

## РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АЛЬБЕНДАЗОЛУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ У М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ТВАРИН З ВИКОРИСТАННЯМ ВЕРХ/ФЛД

С. М. Мелікян, канд. біол. наук,  
Н. В. Біронт, канд. біол. наук,  
О. І. Винятинська, канд. біол. наук,  
О. М. Паздерська, старший науковий співробітник,  
Г. Л. Мисько, науковий співробітник,  
Д. В. Янович, д-р с.-г. наук

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна  
[smelikyan@scivp.lviv.ua](mailto:smelikyan@scivp.lviv.ua)

У статті представлено розроблений метод, призначений для клінічних та фармацевтичних досліджень ветеринарних препаратів на основі активної діючої речовини альбендазолу ([5- (пропілтіо) -1Н-бензimidазол-2іл] карбамової кислоти) та його метаболітів: альбендазолу сульфоксиду, альбендазолу сульфону та альбендазол-2-аміносульфону в м'язових тканинах вівці. Зразки тканин обробляли карбонатом натрію, двічі екстрагували ацетонітрилом і знежирювали гексаном. Екстракти додатково очищали серією екстракцій рідина-рідина та твердофазної екстракції. Після концентрування та висушування сухий залишок відновлювали у рухомій фазі. Розділення проводили на колонці Asclait 120 C18 з оберненою фазою з використанням ацетонітрилу та фосфатного буферу, як рухомої фази. Градієнтний режим елюентів використовували протягом 12 хв за швидкості потоку 1,8 мл/хв. Час утримання піку альбендазол-2-аміносульфону становить 3,0 хв, альбендазол сульфоксиду – 3,9 хв, альбендазол сульфону – 4,8 хв, а час утримання піку альбендазолу – 6,6 хв. Специфічність аналітичної методики перевіряли за порівняння хроматографічного розділення зразка м'язової тканини збагаченого стандартним розчином суміші альбендазолу та його метаболітів на рівні максимально допустимого рівня та контрольного зразка м'язової тканини. Процедура підготовки навантажених зразків тканин для побудови калібрувальних графіків описана в статті. Розглянуто метрологічні характеристики методик: «повернення» і «коефіцієнт варіації», відповідно до критеріїв Директиви Ради 2002/657/Є. Середній витяг з навантажених м'язових тканин у межах 50–150 мкг/кг для альбендазолу, альбендазолу сульфоксиду, альбендазолу сульфону і альбендазол-2-аміносульфону становили 100,2; 100,9; 100,7 і 100,2 %, відповідно. Середнє значення коефіцієнту варіації для кожної сполуки становить  $\leq 10$  %.

Метод є лінійним у діапазоні концентрацій 25,0 – 200,0 мкг/кг кожного аналіту. Результати, отримані за дослідження лінійності цієї методики, використовувались для оцінки правильності та збіжності. Точність вимірювань оцінювали, досліджуючи відомі кількості аналітів, додані до контрольних зразків м'язової тканини. Дані повернення є прийнятними, оскільки вони знаходяться в межах  $\pm 10\%$  від цільового значення. Методика характеризується достатньою збіжністю (точністю). Оцінку проміжної точності визначення альбендазолу та його метаболітів оцінювали у три різні дні аналізу. Межа виявлення альбендазолу становить 0,4 мкг/кг. Основними перевагами розробленої методики є

висока селективність та висока чутливість. Середнє значення коефіцієнту варіації для кожного аналізу становило  $< 10\%$ .

Процедура була підтверджена, а потім застосована для визначення альбендазолу та його метаболітів у м'язовій тканині овець, отриманій після згодовування тваринам препарату альбендазолу з кормом. Розроблений ВЕРХ/ФДЛ метод можна використовувати для дослідження каренції альбендазолу та його метаболітів.

**Ключові слова:** АЛЬБЕНДАЗОЛ, ВЕРХ, ЗБАГАЧЕНІ ЗРАЗКИ, ВАЛІДАЦІЯ, КРИТЕРІЇ ПРИЙНЯТНОСТІ.

## DEVELOPMENT OF METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALBENDAZOLE AND ITS METABOLITES IN BIOLOGICAL TISSUES USING HPLC / FLD

*S. Melikyan, N. Biront, O. Venyatyńska, O. Pazderska, G. Mysko, D. Yanovych*

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,  
Donetska str., 11, Lviv, 79019, Ukraine

[smelikyan@scivp.lviv.ua](mailto:smelikyan@scivp.lviv.ua)

This manuscript presents the results of developed method is intended for clinical and pharmaceutical studies of veterinary drugs based on the active substances albendazole ([5-(propylthio)-1H-benzimidazol-2yl]carbamic acid methyl ester) and its main metabolites, albendazole sulfoxide, albendazole sulfone, and albendazole-2- aminosulfone in sheep muscles. Tissue samples were made alkaline with sodium carbonate, extracted twice with acetonitrile and degreased with hexane. The extracts are further purified using a series of liquid-liquid extraction and solid phase extraction. After concentration and drying, the dry residue was recovered in the mobile phase. Separation was performed on an inverted phase Acclaim 120 C18 column using acetonitrile and phosphate buffer as the mobile phase. The gradient mode of eluents was used during 12 min at a flow rate of 1,8 ml/min. The peak retention time of albendazole 2-aminosulfoam is 3,0 min, albendazole sulfoxide is 3,9 min, albendazole sulfone is 4,8 min, and the retention time of albendazole peak is 6,6 min. The specificity of the analytical method was checked by comparing the chromatographic separation of a sample of muscle tissue enriched with a standard solution of a mixture of albendazole and its metabolites at the level of MDR (100  $\mu\text{g/kg}$ ) and a sample of muscle tissue placebo. The validation parameters of the method “recovery” and “coefficient of variation” were considered in accordance with the criteria of Council Directive 2002/657/EC. The procedure of sample preparation of fortified tissues to construct calibration graphs is described in the manuscript. The mean recovery from fortified muscle tissue in the range of 50-150  $\mu\text{g/kg}$  albendazole, albendazole sulfoxide, albendazole sulfone and albendazole 2-aminosulfon was 100.2; 100.9; 100.7 and 100.2%, respectively. The average coefficient of variation for each compound was  $\leq 10\%$ .

The method is linear in the concentration range of 25.0 - 200.0  $\mu\text{g/kg}$  of each analyte. The results obtained in the study of the linearity of this technique were used to estimate the correctness and convergence. The accuracy of the measurements was evaluated by examining the known amounts of analytes added to the control muscle tissue. Recovery data are acceptable because they are within  $\pm 10\%$  of the target value. The method has sufficient convergence (accuracy). The evaluation of the intermediate accuracy of albendazole and its metabolites was assessed on three different days of analysis. The limit of detection for albendasole is 0.4  $\mu\text{g/kg}$ . The average CV for each compound was  $<10\%$ .

The procedure was confirmed and then applied to determination albendazole and its metabolites in the sheep muscle tissue obtained after feeding animals with the veterinary drug

albendazole. The HPLC/FLD method can be used for withdrawal time albendazole and its metabolites.

**Keywords:** ALBENDAZOLE, HPLC, FORTIFIED SAMPLES, VALIDATION, ACCEPTANCE CRITERIA FOR AN ACCEPTABILITY.

Згідно із Законом України «Про ветеринарну медицину» та Наказом державного комітету ветеринарної медицини «Про затвердження форм заяв, переліку матеріалів реєстраційного досьє та порядку його формування», у реєстраційному досьє ветеринарних лікарських засобів мають міститись матеріали про якість, ефективність та безпечність. Для доказу безпечності нових препаратів для споживачів продукції тваринного походження важливим є встановлення періодів виведення з організму цільових продуктивних тварин залишкових кількостей активних фармацевтичних інгредієнтів та/або їх метаболітів. На такій інформації ґрунтується затвердження періодів витримки цільових тварин після застосування препарату для одержання безпечної продукції. Період витримки (каренція) – період від останнього введення препарату до часу зменшення концентрації залишків активних фармацевтичних інгредієнтів та/або їх метаболітів до значень менших ніж встановлені максимально допустимі рівні (МДР), з урахуванням статистичної вірогідності та меж невизначеності методики аналізу.

Альбендазол використовується у ветеринарії для лікування гельмінтозів у великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней, собак, котів, хутрових звірів та курей. Для ветеринарного використання альбендазол випускається у вигляді таблеток, порошків та у вигляді гелю. В Україні зареєстровано та перереєстровано більше тридцяти препаратів ветеринарної медицини на основі альбендазолу, дві третіх з яких вітчизняного виробництва (Horzheiev et al., 2013). Альбендазол є антигельмінтиком з групи бензімідазолу широкого спектру дії, має виражену антигельмінтну дію проти нематод (як статевозрілих, так і незрілих форм), цестод і трематод (тільки статевозрілих).

Альбендазол є відносно нерозчинним у воді та більшості органічних розчинників, властивості яких впливають на його всмоктування та поведінку в організмі. Абсорбція альбендазолу збільшується із застосуванням під час їжі та особливо за наявності жирів у раціоні. Альбендазол швидко метаболізується у печінці. Основний метаболіт — сульфат альбендазолу — зберігає половину фармакологічної активності первинної речовини, подальше його окислення призводить до утворення сульфону альбендазолу. (Dayan, 2003).

Максимальна концентрація в крові досягається протягом 2-5 годин. Високі концентрації препарату створюються в сечі, жовчі, спинномозковій рідині, печінці. Альбендазол добре проникає через гепатоенцефалічний бар'єр, плацентарний бар'єр і виділяється в грудне молоко. Виводиться альбендазол з організму переважно з жовчю, частково з сечею. Період напіввиведення альбендазолу складає в середньому 8,5 год за порушення функції печінки цей час може збільшуватись (Dayan, 2003).

Згідно з Наказом МОЗ України «Про затвердження Показників безпечності харчових продуктів «Максимальні межі (рівні) залишків діючих речовин ветеринарних препаратів у харчових продуктах тваринного походження», МДР для альбендазолу та його метаболітів у м'ясі жуйних тварин сумарно становить 100 мкг/кг.

Метою нашої роботи була розробка методики кількісного визначення альбендазолу та його метаболітів у м'язових тканинах овець методом високоефективної рідинної хроматографії для можливості подальших клініко-фармацевтичних досліджень ветеринарних препаратів на основі цієї активної речовини.

**Матеріали і методи. Реактиви.** Метанол ацетонітрил, гексан, бутилгідрокситолуол спирт ізопропіловий, диметилсульфоксид, натрію дигідрофосфат дигідрат, натрій гідроген карбонат, натрій карбонат безводний, кислота фосфорна концентрована (for HPLC, Sigma-

Aldrich), та вода високоочищена бідистильована (система Milli-Q, Millipore). Картриджі для твердофазного екстрагування Bond Elut C18 50 мг/3 мл (Varian, США).

**Стандарти.** У розробці використовували сертифіковані стандартні зразки альбендазолу та його метаболітів: альбендазол, альбендазол 2- аміносультон, альбендазол сульфоксид, альбендазол сульфон (Sigma Aldrich, Vetranal analytical standard). Первинні розчини стандартних зразків зберігали протягом місяця у щільно закритому посуді у темному місці за температури мінус 20 °С.

**Обладнання.** Рідинний хроматограф Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 (виробництво Німеччина) з флуориметричним детектором, обладнаний колонкою Acclaim 120 C18 (5 µm, 150mm x 4,6mm) фірми Thermo.

**Приготування зразків.** Зразки м'язової тканини зберігали за температури мінус 20 °С. Досліджувані аналіти двічі екстрагували зі зразка ацетонітрилом впродовж 15 хв, знежирювали гексаном та концентрували шляхом висушування за участю ізопропілового спирту. Сухий залишок відновлювали розчином метанолу та очищали твердофазною екстракцією. Двічі зібрані елюенти висушували і відновлювали у суміші розчинника та гексану. Після центрифугування нижню фракцію переносили у віали для хроматографічного аналізу (Shu-Chu Su et al, 2003).

**Побудова калібрувального графіка.**

Для побудови калібрувальних графіків використовували контрольний (чистий) зразок м'язової тканини і зразки навантажені стандартним розчином альбендазолу та його метаболітів у концентрації 1,0 мкг/мл. Аналізували 5 точок калібрувальної кривої для визначення альбендазолу і його метаболітів в концентраціях 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 і 20,0 нг/г, згідно з таблицею 1. Подальшу підготовку навантажених зразків проводять, як описано вище.

Таблиця 1

**Приготування зразків навантажених альбендазолом та його метаболітами  
для побудови калібрувальної кривої**

| № зразка | Маса зразка, г | Об'єм доданого стандартного розчину альбендазолу та його метаболітів, мкл | Концентрація альбендазолу та його метаболітів у зразку, нг/г |
|----------|----------------|---|--|
| 1        | 5              | 0   | 0  |
| 2        | 5              | 12,5  | 2,5  |
| 3        | 5              | 25  | 5,0  |
| 4        | 5              | 50  | 10,0   |
| 5        | 5              | 75  | 15,0   |
| 6        | 5              | 100   | 20,0   |

**Хроматографічний аналіз.**

Градiєнтна система елюентів складається з фосфатного буферного розчину (елюент А) та ацетонітрилу (елюент В). Швидкість потоку елюентів встановлювали 1,8 мл/хв. Час розділення - 12 хвилин. Встановлюють хвилю збудження флуориметричного детектору 290 нм., хвиля емісії 320 нм.

**Результати й обговорення.** Для оптимізації умов розділення і кількісного визначення досліджуваних аналітів використовували наявні літературні дані (Shu-Chu Su, 2003). Першим етапом роботи було ефективне хроматографічне розділення стандартного розчину суміші альбендазолу та його метаболітів. Для цього був проведений підбір умов хроматографування, вибір колонки, температури, швидкості потоку, та визначена оптимальна довжина хвилі збудження флуоресцентного детектору та хвилі емісії. На основі літературних даних (Shu-Chu Su, 2003), модифіковано зміну градієнту елюентів рухомої фази.

Оцінку придатності запропонованої методики проводили за критерієм «додано-отримано» з використанням контрольної (чистої) матриці. Згідно хроматограми на рисунку 1 видно, що градієнт елюентів сприяє ефективному розділенню досліджуваних аналітів за

практичної відсутності матричних впливів, спричинених компонентами м'язової тканини. Отже, розроблений метод володіє специфічністю.

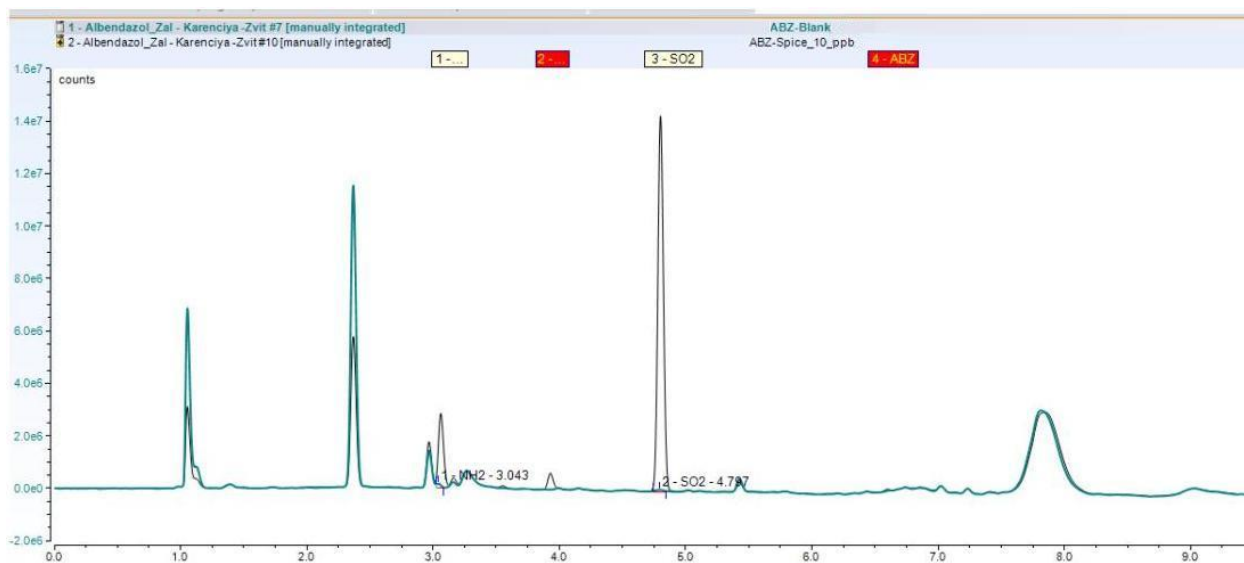


Рис. 1. Хромотограма контрольного (чистого) зразка м'язової тканини вівці та зразка збагаченого стандартним розчином альбендазолу та його метаболітів на рівні 10,0 мкг/кг.

|  |        |
|--|--------|
| Час утримання піків: Альбендазол 2-аміносультон ( $\text{ABZSO}_2\text{-NH}_2$ ) | 3,0 хв |
| Альбендазол сульфоксид ( $\text{ABZ-SO}$ )                                       | 3,9 хв |
| Альбендазол сульфон ( $\text{ABZ-SO}_2$ )  | 4,8 хв |
| Альбендазол ( $\text{ABZ}$ )   | 6,6 хв |

*Валідаційні параметри розробленої методики.* Для оцінки придатності розробленої ВЕРХ/ФЛД методики визначення альбендазолу та його основних метаболітів в зразках м'язових тканин було проведено обрахунок межі детектування (LOD), межі кількісного визначення (LOQ), точності, відтворюваності, відсотка витягу (RP), межі лінійності калібрувальних графіків на матриці, коефіцієнтів кореляції отриманих лінійних залежностей ( $R^2$ ).

За результатами вимірювань збагачених зразків м'язової тканини з використанням комп'ютерного програмного забезпечення Chromeleon побудовані калібрувальні графіки (рис. 2). У межах вибраного діапазону концентрацій площі піків досліджуваних аналітів прямо пропорційні їх концентрації у досліджуваних зразках.

Коефіцієнт кореляції для методики визначення обрахований програмою становить не менше 0,99. Для розрахунку межі детектування (LOD) та межі кількісного визначення (LOQ) представлених у таблиці 2, поправку на холосту пробу не вводили (Mahnusona & Ernemarka, 2016).

Для більш повної оцінки отриманих даних було обчислено коефіцієнт варіації (CV), який характеризує відносний ступінь відхилення вимірних значень від середнього арифметичного.

Згідно із загальноприйнятими статистичними підходами для визначення залишкових кількостей (Commission Decision, 2002), отримані результати коефіцієнту варіації для кожного досліджуваного аналізу свідчать про низьку мінливість варіаційного ряду і є прийнятними.



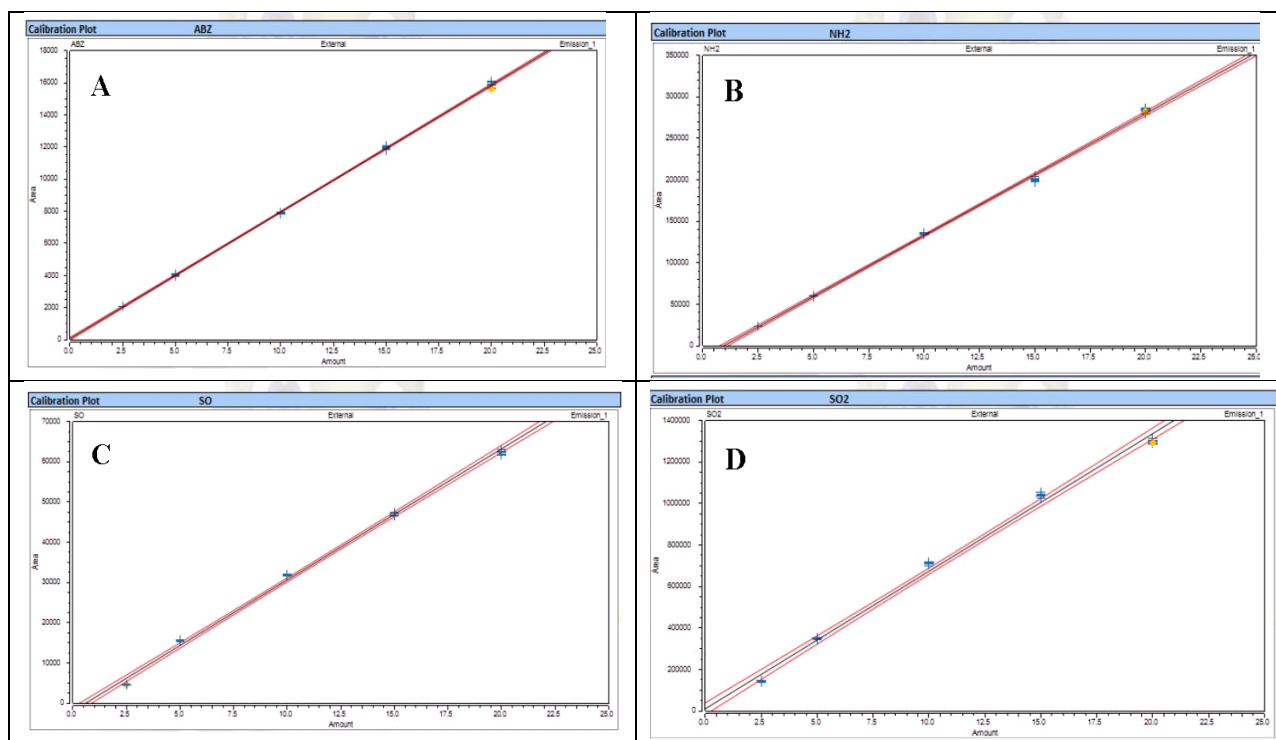


Рис. 2. Калібрувальні графіки для визначення альбендазолу (А), альбендазол 2-аміносурьфону (В), альбендазол сурьфоксиду (С) та альбендазол сурьфону (D) в діапазоні концентрацій 2,5-20,0 мкг/кг, побудовані на матриці м'язової тканини.

Таблиця 2

Валідаційні характеристики розробленої методики

| Аналіти                    | LOD, мкг/кг | LOQ, мкг/кг | R <sup>2</sup> | CV, % |
|----------------------------|-------------|-------------|----------------|-------|
| Альбендазол                | 0,4         | 1,35        | 0,9996         | 0,85  |
| Альбендазол 2-аміносурьфон | 0,08        | 0,27        | 0,9987         | 0,63  |
| Альбендазол сурьфоксид     | 0,6         | 2,13        | 0,9971         | 0,74  |
| Альбендазол сурьфон        | 0,3         | 1,00        | 0,9937         | 0,82  |

Одним з найважливіших критеріїв кількісного аналітичного методу є правильність – ступінь близькості між середнім значенням, що отримано з серії результатів досліджень та прийнятим значенням. Даний критерій відображає, наскільки отриманий результат відповідає фактичному значенню, і для його визначення дослідники зобов'язані використовувати сертифікований референтний матеріал. У разі його відсутності дозволено використовувати спосіб додавання стандартів до чистої матриці з наступним визначенням аналіту, та відповідним розрахунком відсотку повернення (RP). Згідно рекомендацій вищезазначеного рішення (Commission Decision, 2002), для речовин зі встановленим МДР, зразки потрібно збагатити аналітом у трьох концентраціях, що становлять 0,5; 1 та 1,5 від МДР по шість зразків для кожної. Такі точки концентрацій включають калібрувальні графіки побудовані для всіх досліджуваних аналітів.

МДР альбендазолу та його метаболітів, виражених як альбендазол, для м'язової тканини жуйних тварин згідно наказу міністерства України «Про затвердження показників безпечності харчових продуктів» (2019), становить 100 мкг/кг. Для оцінки правильності методу було використано зразки м'язової тканини вівці, збагачені альбендазолом та його метаболітами у концентраціях: 50 мкг/кг, 100 мкг/кг та 150 мкг/кг. Результати представлені в таблицях 3–6.

Таблиця 3

**Концентрація та відсоток витягу від доданого значення  
50, 100, 150 мкг/кг альбендазолу 2-аміносульфону**

| Конц.<br>ppb | Повтори |        |        |        |        |        | RSD,<br>% | RP,<br>% |
|--------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|----------|
|              | 1       | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      |           |          |
| 50           | 50,12   | 50,17  | 50,29  | 50,225 | 50,3   | 50,215 | 0,71      | 100,44   |
| 100          | 101,15  | 99,67  | 100,21 | 100,87 | 102,12 | 103,3  | 0,58      | 101,22   |
| 150          | 145,32  | 146,87 | 147,26 | 144,89 | 145,76 | 146,14 | 0,63      | 97,36    |

Таблиця 4

**Концентрація та відсоток витягу від доданого значення 50, 100, 150 мкг/кг альбендазолу сульфоксиду**

| Конц.<br>ppb | Повтори |        |        |        |        |        | RSD,<br>%   | RP,<br>%      |
|--------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|---------------|
|              | 1       | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      |             |               |
| 50           | 52,66   | 52,56  | 52,79  | 52,43  | 51,69  | 50,68  | <b>0,92</b> | <b>104,27</b> |
| 100          | 104,21  | 103,22 | 103,36 | 102,75 | 102,87 | 102,61 | <b>0,38</b> | <b>103,17</b> |
| 150          | 151,13  | 149,26 | 150,99 | 149,81 | 149,18 | 148,10 | <b>0,46</b> | <b>99,83</b>  |

Таблиця 5

**Концентрація та відсоток витягу від доданого значення  
50, 100, 150 мкг/кг альбендазолу сульфону**

| Конц.<br>ppb | Повтори |        |        |        |        |        | RSD,<br>% | RP,<br>% |
|--------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|----------|
|              | 1       | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      |           |          |
| 50           | 49,94   | 50,34  | 50,89  | 50,74  | 51,28  | 51,37  | 1,09      | 101,52   |
| 100          | 103,88  | 104,97 | 104,85 | 105,68 | 105,78 | 105,44 | 0,49      | 105,1    |
| 150          | 152,88  | 154,88 | 154,20 | 152,55 | 152,76 | 153,31 | 0,36      | 102,29   |

Таблиця 6

**Концентрація та відсоток витягу від доданого значення  
50, 100, 150 мкг/кг альбендазолу**

| Конц.<br>ppb | Повтори |        |        |        |        |        | RSD,<br>% | RP,<br>% |
|--------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|----------|
|              | 1       | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      |           |          |
| 50           | 50,31   | 50,94  | 50,56  | 50,12  | 50,11  | 49,46  | 0,71      | 100,5    |
| 100          | 98,65   | 98,16  | 99,69  | 99,42  | 99,38  | 99,36  | 0,51      | 99,11    |
| 150          | 150,76  | 152,25 | 152,03 | 151,86 | 150,07 | 149,87 | 0,39      | 100,76   |

Результати досліджень усіх проаналізованих концентрацій є прийнятними, оскільки відсоток витягу знаходиться у межах 70 - 120 %, коли відносне стандартне відхилення (RSD) не більше 20 %.

Визначення точності (близькості отриманих експериментальних результатів до істинного значення кількості аналіту у зразку) проводили шляхом аналізу збагачених зразків м'язів. Для характеристики методу визначали:  $\Sigma$  – середнє арифметичне з 3 аналізів, SD – стандартне відхилення, RSD – відносне стандартне відхилення (обраховується програмою Chromeleon). Кількісним показником точності є відсоток повернення, різниця між очікуваною і отриманою концентрацією аналіту. Цей показник ще називають здатністю витягу розробленої методики. Згідно вимог до правильності кількісних методів (точність відповідності експериментальних результатів конкретному значенню), у разі повторних аналізів збагачених зразків, відхилення експериментально визначеного вмісту від доданого не повинно перевищувати  $\pm 10$  % (Commission Decision, 2002). Як видно з даних таблиць 3-6, відсоток повернення всіх аналітів знаходиться у відповідних межах, що свідчить про точність розробленої методики.

Прецизійність методики є мірою близькості результатів між собою і характеризується стандартним відхиленням  $SD$  або відносним стандартним відхиленням  $RSD$  у відсотках для серії вимірювань. Оцінку проміжної прецизійності визначення альбендазолу та його метаболітів оцінювали у три різні дні аналізу (табл. 7). Отримані концентрації досліджуваних аналітів обраховували за калібрувальними кривими збагачених зразків. Для розрахунку межі прецизійності використали коефіцієнт критичного діапазону  $f(3)=3,3$  (Mahnusona & Ernemarka, 2016).

Таблиця 7

**Аналізування статистичних даних щодо проміжної прецизійності результатів визначення альбендазолу та його метаболітів (нг/г)**

| Аналіт                    | Внесено | Отримано |        |        | Середнє арифметичне, $\Sigma/3$ | Відхилення кожного значення від середнього арифметичного ( $\Delta$ ) |        |        | Середня похибка середнього арифм. значення, $\sigma_r$ | Абсолютна різниця між найменшим і найбільшим значенням $ \Delta $ | Межа збіжності, $r = f(3) \cdot \sigma_r$ | Критерій прийнятності результату $ \Delta  \leq r$ |
|---------------------------|---------|----------|--------|--------|---------------------------------|---|--------|--------|--|---|---|--|
|                           |         | 1 день   | 2 день | 3 день |                                 | 1 день  | 2 день | 3 день |  |   |   |  |
| Альбендазол аміносульфону | 2,5     | 2,52     | 2,53   | 2,53   | 2,527                           | 0,007   | -0,003 | -0,003 | 0,0043   | 0,01  | 0,0129                                    | Відповідає   |
|                           | 5,0     | 5,02     | 5,03   | 5,02   | 5,023                           | 0,003   | -0,007 | 0,003  | 0,0043   | 0,01  | 0,0129                                    |  |
|                           | 10,0    | 10,07    | 10,15  | 10,14  | 10,12                           | 0,05  | -0,03  | -0,02  | 0,0333   | 0,08  | 0,0999                                    |  |
|                           | 15,0    | 14,49    | 14,69  | 14,63  | 14,6                            | 0,11  | -0,09  | -0,03  | 0,0767   | 0,20  | 0,2301                                    |  |
|                           | 20,0    | 20,13    | 20,23  | 20,32  | 20,227                          | 0,097   | -0,003 | -0,093 | 0,0643   | 0,19  | 0,1929                                    |  |
| Альбендазол сульфоксиду   | 2,5     | 2,44     | 2,47   | 2,44   | 2,45                            | 0,01  | -0,02  | 0,01   | 0,013  | 0,03  | 0,039                                     | Відповідає   |
|                           | 5,0     | 5,27     | 5,20   | 5,17   | 5,213                           | -0,057  | 0,013  | 0,043  | 0,038  | 0,07  | 0,114                                     |  |
|                           | 10,0    | 10,36    | 10,31  | 10,28  | 10,317                          | -0,043  | 0,007  | 0,037  | 0,029  | 0,08  | 0,087                                     |  |
|                           | 15,0    | 15,05    | 14,97  | 14,91  | 14,977                          | -0,073  | 0,007  | 0,067  | 0,049  | 0,12  | 0,147                                     |  |
|                           | 20,0    | 19,92    | 19,81  | 19,90  | 19,877                          | -0,043  | 0,067  | -0,023 | 0,044  | 0,06  | 0,132                                     |  |
| Альбендазол сульфону      | 2,5     | 2,52     | 2,53   | 2,49   | 2,51                            | -0,01   | -0,02  | 0,02   | 0,02   | 0,04  | 0,06                                      | Відповідає   |
|                           | 5,0     | 5,06     | 5,03   | 4,99   | 5,02                            | -0,04   | -0,01  | 0,03   | 0,03   | 0,07  | 0,09                                      |  |
|                           | 10,0    | 9,88     | 9,88   | 9,97   | 9,91                            | 0,03  | 0,03   | -0,06  | 0,04   | 0,09  | 0,12                                      |  |
|                           | 15,0    | 15,17    | 15,05  | 15,12  | 15,113                          | -0,057  | 0,063  | -0,007 | 0,042  | 0,12  | 0,126                                     |  |
|                           | 20,0    | 20,07    | 20,01  | 20,06  | 20,047                          | -0,023  | 0,037  | -0,013 | 0,024  | 0,06  | 0,072                                     |  |
| Альбендазол               | 2,5     | 2,54     | 2,51   | 2,50   | 2,517                           | -0,023  | 0,007  | 0,017  | 0,016  | 0,04  | 0,048                                     | Відповідає   |
|                           | 5,0     | 5,03     | 5,09   | 5,06   | 5,06                            | 0,03  | -0,03  | 0,01   | 0,023  | 0,06  | 0,069                                     |  |
|                           | 10,0    | 9,87     | 9,82   | 9,97   | 9,887                           | 0,017   | 0,067  | -0,083 | 0,056  | 0,15  | 0,168                                     |  |
|                           | 15,0    | 15,08    | 15,23  | 15,20  | 15,17                           | 0,09  | -0,06  | -0,03  | 0,06   | 0,15  | 0,18                                      |  |
|                           | 20,0    | 20,03    | 20,00  | 20,20  | 20,077                          | 0,047   | 0,077  | -0,123 | 0,082  | 0,20  | 0,246                                     |  |

За розробленою методикою проаналізували сумарний вміст альбендазолу та його метаболітів у зразках м'язових тканин овець, яким з кормом подавали ветеринарний препарат на основі альбендазолу. Вміст альбендазолу становив 698,45 – 723,52 мкг/кг для чотирьох тварин. А сума альбендазолу з його аналітами становила 1348,75 – 1366,41 мкг/кг.

Отже, з наведених даних видно, що розділення розробленою методикою дозволяє визначити нижчі межі діапазону концентрацій альбендазолу та його метаболітів порівняно з МДР для жуйних тварин та володіє високою чутливістю. Тобто, є високоспецифічне та високочутливе, що дозволить належним чином провести клінічні дослідження лікарських ветеринарних препаратів на основі альбендазолу.



## ВИСНОВКИ

Розроблено чутливу специфічну методику призначену для вивчення каренції ветеринарних препаратів на основі активної діючої речовин – альбендазолу. Розроблена методика лінійна в діапазоні концентрацій 2,5 – 25,0 мкг/кг для всіх досліджуваних аналітів.

**Перспективи досліджень.** Велика кількість вироблених в нашій країні генеричних ветеринарних препаратів на основі альбендазолу потребуватиме для їх реєстрації клінічних досліджень, а, відповідно, застосування розробленої методики.

## References

COMMISSION DECISION of 14 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C(2002) 3044) text with EEA relevance 2002/657/EC // Official Journal of the European Union. – 17.08.2002. – L221. 8.

Dayan, A.D. (2003). Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Tripica*, 86. 2-3. 141-159.

Horzheiev, V.M., Kotsiumbas, I.Ya., Kosenko, Yu.M., Chaikivska, O.I, Zaruma, L.Ie. (2013). *Dovidnyk veterynarnykh preparativ*, Lviv, VF «Afisha», 1596. [in Ukrainian]

Mahnusona, B. & Ernemarka, U. (2016). *Prydatnist analitychnykh metodiv dlia konkretnoho zastosuvannia. Nastanova dlia laboratorii z validatsii metodiv ta sumizhnykh pytan*. Kyiv, TOV «Iurka Liubchenka», 92. [in Ukrainian]. Electronic resource. Access mode: [https://www.eurachem.Org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed-UA.pdf](https://www.eurachem.Org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed-UA.pdf)

Shaikh, B., Rummel, N., Reimschuessel, R. (2003). Determination of albendazole and its major metabolites in the muscle tissues of atlantic salmon, tilapia and rainbow trout by high performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Agricultural and food chemistry*. 51, 3254-3259.

Shu-Chu, Su, Chin-Lin, Chang, Pi-Chiou, Chang, Shin-Shou, Chou. (2003). Simultaneous Determination of albendazole, thiabendazole, mebendazole and their metabolites in livestock by high performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*. 11, 4. 307-319.