$ – время всасывания в кровь 1/2 введенной дозы [time of absorption into the blood 1/2 of the administered dose]; $t_{1/2k10}$ – время исчезновения из организма лекарства путём биотрансформации и экскреции 1/2 введённой или поступившей и всосавшейся дозы [the time of disappearance of the drug from the body by biotransformation and excretion of 1/2 of the administered or received and absorbed dose]; V – объем распределения [volume of distribution]; CL – клиренс [clearance]; C_{max} – максимальная концентрация [maximum concentration]; T_{max} – время достижения максимальной концентрации [time to reach maximum concentration]; AUC_{0-t} – площадь под кривой «концентрация-время» [area under the concentration-time curve]; AUC_{0-inf} – площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до ∞ [area under the curve "concentration of the active substance – time" in the time interval from 0 to ∞]; AUMC – площадь под кривой «произведение времени на концентрацию препарата [the area under the curve "the product of time and the concentration of the drug]; MRT – среднее время удержания вещества в системном кровотоке [mean retention time of a substance in the systemic circulation]

Результаты изучения динамики выведения ФБЗ и его метаболитов из органов и тканей овец после применения ТДФ и базового препарата – субстанции ФБЗ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ свидетельствуют о значительной разнице в концентрации ФБЗ, сульфоксида и сульфона ФБЗ в органах и тканях овец и динамике выведения из организма животных (табл. 4, 5). Максимальная концентрация ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после применения ТДФ установ-

лена на третьи сутки. Содержание ФБЗ, а также сульфоксида и сульфона было максимальным в печени овец на третьи сутки после введения ТДФ и составило соответственно 4862,3±296,2; 18248,5±481,1 и 2482,3±132,4 нг/г. В последующие сроки исследований концентрация ФБЗ и его метаболитов значительно снизилась, а на 11 и 16-е сутки в печени обнаруживали только сульфоксид ФБЗ. В почках овец после применения ТДФ в максимальной концентрации ФБЗ

Таблица 3 [Table 3]

Фармакокинетические параметры фенбендазола и его метаболитов в сыворотке крови овец после введения базового фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг

[Pharmacokinetic parameters of fenbendazole and its metabolites in the blood serum of sheep after administration of basic fenbendazole at a dose of 2.0 mg/kg]

Параметр [Parameter]	Значение параметра для [Parameter value for]					
	фенбендазола [fenbendazole]		сульфоксида [sulfoxide]		сульфона [sulfone]	
	М	RSD	М	RSD	М	RSD
$k_d, \text{ч}^{-1}$	0,0248	6,7	0,03672	1,7	0,0354	3,4
$k_{10}, \text{ч}^{-1}$	0,0235	3,3	0,0336	3,6	0,0327	3,2
$t_{1/2ka}, \text{ч}$	26,53	6,7	18,36	1,8	19,06	3,3
$t_{1/2k10}, \text{ч}$	29,52	6,1	20,16	3,5	20,62	3,1
V, л/кг	38,46	2,1	46,1	2,4	41,86	1,6
CL, л/ч	0,9	6,6	1,56	3,4	1,40	3,6
$T_{max}, \text{ч}$	40,64	6,3	27,58	2,5	28,67	3,2
$C_{max}, \text{нг/мл}$	19,68	1,7	16,67	1,8	18,19	1,7
$AUC_{0-t}, \text{нг/мл.ч}$	1153,02	1,6	923,14	2,0	1008,12	1,8
$AUC_{0-\infty}, \text{нг/мл.ч}$	2216,22	7,0	1254,8	3,3	1416,32	3,5
AUMC, нг/мл.ч ²	180483	13,5	70124	5,7	81824	6,6
MRT, ч	61,12	6,3	55,14	2,6	57,16	3,2

Примечание [Note]. См. примечание к таблице 2 [See note to table 2].

обнаруживали на первые и третьи сутки, сульфон ФБЗ – на третьи сутки и сульфоксид ФБЗ – на третьи и шестые сутки. В мышцах и сердце овец, получавших ТДФ, ФБЗ и его метаболиты находили только в первые трое суток, а в образцах жира – в течение 6 сут. ФБЗ обнаруживали в легочной ткани на первые и третьи сутки после введения ТДФ, а сульфоксид определяли на 1, 3, 6 и 11-е сутки. ФБЗ выделяется с фекалиями овец в течение 11 сут после применения ТДФ с максимумом на первые и третьи сутки. Сульфон обнаруживали в фекалиях в течение 6 сут, а сульфоксид ФБЗ – в течение 16 сут. Однако, в первые сутки после применения ТДФ сульфоксид ФБЗ не обнаруживали в фекалиях.

ФБЗ и его метаболиты в органах и тканях овец после введения базового ФБЗ в дозе 2,0 мг/кг в органах и тканях овец были в десятки раз в меньшей концентрации. ФБЗ обнаруживали в органах и тканях (кроме фекалий) только на первые и третьи сутки после обработки овец базовым препаратом и в печени – на шестые сутки в незначительном количестве, а сульфон ФБЗ находили в органах и тканях овец в течение 6 сут с максимумом на третьи сутки. Сульфоксид ФБЗ находили в органах и тканях в течение 6 сут, а в печени и фекалиях – на 11-е сутки. ФБЗ и его метаболиты обна-

руживали в фекалиях овец с 3 по 11-е сутки после применения препарата.

Полученные результаты указывают на значительное повышение концентрации ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после введения ТДФ за счет более быстрой абсорбции и поступления ФБЗ в органы и ткани животных.

Нами отмечено влияние повышения концентрации ФБЗ и его метаболитов в крови, органах и тканях овец на антигельминтную активность. ТДФ в дозе 2,0 мг/кг проявила 98,0%-ную эффективность против желудочно-кишечных стронгилят овец, а базовый препарат – субстанция ФБЗ в этой дозе показала 15,0%-ную активность [2]. Изменения показателей фармакокинетики ФБЗ и его метаболитов в организме овец после применения ТДФ обусловлено также повышением в 21 раз растворимости препарата в воде. При этом увеличивается всасываемость ФБЗ в пищеварительном тракте, о чем свидетельствует повышение концентрации препарата в крови, органах и тканях овец.

Как известно, основным способом проникновения бензимидазолов в организм нематод является пассивная диффузия через кутикулу, которая зависит от липофильности препарата [22, 24, 25]. С повышением растворимости

Таблица 4

Концентрация фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях овец после введения твердой дисперсии фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг (n = 4)
 [The concentration of fenbendazole and its metabolites in the organs and tissues of sheep after the introduction of solid dispersion of fenbendazole at a dose of 2.0 mg/kg (n = 4)]

Время, сутки [Time, days]	Метаболит [Metabolite]	Концентрация (нг/г) в органах и тканях [Concentration (ng/g) in organs and tissues]							
		Почки [Kidneys]	Печень [Liver]	Мышечная ткань [Muscle]	Подкожный жир [Subcutaneous fat]	Сердце [Heart]	Легкие [Lungs]	Фекалии [Feces]	
1	Фенбендазол [Fenbendazole]	694,2±53,7	3082,4±212,4	365,6±28,2	1048,2±65,6	1062,4±61,8	1098,2±70,6	781,4±8,2	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	62,4±5,8	267,5,2±138,7	75,4±7,7	82,4±9,1	25,2±3,1	698,1±53,4	<LOQ	
	Сульфон [Sulfone]	362,7±19,7	682,4±45,4	31,9±3,7	136,4±9,6	103,4±9,4	184,2±20,6	19,5±2,2	
3	Фенбендазол [Fenbendazole]	719,3±30,2	4862,3±296,2	375,2±40,4	162,7±11,9	1452,4±41,8	134,8±15,2	478,3±31,7	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	104,2±7,6	18243,5±486,1	89,1±8,6	54,4±6,7	248,6±16,8	97,8±9,6	146,2±12,6	
	Сульфон [Sulfone]	529,2±25,6	2482,3±132,4	119,8±9,6	117,4±7,5	271,3±17,8	67,3±6,8	247,4±19,8	
6	Фенбендазол [Fenbendazole]	13,4±3,1	152,4±11,2	<LOQ	3,4±0,6	<LOQ	<LOQ	99,7±9,6	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	297,2±11,2	3172,4±165,2	<LOQ	4,4±1,6	<LOQ	194,4±20,6	190,7±21,4	
	Сульфон [Sulfone]	207,6±10,7	19,6±3,5	<LOQ	7,0±0,8	<LOQ	5,1±0,8	6,4±1,0	
11	Фенбендазол [Fenbendazole]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	13,8±1,0	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	<LOQ	121,3±9,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	14,2±2,0	636,4±41,3	
	Сульфон [Sulfone]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
16	Фенбендазол [Fenbendazole]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	<LOQ	15,8±2,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	76,3±9,1	
	Сульфон [Sulfone]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
21	Фенбендазол и его метаболиты [Fenbendazole and its metabolites]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	

Примечание [Note]. LOQ – предел количественного определения вещества – 1 нг/г [Limit of quantitative determination of the substance – 1 ng/g]

Таблица 5

Концентрация фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях овец после введения базового препарата – фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг (n = 4)
[The concentration of fenbendazole and its metabolites in the organs and tissues of sheep after the introduction of the base drug - fenbendazole at a dose of 2.0 mg/kg (n = 4)]

Время, сутки [Time, days]	Метаболит [Metabolite]	Концентрация (нг/г) в органах и тканях [Concentration (ng/g) in organs and tissues]								Легкие [Lungs]	Фекалии [Feces]
		Почки [Kidneys]	Печень [Liver]	Мышечная ткань [Muscle]	Подкожный жир [Subcutaneous fat]	Сердце [Heart]	Почки [Kidneys]	Печень [Liver]	Мышечная ткань [Muscle]		
1	Фенбендазол [Fenbendazole]	26,2±4,2	68,6±8,1	32,3±4,2	24,6±5,5	15,7±3,3	16,8±3,0	<LOQ	<LOQ		
	Сульфоксид [Sulfoxide]	10,8±2,2	145,6±13,2	21,2±2,4	9,3±2,4	3,7±0,8	25,6±4,1	<LOQ	<LOQ		
	Сульфон [Sulfone]	32,6±4,3	70,8±8,7	7,2±2,0	5,7±0,9	12,4±1,5	22,0±3,5	<LOQ	<LOQ		
3	Фенбендазол [Fenbendazole]	21,4±3,2	127,4±12,0	26,5±3,7	32,1±4,4	31,2±9,6	11,5±1,2	46,8±5,5			
	Сульфоксид [Sulfoxide]	18,2±2,2	310,0±21,4	11,4±2,0	7,6±0,9	25,2±3,5	2,4±1,0	26,4±3,7			
	Сульфон [Sulfone]	52,3±6,6	146,2±13,7	14,1±2,1	11,9±1,1	26,4±3,7	7,1±0,8	30,8±3,6			
6	Фенбендазол [Fenbendazole]	<LOQ	12,3±1,6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	21,5±3,1	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	16,5±2,4	123,5±21,2	5,5±0,7	5,4±0,6	7,5±0,9	6,2±0,7	26,3±3,2			
	Сульфон [Sulfone]	27,3±3,4	7,0±1,1	<LOQ	5,2±0,6	<LOQ	13,1±1,5				
11	Фенбендазол [Fenbendazole]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,7±0,8	
	Сульфоксид [Sulfoxide]	<LOQ	15,6±1,8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	12,7±8,0	13,1±2,0			
	Сульфон [Sulfone]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ		
16	Фенбендазол и его метаболиты [Fenbendazole and its metabolites]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
	Фенбендазол и его метаболиты [Fenbendazole and its metabolites]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
21	Фенбендазол и его метаболиты [Fenbendazole and its metabolites]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
	Фенбендазол и его метаболиты [Fenbendazole and its metabolites]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	

Примечание [Note]. См. примечание к таблице 4 [See note to table 4]

ТДФ, вероятно, повышается и его проницаемость и концентрация в тканях гельминтов.

Hansen et al. [20] показали, что оксфендазол достигает *Trichuris suis* после абсорбции из желудочно-кишечного тракта, проникает в ткани гельминтов через систему кровообращения и энтероциты; сульфон ФБЗ может попадать в ткани гельминтов аналогичным образом, возможно, с участием энтерогепатической циркуляции. Отмечена корреляция между концентрацией сульфоксида ФБЗ в плазме, в содержимом желудочно-кишечного тракта и тканях паразита. Метаболит сульфон обнаруживается в плазме не ранее, чем через 15 мин после применения препарата, т. е. происходит образование сульфона из сульфоксида за счет реакции окисления, который катализируется микросомальными ферментами печени животных [17, 18]. Также этот процесс между плазмой крови и пищеварительным трактом происходит благодаря энтерогепатической циркуляции и реабсорбции через желудочно-кишечный тракт жвачных, что обеспечивает длительное антигельминтное воздействие на гельминтов [21, 23].

Полученные нами результаты подтверждают, что после применения овцам ТДФ значительно повышается концентрация ФБЗ в крови животных по сравнению с дачей базового препарата – субстанции ФБЗ, что, по нашему мнению, обусловлено механохимической технологией и вследствие этого повышением растворимости, уменьшением размеров и структуры частиц субстанции.

Об изменении уровня метаболизма ФБЗ в организме животных свидетельствует увеличение продолжительности удержания ФБЗ в крови овец, получавших ТДФ. Значительное повышение концентрации ФБЗ и его метаболитов в органах и тканях овец после введения ТДФ происходит за счет более быстрой абсорбции и поступления ФБЗ в органы и ткани животных, что приводит в конечном результате к повышению антигельминтной эффективности.

Список источников

1. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применения. М., 2009. 415 с.
2. *Варламова А. И., Данилевская Н. В., Архипов И. А., Халиков С. С., Чистяченко Ю. С., Душкин А. В.* Эффективность комплекса фенбендазола, полученного путем механохимической технологии и адресной доставки // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* 2015. № 7. С. 13-16.
3. *Варламова А. И., Архипов И. А., Садов К. М., Халиков С. С.* Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола против нематод при комбинированном и производственном испытании // *Российский паразитологический журнал.* 2020. Вып. 14, № 2. С. 93-97. DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-2-93-97
4. *Душкин А. В., Сунцов Л. Р., Халиков С. С.* Механохимическая технология для повышения растворимости препаратов // *Фундаментальные исследования.* 2013. Т. 1, № 2. С. 448-457
5. *Кондрахин И. П.* Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М.: КолосС, 2004. 520 с.
6. *Кочетков П. П., Варламова А. И., Абрамов В. Е., Мисюра Н. С., Абрамова Е. В., Абрамов С. В., Кошеваров Н. И., Архипов И. А.* Определение фенбендазола и его метаболитов в крови коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Российский паразитологический журнал.* 2016. Т. 38, № 4. С. 554-562.
7. Приказ МЗ РФ 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».
8. *Халиков С. С., Чистяченко Ю. С., Душкин А. В., Метелева Е. С., Поляков Н. Э., Архипов И. А., Варламова А. И., Гламаздин И. Г., Данилевская Н. Е.* Создание антигельминтных препаратов повышенной эффективности на основе межмолекулярных комплексов действующих веществ с водорастворимыми полимерами, в том числе полисахаридами // *Химия в интересах устойчивого развития.* 2015. Т. 23, № 5. С. 567-577.
9. *Халиков С. С., Локишин Б. Ф., Ильин М. М., Варламова А. И., Архипов И. А.* Твердые дисперсии бензимидазольных препаратов в паразитологии // *Материалы докладов Международной научной конференции Всероссийского общества гельминтологии РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями».* 2019. Вып. 20. С. 663-670.
10. *Эпштейн Н. А.* Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) // *Химикофармацевтический журнал.* 2004. Т. 38, № 4. С. 40-56.
11. *Almeida M. P., Rezende C. P., Ferreira F. D., Souza L. F., Assiss D. C., Figueiredo N. C., Oliveira L. M., Cancado S. V.* Optimization and validation method to evaluate the residues of [3-lactams and tetracyclins] in Jddney Aissue by UPLC-MS/MS. *Talanta.* 2015; 144. 922-932.
12. *Campbell W. C., Rew R. S.* Chemotherapy of parasitic diseases New York and London: Springer, 1986; 655.
13. *Chen D., Tao Y., Zhang H., Pan Y., Liu Z., Huang L., Wang Y., Peng D., Wang X. Dai M., Yuan Z.*

- Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pressurized liquid extraction method for the determination of benzimidazole residues in edible tissues. *J. Chromatogr.* 2011; B 879: 1659-1667.
14. *Chiap P., Boulanger B., Dewe W., Crommem Y., Hubert P., Pharm J.* An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progress and limitations. *Biomed. Anal.* 2003; 32. 753-765.
 15. *Danaher M., De Ruyck H., Crooks R., Dowling G., O'Keeffe M.* Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007; 845. 1-37.
 16. European Medicines Agency. Guideline on validation of bioanalytical y methods. Committee for Medicinal Products for Human Use. London, 2009.
 17. *Gottschal D. W., Theodorides V. Y.* The metabolism of benzimidazole anthelmintics. *Parasitol. Today.* 1990; 6. 119-124.
 18. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens. A commitment to quality and continuous improvement. Laboratory and Scientific Section United Nations Office On Drugs And Crime. Vienna, 2009.
 19. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. C, Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). Biopharmaceutics, 2018.
 20. *Hansen T. V. A., Williams A. R., Denwood M. Nejsun P., Thamsborg S. M., Friis C.* Pathway of oxfendazole from the host into the worm: *Trichuris suis* in pigs. *Drugs and Drug Resistance.* 2017; 7 (4): 416-424.
 21. *Hennessy D. R., Steel Y. M., Prichard R. K.* Biliary secretion and enterohepatic recycling of fenbendazole metabolites in sheep. *Vet. Pharmacol. Ther.* 1993; 16. 132-140.
 22. *Ho N. F. H., Geary T. G., Barsuhn C. L., Sims S. M., Thompson D. P.* Mechanistic studies in the transcuticular delivery of antiparasitic drugs II: ex vivo/in vitro correlation of solute transport by *Ascaris suum*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1992; 52. 1-13.
 23. *Lanusse C. E.* Pharmacokinetics of anthelmintic drugs in ruminants: integrated assessment of their tissue disposition, metabolism and diffusion into target parasites. In: 14th Biennial Symposium of the American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. USA, Rockville. 2005; 181.
 24. *Mottie M. L., Alvarez L. J., Pis M. A., Lanusse C. E.* Transtegumental diffusion of benzimidazole anthelmintics into *Moniezia benedeni*: correlation with their octanol-water, partition coefficients. *Exp. Parasitol.* 2003; 103. 1-7.
 25. *Mottie M. L., Alvarez L. J., Ceballos L., Lanusse C. E.* Drug transport mechanisms in helminth parasites: passive diffusion of benzimidazole anthelmintics. *Exp. Parasitol.* 2006; 103. 1-7.
 26. *Riviere J. E., Papich M. G.* Veterinary pharmacology and therapeutics. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. 2009; 317.
 27. *Schechtman L. M.* Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34. Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments. 2008; 14. 475-782.
 28. *Short C. R., Flory W., Hsieh L. C., Barker S. A.* The oxidative metabolism of fenbendazole: a comparative study. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1988; 11. 50-55.
 29. The Biopharmaceutics classification system (BCS) guidance, available at <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucml28219.htm>
 30. *Trambo S. R., Shahardar R. A., Alloie J. M. et al.* Efficacy of ivermectin, closantel and fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep in Kashmir valley. *J. Parasit. Dis.* 2017; 41 (2): 380-382. <https://doi.org/10.1007/s12639-016-0810-5>
 31. *Zhangs Y., Huo M., Zhou J., Xie S.* PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Computer methods and programs in biomedicine.* 2010; 99 (3): 306-314.

Статья поступила в редакцию 23.04.2023; принята к публикации 10.07.2023

Об авторах:

Архипов Иван Алексеевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkhipovhelm@mail.ru

Арисов Михаил Владимирович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор РАН, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Халиков Салават Самадович, Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (119991, Москва, ул. Вавилова, 28), Москва, Россия, доктор технических наук, ORCID ID: 0000-0002-4736-5934, salavatkhaliakov@mail.ru

Кочетков Павел Павлович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0001-6688-5540, pkochetkov@gmail.com

Вклад соавторов:

Архипов Иван Алексеевич – анализ и обсуждение полученных результатов.

Арисов Михаил Владимирович – оценка полученных результатов.

Халиков Салават Самадович – химический анализ полученных результатов.

Кочетков Павел Павлович – проведение масс-спектрометрии.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. Moscow, 2009; 415. (In Russ.)
2. Varlamova A. I., Danilevskaya N. V., Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Chistyachenko Yu. S., Dushkin A. V. The efficacy of the fenbendazole complex prepared by mechanochemical technology and targeted delivery. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya = Veterinary Medicine, zootechnics and biotechnology*. 2015; 7: 13-16. (In Russ.)
3. Varlamova A. I., Arkhipov I. A., Sadov K. M., Khalikov S. S. Efficacy of the Supramolecular Complex of Fenbendazole Against Nematodes in a Commission and Production Test. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (2): 93-97. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-2-93-97>
4. Dushkin A. V., Suntsov L. R., Khalikov S. S. Mechanochemical technique to increase the preparation solubility. *Fundamental'nyye issledovaniya = Fundamental Research*. 2013; 1 (2): 448-457. (In Russ.)
5. Kondrakhin I. P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics. Moscow: KolosS, 2004; 520. (In Russ.)
6. Kochetkov P. P., Varlamova A. I., Abramov V. E., Misura N. S., Abramova E. V., Abramov S. B., Koshevarov N. I., Arkhipov I. A. Determination of fenbendazole and its metabolites in milk by the method of liquid chromatography coupled with tandem massspectrometry. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 38 (4): 554-562. (In Russ.)
7. Order 199n by the Russian Ministry of Healthcare dated April 01, 2016 On Approval of Good Laboratory Practice Rules.
8. Khalikov S. S., Chistyachenko Yu. S., Dushkin A. V., Meteleva E. S., Polyakov N. E., Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Glamazdin I. G., Danilevskaya N. E. Preparation of anthelmintics with increased efficacy based on intermolecular complexes of active substances with water-soluble polymers including polysaccharides. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya = Chemistry for Sustainable Development*. 2015; 23 (5): 567-577 (In Russ.)
9. Khalikov S. S., Lokshin B. F., Ilyin M. M., Varlamova A. I., Arkhipov I. A. Solid dispersions of benzimidazole preparations in parasitology. *Proceedings of the International Scientific Conference of the All-Russian Society of Helminthology of the RAS "Theory and practice of parasitic disease control"*. 2019; 20: 663-670. (In Russ.)
10. Epstein N. A. Suitability assessment (validation) of HPLC techniques in pharmaceutical analysis (review). *Chemical and Pharmaceutical Journal*. 2004; 38 (4): 40-56. (In Russ.)
11. Almeida M. P., Rezende C. P., Ferreira F. D., Souza L. F., Assiss D. C., Figueiredo N. C., Oliveira L. M., Cancado S. V. Optimization and validation method to evaluate the residues of [3-lactams and tetracycling in Jddney Aissue by UPLC-MS/MS. *Talanta*. 2015; 144. 922-932.
12. Campbell W. C., Rew R. S. Chemotherapy of parasitic diseases New York and London: Springer, 1986; 655.
13. Chen D., Tao Y., Zhang H., Pan Y., Liu Z., Huang L., Wang Y., Peng D., Wang X. Dai M., Yuan Z. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pressurized liquid extraction method for the determination of benzimidazole residues in edible tissues. *J. Chromatogr.* 2011; B 879: 1659-1667.
14. Chiap P., Boulanger B., Dewe W., Crommem Y., Hubert P., Pharm J. An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progress and limitations. *Biomed. Anal.* 2003; 32. 753-765.
15. Danaher M., De Ruyck H., Crooks R., Dowling G., O'Keeffe M. Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007; 845. 1-37.
16. European Medicines Agency. Guideline on validation of bioanalytical y methods. Committee for Medicinal Products for Human Use. London, 2009.
17. Gottschal D. W., Theodorides V. Y. The metabolism of benzimidazole anthelmintics. *Parasitol. Today*. 1990; 6. 119-124.
18. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used

- for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens. A commitment to quality and continuous improvement. Laboratory and Scientific Section United Nations Office On Drugs And Crime. Vienna, 2009.
19. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. C, Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). Biopharmaceutics, 2018.
 20. Hansen T. V. A., Williams A. R., Denwood M. Nejsum P., Thamsborg S. M., Friis C. Pathway of oxfendazole from the host into the worm: *Trichuris suis* in pigs. *Drugs and Drug Resistance*. 2017; 7 (4): 416-424.
 21. Hennessy D. R., Steel Y. M., Prichard R. K. Biliary secretion and enterohepatic recycling of fenbendazole metabolites in sheep. *Vet. Pharmacol. Ther.* 1993; 16. 132-140.
 22. Ho N. F. H., Geary T. G., Barsuhn C. L., Sims S. M., Thompson D. P. Mechanistic studies in the transcuticular delivery of antiparasitic drugs II: ex vivo/in vitro correlation of solute transport by *Ascaris suum*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1992; 52. 1-13.
 23. Lanusse C. E. Pharmacokinetics of anthelmintic drugs in ruminants: integrated assessment of their tissue disposition, metabolism and diffusion into target parasites. In: *14th Biennial Symposium of the American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. USA, Rockville. 2005; 181.
 24. Mottie M. L., Alvarez L. J., Pis M. A., Lanusse C. E. Transtegumental diffusion of benzimidazole anthelmintics into *Moniezia benedeni*: correlation with their octanol-water, partition coefficients. *Exp. Parasitol.* 2003; 103. 1-7.
 25. Mottie M. L., Alvarez L. J., Ceballos L., Lanusse C. E. Drug transport mechanisms in helminth parasites: passive diffusion of benzimidazole anthelmintics. *Exp. Parasitol.* 2006; 103. 1-7.
 26. Riviere J. E., Papich M. G. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. Hoboken: 9th ed.: Wiley Blackwell. 2009; 317.
 27. Schechtman L. M., Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34. *Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments*. 2008; 14. 475-782.
 28. Short C. R., Flory W., Hsieh L. C., Barker S. A. The oxidative metabolism of fenbendazole: a comparative study. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1988; 11. 50-55.
 29. The Biopharmaceutics classification system (BCS) guidance, available at <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucml28219.htm>
 30. Trambo S. R., Shahardar R. A., Alloie J. M. et al. Efficacy of ivermectin, closantel and fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep in Kashmir valley. *J. Parasit. Dis.* 2017; 41 (2): 380-382. <https://doi.org/10.1007/s12639-016-0810-5>
 31. Zhangs Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Computer methods and programs in biomedicine*. 2010; 99 (3): 306-314.

The article was submitted 23.04.2023; accepted for publication 10.08.2023

About the authors:

Arkhipov Ivan A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkhipovhelm@mail.ru

Arisov Michail V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Doctor of Veterinary Sciences, RAS Professor, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Khalikov Salavat S., A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of the RAS (28, Vavilova st., Moscow, 119991), Moscow, Russia, Doctor of Engineering Sciences, ORCID ID: 0000-0002-4736-5934, salavatkhalikov@mail.ru

Kochetkov Pavel P., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, ORCID ID: 0000-0001-6688-5540, pkochetkov@gmail.com

Contribution of co-authors:

Arkhipov Ivan A. – analysis and discussion of the results.

Arisov Michail V. – evaluation of the results.

Khalikov Salavat S. – chemical analysis of the results.

Kochetkov Pavel P. – mass spectrometry.

All authors have read and approved the final manuscript.