

УДК 619:615.015.4

DOI: 10.31016/1998-8435-2021-15-2-72-79

Оригинальная статья

Кумулятивные свойства и субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола

Анастасия Ивановна Варламова

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

Поступила в редакцию: 15.02.21; принята в печать: 11.04.2021

Аннотация

Цель исследований – изучить кумулятивные свойства и субхроническую токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола (СМКФ).

Материалы и методы. Кумулятивные свойства СМКФ изучали на 20 беспородных белых крысах живой массой 180 г, которых разделили на опытную и контрольную группы по 10 животных в каждой. СМКФ вводили крысам опытной группы внутривенно в течение 24 сут: в первый день в дозе 2000 мг/кг (1/10 от ранее установленной однократной ЛД₅₀ (20000 мг/кг)), затем дозу увеличивали в 1,5 раза через каждые четыре дня. Основным критерием оценки результатов является гибель животных; также учитывали общее состояние и поведение крыс. Субхроническую токсичность изучали на 40 белых крысах-самцах массой тела 220–240 г. Животных разделили на 4 равные группы. Препарат вводили крысам 1, 2 и 3-й опытных групп в дозах соответственно 1/5 (4000 мг/кг), 1/10 (2000 мг/кг) и 1/20 (1000 мг/кг) от ЛД₅₀ (20000 мг/кг) в течение 7 сут ежедневно внутривенно с помощью зонда. Контрольная группа на протяжении всего опыта получала 1 %-ный крахмальный клейстер в соответствующих объемах. В течение опыта проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, приемом корма и воды; учитывали прирост массы тела животных на 1, 3, 5 и 7-е сутки опыта. После окончания введения препаратов животных подвергали эвтаназии методом декапитации. Отбирали пробы крови для определения основных гематологических и биохимических показателей; после вскрытия отбирали образцы внутренних органов (печени, сердца, легких, почек, селезенки) для определения массовых коэффициентов и макроскопических исследований.

Результаты и обсуждение. Установлено, что СМКФ не обладает кумулятивными свойствами. При пероральном введении СМКФ в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀ крысам в течение 7 сут общее состояние и поведение животных было в пределах физиологической нормы; крысы активно принимали корм и воду, признаки интоксикации отсутствовали; введение препарата не оказывало существенного влияния на прирост массы тела животных. Гематологические и биохимические показатели крови не подвергались значительным изменениям и были сравнимы с показателями контрольной группы животных. Массовые коэффициенты внутренних органов достоверно не отличались у крыс опытных и контрольной группы.

Ключевые слова: супрамолекулярный комплекс, фенбендазол, поливинилпирролидон, кумуляция, субхроническая токсичность, белые крысы

Прозрачность финансовой деятельности: в представленных материалах или методах автор не имеет финансовой заинтересованности.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Варламова А. И. Кумулятивные свойства и субхроническая токсичность супрамолекулярного комплекса фенбендазола // Российский паразитологический журнал. 2021. Т. 15. № 2. С. 72–79.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-2-72-79>

© Варламова А. И., 2021



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

Original article

Cumulative effect and subchronic toxicity of the supramolecular complex of fenbendazole

Anastasiya I. Varlamova

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

Received on: 15.02.21; accepted for printing on: 11.04.2021

Abstract

The purpose of the research is to study the cumulative effect and subchronic toxicity of supramolecular complex of fenbendazole (SMCF).

Materials and methods. The cumulative effect of SMCF was studied on 20 outbred white rats weighing 180 g that were divided into experimental and control groups of 10 animals each. SMCF was administered intragastrically to rats of the experimental groups for 24 days at the dose of 2000 mg/kg (1/10 of the previously established single LD₅₀ (20000 mg/kg)) on the first day, then the dose was increased by 1.5 times every four day. The main criterion for evaluation of the results was the death of animals; we also observed the overall condition and behavior of rats. Subchronic toxicity was studied on 40 male white rats weighing 220–240 g. The animals were divided into 4 equal groups. The drug was administered daily to rats of the 1st, 2nd and 3rd experimental groups intragastrically using the doses of 1/5 (4000 mg/kg), 1/10 (2000 mg/kg) and 1/20 (1000 mg/kg) of LD₅₀ (20000 mg/kg) respectively for 7 days. The control group received 1% starch paste in an appropriate volume throughout the experiment. During the experiment, we observed physical signs and behavior of animals, food and water consumption; weight gains of animals on the 1st, 3rd, 5th and 7th days of the experiment. After the drug administration, animals were sacrificed by cervical dislocation. The laboratory examinations for hematological parameters and biochemical parameters were performed after treatment. Samples of organs (liver, heart, lungs, kidneys, spleen) were taken during necropsy to calculate mass coefficients and to make macroscopic examinations.

Results and discussion. We found that the SMCF did not have any cumulative properties. The overall condition and behavior of rats was within the physiological range; animals consumed food and water and showed no signs of intoxication after oral administration of SMCF at doses of 1/5, 1/10 and 1/20 of LD₅₀ for 7 days. The drug did not have influence on weight gains of animals. Hematological and biochemical parameters did not undergo significant changes and were comparable with the parameters of the control group. The mass coefficients of the internal organs did not differ statistically in experimental and control groups of rats.

Keywords: supramolecular complex, fenbendazole, polyvinylpyrrolidone, cumulation, subchronic toxicity, white rats

Financial Disclosure: in the presented materials or methods, the author has no financial interest.

There is no conflict of interests

For citation: Varlamova A. I. Cumulative effect and subchronic toxicity of the supra-molecular complex of fenbendazole. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2021; 15 (2): 72–79. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-2-72-79>

© Varlamova A. I., 2021

Введение

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 в нашей стране, подтвердили эффективность механохимической технологии для получения твердых дисперсий некоторых антигельминтных препаратов (никлозамида, альбендазола, фенбендазола, триклабендазола, празиквантела и др.) с вспомогательными

веществами (арабиногалактаном, поливинилпирролидоном, глицирризиновой кислотой и пр.) [6, 12–14, 19].

Супрамолекулярный комплекс фенбендазола получен методом механохимической технологии в измельчителе ударно-истирающего типа с регулируемой энергонапряженностью. В его состав входит водорастворимый полимер поливинилпирролидон (ПВП), который используют во многих фармацевтических препаратах для улучшения растворимости и биодоступности химиотерапевтических средств. СМКФ – это 10%-ный гигроскопический порошок (соотношение мас., %: ПВП – 90, фенбендазол – 10) с размером частиц 1–10 микрон беловато-бежевого цвета без запаха, хорошо растворимый в воде в отличие от субстанции [2].

Препарат наработан в Институте элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова и передан доктором технических наук С. С. Халиковым для доклинических и клинических испытаний.

Предварительные доклинические токсикологические исследования показали, что СМКФ при энтеральном способе введения белым мышам согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу малотоксичных веществ. Не обладает иммунотоксической активностью [3, 4].

В связи с тем, что фенбендазол широко применяется для лечения и профилактики гельминтозов животных, а его метаболиты долго сохраняются в организме животных, то возникла необходимость изучения кумулятивных свойств и субхронической токсичности СМКФ.

Цель нашего исследования – изучение субхронической токсичности и кумулятивного действия СМКФ, что является неотъемлемой частью доклинических исследований, направленных на получение доказательства безопасности разработанного лекарственного препарата.

Материалы и методы

Все исследования проводили в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических субстанций [11], Правилам надлежащей лабораторной практики РФ (Приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики») и Европейской конвенции о за-

щите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS 123, Страсбург, 1986) в виварии ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в условиях с естественным и искусственным освещением, контролируемой температурой 20–22 °С и влажностью 60–70%; животных содержали на стандартном рационе кормления [8–11]. Белые крысы предварительно находились в карантине в течение 7 сут, а затем их распределяли в поликарбонатные клетки по 10 гол.

Кумулятивные свойства изучали по методу R. K. Lim et al. на 20 белых крысах живой массой 160–180 г [5, 17]. СМКФ вводили ежедневно внутрижелудочно в течение 28 сут, в первый день в дозе 2000 мг/кг – 1/10 от LD_{50} , затем дозу увеличивали в 1,5 раза через каждые четыре дня. Накопление эффекта при повторном введении СМКФ определяли с помощью коэффициента кумуляции, который определяется как отношение LD_{50} при многократном введении к LD_{50} препарата при однократном введении [5]. В опытный период вели наблюдение за общим состоянием животных, степенью их активности.

Субхроническую токсичность изучали на 40 белых крысах-самцах массой тела 220–240 г, которых разделили на 4 равноценные группы. Препарат вводили крысам 1, 2 и 3-й опытных групп в дозах соответственно 1/5 (4000 мг/кг), 1/10 (2000 мг/кг) и 1/20 (1000 мг/кг) от установленной ранее LD_{50} (20000 мг/кг) в течение 7 сут ежедневно внутрижелудочно с помощью зонда. Длительность введения испытуемого препарата (7 сут) определяется предполагаемой кратностью введения препарата в ветеринарной практике [11]. Контрольная группа на протяжении всего опыта получала 1%-ный крахмальный клейстер в соответствующих объемах. В течение опыта проводили наблюдение за общим состоянием, внешним видом и поведением животных, состоянием волосяного покрова и слизистых оболочек, симптомами интоксикации, потреблением корма и воды, учитывали прирост массы тела животных на 1, 3, 5 и 7-е сутки опыта. После окончания введения препаратов животных подвергали эвтаназии методом декапитации. Отбирали пробы крови для определения основных гематологических и биохимических показателей; после вскрытия отбирали образцы внутренних органов (печени, сердца,

легких, почек, селезенки, головного мозга) для подсчета массовых коэффициентов и макроскопических исследований. Гематологические показатели крыс исследовали в ветеринарной лаборатории на автоматическом анализаторе «Hema Screen Vet», биохимические показатели крови крыс – на автоматическом анализаторе «BioSystems».

Все полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента с помощью компьютерной программы STUDENT 200 Microsoft Excel.

Результаты исследований

При изучении кумулятивных свойств при введении СМКФ в дозе 1/10 от ЛД₅₀, суммарная доза вводимого препарата за этот период составила 257 368 мг/кг (табл. 1). В связи с тем, что случаи падежа животных отсутствовали и признаков интоксикации у крыс отмечено не было, то коэффициент кумуляции определить не удалось. В соответствии с принятой классификацией супрамолекулярный комплекс фенбендазола относится к группе веществ, не обладающих кумулятивными свойствами.

Таблица 1 [Table 1]

Кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса фенбендазола
[Cumulative properties of supramolecular complex of fenbendazole]

| Стадия опыта, сутки [Research period, days] | Суточная доза, мг/кг [Daily dose, mg/kg] | Суммарная доза, мг/кг [Total dose, mg/kg] | Пало/живые [Died/alive] | |
|--|---|--|-------------------------|--------------------|
| | | | опыт [experiment] | контроль [control] |
| 1–4 | 2000 | 8000 | 0/10 | 0/10 |
| 5–8 | 3000 | 12000 | 0/10 | 0/10 |
| 9–12 | 4500 | 18000 | 0/10 | 0/10 |
| 13–16 | 6750 | 27000 | 0/10 | 0/10 |
| 17–20 | 10125 | 40500 | 0/10 | 0/10 |
| 21–24 | 15187 | 60748 | 0/10 | 0/10 |
| 25–28 | 22780 | 91120 | 0/10 | 0/10 |
| Итого за 28 сут [Total for 28 days] | 64342,5 | 257368 | | |

В опыте по изучению субхронической токсичности установлено, что при введении СМКФ в трех тестируемых дозах в течение 7 сут общее состояние и поведение животных соответствовало физиологическим нормам; животные активно потребляли корм и воду, признаков интоксикации зарегистрировано не было.

Таблица 2 демонстрирует динамику прироста массы тела крыс трех опытных групп и контрольной группы в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое результатов исследований, m – среднее квадратическое отклонение результатов измерений. По проценту прироста к исходной массе тела можно сделать вывод о том, что СМКФ критически не влияет на данный показатель.

Таблица 2 [Table 2]

Динамика прироста массы тела крыс, получавших СМКФ в разных дозах в течение 7 сут
[Dynamics of weight gain in rats, who received SMCF in different doses for 7 days]

| Срок исследования, сутки [Research period, days] | Масса тела крыс (г), получавших препарат в дозе [Body weight of rats (g) treated with the drug in a dose] | | | Контроль [Control] |
|---|--|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| | 1/5 от ЛД ₅₀ (4000 мг/кг) | 1/10 от ЛД ₅₀ (2000 мг/кг) | 1/20 от ЛД ₅₀ (1000 мг/кг) | |
| 1 | 224,32±7,66 | 230,41±6,43 | 233,18±9,24 | 229,37±7,02 |
| 3 | 235,17±11,24 | 242,27±12,01 | 245,07±10,38 | 240,15±9,36 |
| 5 | 249,08±10,13 | 256,89±11,65 | 259,14±9,53 | 251,60±8,78 |
| 7 | 262,40±8,46 | 270,34±10,12 | 272,62±8,49 | 263,51±10,05 |
| % к исходной массе [% to the original mass] | 116,97 | 117,33 | 116,91 | 114,88 |

При макроскопическом обследовании внутренних органов опытных животных патологических отклонений установлено не было: размер, форма, поверхность, консистенция, степень наполнения кровеносных сосудов,

расположение органа, вид поверхности разреза соответствовали параметрам контрольной группы животных. Массовые коэффициенты внутренних органов у крыс опытных и контрольной групп достоверно не отличались друг от друга (табл. 3).

Таблица 3 [Table 3]

Влияние СМКФ на относительную массу внутренних органов крыс
[Influence of SMCF on the relative weights of the internal organs of rats]

| Орган [Organ] | Масса органа (г) у крыс, получавших препарат в дозе (мг/кг) [Organ weight (g) in rats treated with the drug in a dose (mg/kg)] | | | Контроль [Control] |
|-----------------------|--|------------|------------|--------------------|
| | 4000 | 2000 | 1000 | |
| Печень [Liver] | 12,45±0,84 | 12,27±0,86 | 12,10±0,80 | 11,55±0,75 |
| Почки [Kidney] | 2,06±0,10 | 1,96±0,09 | 1,90±0,09 | 1,72±0,07 |
| Сердце [Heart] | 1,09±0,12 | 1,00±0,10 | 0,98±0,10 | 0,96±0,10 |
| Легкие [Lungs] | 2,76±0,26 | 2,80±0,32 | 2,60±0,20 | 2,39±0,33 |
| Селезенка [Spleen] | 1,22±0,16 | 1,20±0,28 | 1,11±0,11 | 1,09±0,10 |
| Головной мозг [Brain] | 1,77±0,05 | 1,68±0,14 | 1,67±0,11 | 1,63±0,10 |

У опытных и контрольных животных такие гематологические показатели как, гемоглобин, число эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, гематокрит и другие показате-

ли колеблются, не выходя за рамки физиологической нормы; статистически значимых различий между группами не установлено (табл. 4).

Таблица 4 [Table 4]

Влияние СМКФ на гематологические показатели крыс (n = 10)
[Influence of SMCF on hematological parameters of rats (n = 10)]

| Показатель [Indicator] | Значение показателя для крыс, получивших препарат в дозе (мг/кг) [The value of the indicator for rats that received the drug in a dose (mg/kg)] | | | Контроль [Control] |
|---|---|-------------|-------------|--------------------|
| | 4000 | 2000 | 1000 | |
| Гематокрит [Hematocrit], % | 42,52±2,24 | 44,48±2,47 | 47,46±1,64 | 46,04±2,10 |
| Гемоглобин [Hemoglobin], g/L | 112,8±3,56 | 117,3±4,16 | 120,1±4,38 | 119,4±4,28 |
| Эритроциты [Erythrocytes], 10 ¹² /L | 7,04±0,58 | 7,17±0,72 | 7,64±0,69 | 7,2±0,18 |
| СОЭ [ESR], mm/h | 1,91±0,33 | 1,83±0,37 | 1,85±0,41 | 1,95±0,43 |
| Лейкоциты [Leukocytes], 10 ⁹ /L | 5,90±0,28 | 6,17±0,42 | 6,02±0,83 | 5,98±0,44 |
| Палочкоядерные нейтрофилы [Rod neutrophils], % | 2,92±0,17 | 1,90±0,22 | 2,16±0,28 | 2,5±0,26 |
| Сегментоядерные нейтрофилы [Segmented neutrophils], % | 25,87±1,05 | 24,40±1,32 | 21,10±1,86 | 22,26±1,95 |
| Эозинофилы [Eosinophils], % | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Моноциты [Monocytes], % | 1,62±0,28 | 1,4±0,07 | 1,3±0,16 | 1,6±0,32 |
| Базофилы [Basophils], % | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Лимфоциты [Lymphocytes], % | 69,59±5,14 | 72,30±5,82 | 75,44±5,41 | 73,24±5,23 |
| Тромбоциты [Platelets], 10 ⁹ /L | 534,7±46,20 | 512,2±49,58 | 555,4±43,04 | 529,92±40,60 |
| (P ≤ 0,05) | | | | |

Активность ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ, а также уровни общего белка, сахара, общего и прямого билирубина в сыворотке крови опытных и контрольных групп стати-

стически не различались, что свидетельствует об отсутствии гепатотоксического действия СМКФ (табл. 5). Содержание мочевины после введения СМКФ в дозах 1/5, 1/10 и 1/20

от ЛД₅₀ в сыворотке крови крыс составило соответственно 7,40±0,65 ммоль/л, 7,61±0,46 и 7,44±0,82 ммоль/л при 7,31±0,60 ммоль/л в контрольной группе; уровень креатинина – 48,36±1,92 мкмоль/л, 47,10±1,64 и 44,50±1,24

мкмоль/л при концентрации 45,62±2,06 мкмоль/л у контрольной группы животных. Таким образом, введение испытуемого препарата в течение 7 сут не оказало нефротоксического действия.

Таблица 5 [Table 5]

Влияние СМКФ на биохимические показатели крови у крыс (n = 10)
[Influence of SMCF on biochemical parameters in rats (n = 10)]

| Показатель [Indicator] | Значение показателя для крыс, получивших препарат в дозе (мг/кг) [The value of the indicator for rats that received the drug in a dose (mg/kg)] | | | Контроль [Control] |
|---|---|--------------|--------------|--------------------|
| | 4000 | 2000 | 1000 | |
| Билирубин общий, мкмоль/л [Total bilirubin], μmol/L | 2,18±0,24 | 1,95±0,26 | 2,33±0,20 | 2,25±0,34 |
| Билирубин прямой, мкмоль/л [Direct bilirubin], μmol/L | 0,77±0,12 | 0,84±0,16 | 0,79±0,14 | 0,81±0,11 |
| Аспаратаминотрансфераза, Ед/л [Aspartate aminotransferase], U/L | 170,46±12,25 | 172,43±13,60 | 183,34±12,30 | 177,7±13,64 |
| Аланинаминотрансфераза, Ед/л [Alanine aminotransferase], U/L | 64,23±6,47 | 66,41±7,45 | 59,68±6,52 | 60,24±8,40 |
| Щелочная фосфатаза, Ед/л [Alkaline phosphatase], U/L | 332,42±60,64 | 328,53±51,68 | 343,33±61,44 | 344,41±69,14 |
| Креатинин, мкмоль/л [Creatinine], μmol/L | 48,36±1,92 | 47,10±1,64 | 44,50±1,24 | 45,62±2,06 |
| Мочевина, ммоль/л [Urea, mmol/L] | 7,40±0,65 | 7,61±0,46 | 7,44±0,82 | 7,31±0,60 |
| Глюкоза, ммоль/л [Glucose, mmol/L] | 3,88±0,49 | 3,09±0,44 | 3,62±0,42 | 3,59±0,38 |
| Лактатдегидрогеназа, Ед/л [Lactate dehydrogenase, U/L] | 394,98±42,52 | 366,35±44,60 | 378,84±51,42 | 398,73±43,53 |
| Общий белок, г/л [Total protein, g/L] | 69,20±3,95 | 67,6±3,36 | 69,9±3,13 | 65,24±3,22 |
| (P ≤ 0,05) | | | | |

Данные результаты свидетельствуют об отсутствии токсического влияния препарата на морфологический состав и функциональное состояние периферической крови экспериментальных животных.

Обсуждение

Известно, что широкое и неконтролируемое использование противопаразитарных препаратов может вызвать риск контаминации пищевых продуктов остаточными количествами ксенобиотиков, что создает риск для здоровья человека и может быть источником развития устойчивых штаммов гельминтов [7, 15]. Длительное применение бензимидазол карбаматов в высоких дозах приводит к накоплению действующих веществ лекарственных препаратов, которые могут вызывать токсиче-

ские эффекты в виде анемии, тератогенного и эмбриотоксического действия [16, 18]. Стоит отметить, что сам фенобендазол практически безвреден для организма животных. Более токсичным является продукт его метаболизма: сульфоксид фенобендазола [1].

С целью повышения антигельминтной активности и снижения терапевтической дозы был разработан СМКФ, который обладает в сравнении с субстанцией фенобендазола повышенной растворимостью и уровнем абсорбции, что обеспечивает его более быстрое проникновение в ткани паразита [12]. Также, важно учитывать и общетоксическое действие препарата на организм хозяина, в связи с этим целью наших исследований было изучение фармако-токсикологических свойств СМКФ. Ранее нами была установлена ЛД₅₀ СМКФ при

введении в желудок белым мышам и крысам – 20 000 мг/кг [3].

В ходе проведенных исследований установлено, что СМКФ не обладает кумулятивным действием; в период опыта у белых крыс отсутствовали признаки интоксикации, активность животных была сохранена, гибели животных не отмечали. При изучении субхронической токсичности СМКФ в дозах 4000 мг/кг, 2000 и 1000 мг/кг при пероральном введении в течение 7 сут отклонений в клиническом состоянии животных зарегистрировано не было; введение препарата не оказывало существенного влияния на прирост массы тела животных. Массовые коэффициенты внутренних органов находились в пределах нормы. Гематологические и биохимические показатели крови не подвергались значительным изменениям. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии патологического воздействия СМКФ на организм белых крыс.

Заключение

На основании проведенных исследований можно заключить, что СМКФ не обладает кумулятивным действием и в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀ при пероральном введении в течение 7 сут. не оказывает токсического действия на организм белых крыс.

Литература

1. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 406 с.
2. *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. 90 с.
3. *Варламова А. И., Архипов И. А.* Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки // *Российский паразитологический журнал.* 2020. Т. 14. Вып. 2. С. 83-87.
4. *Варламова А. И., Курочкина К. Г., Данилевская Н. В.* Изучение иммунотропной активности супрамолекулярного комплекса фенбендазола // *Российский паразитологический журнал.* 2019. Т. 13. Вып. 2. С. 44-49.
5. *Каган Ю. С.* Кумуляция. Критерии и методы её оценки. Прогнозирование хронических интоксикаций / В кн.: Принципы и методы установления предельно допустимых концентрации вредных веществ в воздухе и в производственных помещениях. М.: Медицина, 1970. С. 49-65.
6. *Лагерева Е. В., Абрамов В. Е., Мусаев М. Б., Халиков С. С.* Эффективность супрамолекулярного комплекса на основе албендазола и триклабендазола при фасциолёзе и нематодозах пищеварительного тракта овец // *Российский паразитологический журнал.* 2019. Т. 13, Вып. 2. С. 82-88.
7. *Медведь Л. И., Каган Ю. С., Спыну Е. И.* Пестициды и проблемы здравоохранения // *Вестник Всес. хим. о-ва им. Менделеева.* 1968. Т. 13, Вып. 3. С. 263-271.
8. Приказ МЗ СССР № 1045-73 от 6.04.73 г. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)».
9. Приказ МЗ РФ №708н от 23 августа 2010 г. «Правила лабораторной практики в Российской Федерации».
10. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».
11. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. С. 501-514.
12. *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.
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. *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.
15. *Lacey E.* The role of the cytoskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *Int. J. Parasitol.*, 1988; 18: 885-936.
16. *Lanusse C., Prichard R.* Clinical pharmacokinetics and metabolisms of benzimidazole anthelmintics in ruminants. *Drug Metab. Rev.*, 1993; 25: 235.

17. Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1961; 130(1): 336-353.
18. Mckellar Q.A., Scott E.W. The benzimidazole anthelmintic agents – a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 1990; 13(223): 66-77.
19. Meteleva E. S., Chistyachenko Y. S., Suntsova L. P., Khvostov, M. V., Polyakov N. E., Selyutina, O. Y., Tolstikova T. G., Frolova T. S., Mordvinov V. A., Dushkin A. V., 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.
9. Order by the Ministry of Healthcare of the Russian Federation No. 708n dated August 23, 2010 Rules of good laboratory practice in the Russian Federation.
10. Order by the USSR Ministry of Healthcare No. 755 dated 12/08/1977 Regulations of work with the use of experimental animals.
11. Khabriyev R. U. Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow, 2005; 501-514. (In Russ.)
12. 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.

References

1. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. Moscow, 2009; 406. (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 benzimidazole-based anthelmintics, their preparation and properties. Moscow, New authors, 2017; 90. (In Russ.)
3. Varlamova A. I., Arkhipov I. A. Comparative acute toxicity of supramolecular complexes of fenbendazole using different polymers for targeted delivery. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (2): 83-87. (In Russ.)
4. Varlamova A. I., Kurochkina K. G., Danilevskaya N. V. Study of immunotropic activity of the supramolecular complex of fenbendazole. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (2): 44-49. (In Russ.)
5. Kagan Yu. S. Cumulation. Criteria and methods for its evaluation. Prediction of chronic intoxication / In the book: Principles and methods for establishing maximum concentration limits of harmful substances in the air and at workplace. Moscow, Medicine, 1970; 49-65. (In Russ.)
6. 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 gastrointestinal nematodes in sheep. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (2): 82-88. (In Russ.)
7. Medved L. I., Kagan Yu. S., Spynu E. I. Pesticides and healthcare issues. *Vestnik Vses. khim. o-va im. Mendeleeva = Bulletin of the All-Union Chemical Society named after Mendeleev*. 1968; 13 (3): 263-271. (In Russ.)
8. Order by the USSR Ministry of Healthcare No. 1045-73 dated 06/04/1973 Sanitary rules for design, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums).
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. 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.
15. Lacey E. The role of the cytoskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *Int. J. Parasitol.*, 1988; 18: 885–936.
16. Lanusse C., Prichard R. Clinical pharmacokinetics and metabolisms of benzimidazole anthelmintics in ruminants. *Drug Metab. Rev.* 1993; 25: 235.
17. Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1961; 130(1): 336-353.
18. Mckellar Q.A., Scott E.W. The benzimidazole anthelmintic agents – a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1990; 13(223): 66-77
19. Meteleva E. S., Chistyachenko Y. S., Suntsova L. P., Khvostov, M. V., Polyakov N. E., Selyutina, O. Y., Tolstikova T. G., Frolova T. S., Mordvinov V. A., Dushkin A. V., 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.