

УДК 619:615.015.4

DOI: 10.31016/1998-8435-2021-15-2-64-71

Оригинальная статья

Фармакологическая активность и адресная доставка супрамолекулярного фенбендазола, полученного по механохимической технологии с различными компонентами

Анастасия Ивановна Варламова¹, Иван Алексеевич Архипов¹,
Владислав Евгеньевич Абрамов¹, Михаил Владимирович Арисов¹,
Салават Самадович Халиков², Александр Валерьевич Душкин³

¹Всероссийский 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», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: arsphoeb@mail.ru

²Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 28, e-mail: salavatkhalikov@mail.ru

³Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН, 630128, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, 17

Поступила в редакцию: 15.02.2021; принята в печать: 15.03.2021

Аннотация

Цель исследований – изучение влияния различных компонентов на адресную доставку фенбендазола и оценка их эффективности на мышах, экспериментально зараженных *Trichinella spiralis*.

Материалы и методы. В опыте использовали 80 белых мышей, экспериментально инвазированных *T. spiralis*, в дозе по 200 личинок на голову. Каждой группе животных по 10 гол. вводили внутривентрикулярно однократно твердую дисперсию фенбендазола (ТДФ) с поливинилпирролидоном (ПВП), арабиногалактаном (АГ), натриевой солью глицирризиновой кислоты (Na₂ГК), диоктилсульфосукцинатом натрия (ДССН), экстрактом солодки (ЭС) и гидроксиэтилкрахмалом (ГЭК) в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ в сравнении с субстанцией фенбендазола в этой же дозе. Контрольная группа животных препарат не получала. На основании результатов вскрытий тонкого кишечника мышей на вторые сутки после применения препаратов оценивали антигельминтную эффективность. Концентрацию фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием.

Результаты и обсуждение. ТДФ с ПВП, АГ, Na₂ГК, ДССН, ЭС и ГЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ (фенбендазолу) показала на мышах 98,0; 94,9; 96,6; 100; 86,0 и 81,0%-ную активность против кишечных *T. spiralis*. Максимальная концентрация фенбендазола и его метаболитов сульфона и сульфоксида обнаружена в стенке тонкого кишечника животных на вторые сутки после введения ТДФ с ДССН и составила соответственно 3117,8; 614,6 и 2998,6 нг/г. После введения субстанции фенбендазола препарат и его метаболиты обнаружены в следовых количествах.

Ключевые слова: фенбендазол, твердая дисперсия, мыши, *Trichinella spiralis*, концентрация, метаболиты, кишечник

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: Варламова А. И., Архипов И. А., Абрамов В. Е., Арисов М. В., Халиков С. С., Душкин А. В. Фармакологическая активность и адресная доставка супрамолекулярного фенбендазола, полученного по механохимической технологии с различными компонентами // Российский паразитологический журнал. 2021. Т. 15. № 2. С. 64–71.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-2-64-71>

© Варламова А. И., Архипов И. А., Абрамов В. Е., Арисов М. В., Халиков С. С., Душкин А. В., 2021

Original article

Pharmacological activity and targeted delivery of supramolecular fenbendazole obtained by mechanochemical technology with various components

Anastasiya I. Varlamova¹, Ivan A. Arkhipov¹, Vladislav E. Abramov¹,
Michael V. Arisov¹, Salavat S. Khalikov², Alexander V. Dushkin³

¹All-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", 28 Bolshaya Chermushkinskaya st., Moscow, 117218, e-mail: arsphoeb@mail.ru

²A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds RAS, 28 Vavilova st., Moscow, 119991, e-mail: salavatkhalikov@mail.ru

³Institute of Solid-State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 17 Kutateladze st., Novosibirsk, 630128

Received on: 15.02.2021; accepted for printing on: 15.03.2021

Abstract

The purpose of the research is studying the influence of various components on the targeted delivery of fenbendazole and evaluation of their efficacy in mice experimentally infected with *Trichinella spiralis*.

Materials and methods. The experiment used 80 white mice experimentally infected with *T. spiralis*, at a dose of 200 larvae per animal. Each group of 10 animals was administered intragastrically solid dispersion of fenbendazole (SDF) with polyvinyl pyrrolidone (PVP), arabinogalactan (AG), disodium salt of glycyrrhizic acid (Na₂GA), sodium dioctyl sulfosuccinate (SDS), licorice extract (LE) and hydroxyethyl starch (HES) at a single dose of 2.0 mg/kg of active substance as compared with the fenbendazole substance at the same dose. The control group did not receive the drug. The anthelmintic efficacy was studied by the results of necropsy of the small intestine of mice on the second day after drugs administration. The concentration of fenbendazole and its metabolites in the small intestine was determined by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection.

Results and discussion. SDF with PVP, AG, Na₂GA, SDS, LE and HES showed 98.0, 94.9, 96.6, 100, 86.0 and 81.0% efficacy against intestinal nematode *T. spiralis* at a dose of 2.0 mg/kg of AS (fenbendazole). The maximum concentration of fenbendazole and its metabolites – sulfone and sulfoxide – was determined in the small intestine wall of animals on the second day after SDF with SDS administration and amounted to 3117.8, 614.6 and 2998.6 ng/g respectively. After fenbendazole substance administration, the drug and its metabolites were found in trace quantity.

Keywords: fenbendazole, solid dispersion, mice, *Trichinella spiralis*, concentration, metabolites, intestine

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

There is no conflict of interests

For citation: Varlamova A. I., Arkhipov I. A., Abramov V. E., Arisov M. V., Khalikov S. S., Dushkin A. V. Pharmacological activity and targeted delivery of supramolecular fenbendazole obtained by mechanochemical technology with various components. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2021; 15 (2): 64–71. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-2-64-71>

© Varlamova A. I., Arkhipov I. A., Abramov V. E., Arisov M. V., Khalikov S. S., Dushkin A. V., 2021

Введение

Профилактика и лечение гельминтозов животных является актуальной задачей в настоящее время в связи с их широкой распространенностью [1, 12]. Разработка принципиально новых противопаразитарных субстанций до уровня лекарственных препаратов и вывода их на фармацевтический рынок достаточно трудоемко и требует больших затрат времени и финансов. Наиболее перспективными являются методы по усовершенствованию уже известных лекарственных субстанций, комбинированию нескольких действующих веществ, модификации их лекарственных форм и адресной доставке к месту фармакологического действия. Большинство современных антигельминтных препаратов вследствие их низкой растворимости плохо абсорбируется и частично выделяется с фекалиями, примером является противопаразитарный препарат из группы бензимидазолов – фенбендазол [15, 18, 19, 22].

Кроме того, проблема устойчивости к антигельминтным средствам становится более серьезной из-за многочисленного и нерационального использования препаратов. Для получения хороших результатов при лечении часто требуются высокие дозы и многократное введение препаратов, что ведет к формированию резистентности и проявлению побочных эффектов [17].

Иммобилизация противопаразитарных препаратов на наночастицах или в них является эффективным способом повышения эффективности и снижения побочных эффектов лекарственных веществ за счет улучшения параметров их биодоступности, замедленного высвобождения и показателей внутриклеточной проницаемости. Исследования, проводимые нами совместно с сотрудниками Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова, Института химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН подтвердили эффективность механохимической технологии для получения твердых дисперсий таких антигельминтных препаратов, как: никлозамид, альбендазол, триклабендазол, празиквантел с вспомогательными веществами (арабиногалактаном, поливинилпирролидоном, глицерризиновой кислотой и пр.) [11, 13, 14, 16, 21]. В предыдущие годы нами испытан супрамолекулярный комплекс

фенбендазола с АГ, ПВП и ДССН, изготовленный по механохимической технологии, и были получены положительные результаты [2, 4–7].

Цель нашей работы – сравнение антигельминтной активности ТДФ с различными компонентами для адресной доставки, в том числе с ПВП, АГ, Na₂ГК, ДССН, ЭС и ГЭК, и определение концентрации фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике мышей, где локализуются *T. spiralis*.

Материалы и методы

ТДФ получали по механохимической технологии с использованием различных компонентов в металлическом барабане валковой шаровой мельницы типа LE-101 объемом 1000 мл [7, 20].

Нематоцидную активность полученных образцов изучали на белых мышах, экспериментально инвазированных *T. spiralis* в возрасте 1,5–2 мес., в дозе 200 личинок на животное [3]. Животных заражали внутрижелудочно введением суспензии с личинками с помощью шприца с канюлей. На третьи сутки после заражения мышам шести подопытных групп (по 10 голов в каждой) вводили перорально однократно ТДФ, полученные с различными компонентами, т. е. с ПВП, АГ, Na₂ГК, ДССН, ЭС или ГЭК. Мыши этих групп получали антигельминтные средства в дозе 2,0 мг/кг по ДВ, т. е. фенбендазолу. Мышам седьмой группы вводили базовый препарат – субстанцию фенбендазола в дозе 2,0 мг/кг. Животные контрольной группы препарат не получали.

Животных убивали методом декапитации на вторые сутки после введения образцов. Антигельминтное действие оценивали на основании результатов гельминтологического вскрытия кишечника, при котором брали соскобы со слизистой оболочки, затем проводили переваривание в растворе искусственного желудочного сока и подсчет обнаруженных трихинелл под бинокулярной лупой. «Контрольный тест» использовали для учета эффективности препаратов с расчетом среднего числа обнаруженных нематод и интенсивности (ИЭ).

Концентрацию фенбендазола и его метаболитов в стенке тонкого кишечника животных изучали методом высокоэффективной

жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. В опытах использовали 7 групп белых мышей по 10 гол. в каждой, которым задавали ТДФ с ПВП, АГ, Na₂ГК, ДССН, ЭС или ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Мыши седьмой группы получали субстанцию фенбендазола в этой же дозе. Контрольная группа животных препарат не получала. На вторые сутки после введения препаратов животных подвергали эвтаназии, и тонкий кишечник изолировали и использовали для определения фенбендазола и его метаболитов. Предварительно образцы хранили в холодильнике при температуре -20°C.

Для определения фенбендазола и его метаболитов: сульфоксида и сульфона в тонком кишечнике мышей применяли методику, описанную ранее [8, 10]. В работе использовали жидкостной хроматограф высокого давления Agilent 1290 с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (QQQ), управляемый с помощью программы «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition

Triple Quadrupole Version B.06.00». Хроматографическое разделение проводили на колонке Kromasil Eternity XT 2,5-C18 (Швеция) размером 2,1 x 100 мм и предколонке Kromasil Eternity C18 размером 2,1 x 10 мм. Детектирование аналитов и внутреннего стандарта осуществляли в режиме записи сигналов выбранных ионных реакций (MRM) для отрицательно заряженных ионов при температуре ионизации 350°C, потоке газа 10 л/мин. и давлении небулайзера 40 psi.

Для статистической обработки данных использовали компьютерную программу SAS № 9.4 Software for Windows и Microsoft Excel PK Solver 2.0 [23]. Среднее число гельминтов подсчитывали с помощью параметрического t-теста для сравнения разницы между лечеными и контрольными группами (P ≤ 0,05).

Результаты и обсуждение

Результаты испытания ТДФ с разными компонентами против *T. spiralis* приведены в таблице 1.

Таблица 1 [Table 1]

Антигельминтное действие ТДФ с различными компонентами при экспериментальном трихинеллезе белых мышей в дозе 2,0 мг/кг по ДВ

[Anthelmintic action of a solid dispersion of fenbendazole with various components in experimental trichinellosis of white mice at a dose of 2.0 mg/kg of AS]

Группа животных [Group of animals]	Антигельминтное средство, его состав [Anthelmintic, its composition]	Число животных в группе [Number of animals in a group]	Обнаружено трихинелл при вскрытии, экз./гол. [Trichinella sp. was found at necropsy, worms / head]	ИЭ, % [Efficacy, %]	Повышение эффекта, раз [Increasing the effect, times]
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : ПВП 1 : 9	10	5,2±0,7	98,0	4,1
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : Na ₂ ГК 1 : 9	10	5,6±0,9	96,6	3,8
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : ДССН 5 : 5	10	0	100	3,9
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : ЭС 1 : 9	10	12,3±1,0	86,0	3,5
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : ГЭК 1 : 9	10	16,6±1,0	81,0	3,3
Подопытная [Experimental]	ФБЗ : АГ 1 : 9	10	4,5±0,8	94,9	3,9
Подопытная [Experimental]	ФБЗ исходный	10	66,3±5,2	24,3	0
Контрольная [Control]	-	10	87,6±6,7	-	-

ТДФ с ПВП в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показала 98,0%-ную эффективность против *T. spiralis*. ТДФ с ДССН, АГ, Na₂ГК, ЭС и ГЭК в дозе по 2,0 мг/кг по ДВ проявили соответственно 100;

94,9; 96,6; 86,0 и 81,0%-ную активность при трихинеллезе. Исходная субстанция фенбендазола в этой дозе оказала 24,3%-ный эффект. У животных контрольной группы, не подвер-

гавшихся лечению, обнаружили в кишечнике, в среднем, по $87,6 \pm 6,7$ экз. *T. spiralis*. Эффективность фенбендазола в форме твердой дисперсии по сравнению с базовым препаратом повысилась в 3,3–4,1 раза.

Нами подтверждены ранее полученные данные о повышенной эффективности ТДФ с полимерами при нематодозах животных [7]. Получение антигельминтной эффективности ТДФ с ПВП, $\text{Na}_2\text{ГК}$ и ДССН обусловлено механохимической технологией, которая обеспечивает измельчение частиц, повышение растворимости и биодоступности препарата [9, 20].

Для выяснения возможности адресной доставки фенбендазола к месту паразитирования нематод, нами изучена концентрация фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике животных на вторые сутки после введения ТДФ с различными полимерами.

Полученные результаты высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием образцов биоматериала мышей после введения ТДФ с различными полимерами в дозе 2,0 мг/кг по ДВ приведены в таблице 2.

Таблица 2 [Table 2]

Содержание фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике мышей на вторые сутки
[The content of fenbendazole and its metabolites in the small intestine of mice on the second day]

ТДФ [Solid dispersion of fenbendazole]	Концентрация, нг/г [Concentration, ng/g]		
	фенбендазола [fenbendazole]	метаболитов [metabolites]	
		сульфона [sulfon]	сульфоксида [sulfoxide]
с ПВП	2966,8	599,8	2704,3
с $\text{Na}_2\text{ГК}$	2541,0	511,6	2411,6
с ДССН	3117,8	614,6	2998,6
с АГ	2754,9	576,3	2651,9
с ГЭК	1634,2	256,4	1316,7
Фенбендазол (субстанция) [Fenbendazole (substance)]	< LOQ*	< LOQ	< LOQ
Контроль [Control]	< LOQ	< LOQ	< LOQ

Примечание. LOQ* – предел количественного определения вещества
[Note. LOQ* – Limit of Quantification of the substance]

Максимальная концентрация фенбендазола и его метаболитов сульфона и сульфоксида в тонком кишечнике животных установлена после введения ТДФ с ДССН. Следует отметить, что наивысшая антигельминтная эффективность получена после применения ТДФ с ДССН, что свидетельствует о лучших свойствах этого комплекса для адресной доставки препарата. Высокое содержание фенбендазола и его метаболитов в тонком кишечнике мышей обнаружили также после введения ТДФ с ПВП и ТДФ с АГ, что коррелирует с высокой их нематодоцидной активностью, а также может, вероятно, свидетельствовать об их высокой концентрации в тканях гельминтов. ТДФ с ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показала наименьшую антигельминтную эффективность, что можно объяснить более низкой концентрацией фенбендазола в кишечнике животных после ее введения.

Заключение

Таким образом, наиболее приемлемыми и перспективными компонентами для адресной доставки фенбендазола являются ДССН, $\text{Na}_2\text{ГК}$ и ПВП, концентрация которых в местах локализации нематод оказалась высокой, и они показали высокое антигельминтное действие при экспериментальном трихинеллезе мышей.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

Литература

- Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 409 с.
- Архипов И. А., Халиков С. С., Душкин А. В., Варламова А. И., Мусаев М. Б., Поляков Н. Э., Чистяченко Ю. С., Садов К. М., Халиков М. С. Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов. Получение и свойства. М.: Новые авторы, 2017. 91 с.

3. Астафьев Б. А., Яроцкий Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. М., 1989. 279 с.
4. Варламова А. И., Лимова Ю. В., Садов К. М., Садова А. К., Белова Е. Е., Радионов А. В., Халиков С. С., Чистяченко Ю. С., Душкин А. В., Скира В. Н., Архипов И. А. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец // Российский паразитологический журнал. М., 2016. Т. 35, Вып. 1. С. 76-81.
5. Варламова А. И. Антигельминтная эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах молодняка крупного рогатого скота // Ветеринария. 2017. № 1. С. 32-35.
6. Варламова А. И., Архипов И. А., Халиков С. С., Душкин А. В., Чистяченко Ю. С., Халиков М. С., Данилевская Н. В. Антигельминтное средство и способ его получения. Патент на изобретение № 2558922 // Бюл. ФИПС. № 22 от 10.08.2015.
7. Варламова А. И. Биологическая активность твердой дисперсии фенбендазола, полученной по механохимической технологии с различными компонентами для адресной доставки // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14, Вып. 1. С. 75-80.
8. ГОСТ 32834-2014. Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антигельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Дата введения 01.01.2016. М.: Стандартинформ, 2015. 20 с.
9. Душкин А. В., Сунцов Л. П., Халиков С. С. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ // Фундаментальные исследования. 2013. № 1 (Ч. 2). С. 448-457.
10. Кочетков П. П., Варламова А. И., Абрамов В. Е., Мисюра И. А., Абрамова Е. В., Абрамов С. В., Кошеваров Н. И., Архипов И. А. Определение фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Российский паразитологический журнал. 2016. № 4. С. 554-562.
11. Лагерева Е. В., Абрамов В. Е., Мусаев М. Б., Халиков С. С. Эффективность супрамолекулярного комплекса на основе албендазола и триклабендазола при фасциолезе и нематодозах пищеварительного тракта овец // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13, № 2. С. 82-88.
12. Сафиуллин Р. Т. Распространение и экономический ущерб от основных гельминтозов жвачных // Ветеринария. 1997. № 6. С. 28-32.
13. Arkhipov I. A., Sadov K. M., Limova Y. V., Sadova A. K., Varlamova A. I., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Chistyachenko Y. S. The efficacy of the supramolecular complexes of niclosamide obtained by mechanochemical technology and targeted delivery against cestode infection of animals. *Veterinary Parasitology*. 2017; 246: 25-29.
14. Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Sadov K. M., Dushkin A. V., Meteleva E. S., Varlamova A. I., Odoevskaya I. M., Danilevskaya N. V. Influence of mechanochemical technology on anthelmintic efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole with polyvinylpyrrolidone. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2019; 6 (1): 133-141.
15. Bossche H., Rochette F., Horig C. Anthelmintic efficacy of fenbendazole. *Vet. Rec.*, 1982; 78 (3): 876-877.
16. Chistyachenko Y. S., Meteleva E. S., Pakharukova M. Y., Katokhin A. V., Khvostov M. V., Varlamova A. I., Glamazdin I. I., Khalikov S. S., Polyakov N. E., Arkhipov I. A., Tolstikova T. G., Mordvinov V. A., Dushkin A. V., Lyakhov N. Z. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and the polysaccharide arabinogalactan from larch wood *Current Drug Delivery*. 2015; 12 (5): 477-490.
17. Claerebout E., Wilde N., Mael E. V., Casaert S., Velde F. V., Roeber F., Veloz P. V., Levecke B., Geldhof P. Anthelmintic resistance and common worm control practices in sheep farms in Flanders, Belgium. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2020; 20. 100393.
18. Duwel D., Strassor H. Effectiveness von fenbendazole bei parasitische Krankheiten. *Dtschr. Tierarztl. Wsch.*, 1978; 85 (2): 239-241.
19. Fenbendazole (WHO Food Additives Series 29) First Draft Prepared by Dr. William C. Keller, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland USA 1.
20. Khalikov S. S., Lokshin B. V., Ilyin M. M., Varlamova A. I., Musaev M. B., Arkhipov I. A. Methods for obtaining solid dispersions of drugs and their properties. *Russ. Chem. Bull.* 2019; 68. 1924-1932.
21. Meteleva E. S., Chistyachenko Y. S., Suntsova L. P., Khvostov, M. V., Polyakov N. E., Selyutina O. Y., Lyakhov N. Z. Disodium salt of glycyrrhizic acid

- A novel supramolecular delivery system for anthelmintic drug praziquantel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019; 50: 66-77.
22. Riviere J. E., Papich M. G. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Wiley-Blackwell., 2009.
 23. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PK Solver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comp. Meth. Programs Biomed*. 2010; 99 (3): 306-314.

References

1. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. M., 2009; 409. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Varlamova A. I., Musaev M. B., Polyakov N. E., Chistyachenko Yu. S., Sadov K. M., Khalikov M. S. Supramolecular complexes of anthelmintic benzimidazole-based drugs. Obtaining and properties. M.: New authors, 2017; 91. (In Russ.)
3. Astafiev B. A., Yarotsky L. S., Lebedeva M. N. Experimental models of parasitoses in biology and medicine. M., 1989; 279. (In Russ.)
4. Varlamova A. I., Limova Yu. V., Sadov K. M., Sadova A. K., Belova E. E., Radionov A. V., Khalikov S. S., Chistyachenko Yu. S., Dushkin A. V., Skira V. N., Arkhipov I. A. Efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole against nematodiasis of sheep. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 35 (1): 76-81. (In Russ.)
5. Varlamova A. I. Anthelmintic efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole against nematodoses of young cattle. *Veterinariya = Journal of Veterinary Medicine*. 2017; 1: 32-35. (In Russ.)
6. Varlamova A. I., Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Chistyachenko Yu. S., Khalikov M. S., Danilevskaya N. V. Anthelmintic agent and production method. Patent for invention No. 2558922. Bulletin of the Federal Institute of Industrial Property. No. 22 dated 10/08/2015.
7. Varlamova A. I. Biological activity of a solid dispersion of fenbendazole obtained by mechanochemical technology with various components for targeted delivery. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (1): 75-80. (In Russ.)
8. GOST 32834-2014. Food products, raw food. Method for determining the residual content of anthelmintics using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry detector. Effective date 01/01/2016. M.: Standartinform, 2015; 20. (In Russ.)
9. Dushkin A. V., Suntsov L. P., Khalikov S. S. Mechanochemical technology for increasing the solubility of medications. *Fundamental'nyye issledovaniya = Fundamental Research*. 2013; 1 (2): 448-457. (In Russ.)
10. Kochetkov P. P., Varlamova A. I., Abramov V. E., Misyura I. A., Abramova E. V., Abramov S. V., Koshevarov N. I., Arkhipov I. A. Detection of fenbendazole and its metabolites in cow's milk by liquid chromatography-mass spectrometry detection. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 4: 554-562. (In Russ.)
11. Lagereva E. V., Abramov V. E., Musaev M. B., Khalikov S. S. Efficacy of the supramolecular complex based on albendazole and triclabendazole against fasciolosis and nematodoses of the digestive tract of sheep. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (2): 82-88. (In Russ.)
12. Safiullin R. T. Spread of and economic damage from main helminthoses of ruminants. *Veterinariya = Journal of Veterinary Medicine*. 1997; 6: 28-32. (In Russ.)
13. Arkhipov I. A., Sadov K. M., Limova Y. V., Sadova A. K., Varlamova A. I., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Chistyachenko Y. S. The efficacy of the supramolecular complexes of niclosamide obtained by mechanochemical technology and targeted delivery against cestode infection of animals. *Veterinary Parasitology*. 2017; 246: 25-29.
14. Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Sadov K. M., Dushkin A. V., Meteleva E. S., Varlamova A. I., Odoevskaya I. M., Danilevskaya N. V. Influence of mechanochemical technology on anthelmintic efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole with polyvinylpyrrolidone. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2019; 6 (1): 133-141.
15. Bossche H., Rochette F., Horig C. Anthelmintic efficacy of fenbendazole. *Vet. Rec*. 1982; 78 (3): 876-877.
16. Chistyachenko Y. S., Meteleva E. S., Pakharukova M. Y., Katokhin A. V., Khvostov M. V., Varlamova A. I., Glamazdin I. I., Khalikov S. S., Polyakov N. E., Arkhipov I. A., Tolstikova T. G.

- Mordvinov V. A., Dushkin A. V., Lyakhov N. Z. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and the polysaccharide arabinogalactan from larch wood *Current Drug Delivery*. 2015; 12 (5): 477-490.
17. Claerebout E., Wilde N., Mael E. V., Casaert S., Velde F. V., Roeber F., Veloz P. V., Levecke B., Geldhof P. Anthelmintic resistance and common worm control practices in sheep farms in Flanders, Belgium. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2020; 20. 100393.
18. Duwel D., Strassor H. Effectiveness von fenbendazole bei parasitische Krankheiten. *Dtschr. Tierarztl. Wsch.*, 1978; 85 (2): 239-241.
19. Fenbendazole (WHO Food Additives Series 29) First Draft Prepared by Dr. William C. Keller, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland USA 1.
20. Khalikov S. S., Lokshin B. V., Ilyin M. M., Varlamova A. I., Musaev M. B., Arkhipov I. A. Methods for obtaining solid dispersions of drugs and their properties. *Russ. Chem. Bull.* 2019; 68. 1924-1932.
21. Meteleva E. S., Chistyachenko Y. S., Suntsova L. P., Khvostov, M. V., Polyakov N. E., Selyutina, O. Y., Lyakhov, N. Z. Disodium salt of glycyrrhizic acid – A novel supramolecular delivery system for anthelmintic drug praziquantel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019; 50. 66-77.
22. Riviere J. E., Papich M. G. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Wiley-Blackwell, 2009.
23. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PK Solver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comp. Meth. Programs Biomed.* 2010; 99 (3): 306-314.