

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 615.9:340.67

doi: 10.26907/2542-064X.2021.2.209-220

ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЬБЕНДАЗОЛА И ДИНАМИКИ ЕГО РАЗЛОЖЕНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

В.К. Шорманов¹, Д.П. Щербаков¹, С.Ю. Гармонов²

¹*Курский государственный медицинский университет, г. Курск, 305041, Россия*

²*Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, 420015, Россия*

Аннотация

Альбендазол ([5-(пропилтио)-1Н-бензимидазол-2-ил]карбаминовой кислоты метиловый эфир) – лекарственное средство, производное бензимидазола, обладающее противогельминтной активностью, являющееся токсичным для человека. Нередки случаи отравления данным веществом и другими производными бензимидазола. Многие вопросы анализа альбендазола продолжают оставаться практически неисследованными и целесообразно изучение альбендазола в химико-токсикологическом отношении. В качестве химического агента для изолирования альбендазола из биоматериала использован ацетон. Очистка полученных извлечений осуществлялась последовательно в колонке силикагеля L 40/100 мкм и жидкость-жидкостной экстракцией. Для идентификации использованы методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС), УФ-спектрофотометрии. Содержание аналита определено методом УФ-спектрофотометрии по поглощению в среде диметилформамида (ДМФА). Уровень извлечения альбендазола из биоматериала (печень) составлял 85–88%. При использовании подобранных оптимальных условий изолирования и очистки изучена динамика разложения альбендазола в биоматериале на примере модельных смесей с тканью печени, сохраняемых при различных температурах. Установлено, что альбендазол сохраняется в биологическом материале при температурах 0–2 °С, 8–10 °С, 18–22 °С в течение как минимум 36 недель.

Ключевые слова: альбендазол, изолирование, биологический материал, очистка, идентификация и количественное определение

Введение

Альбендазол ([5-(пропилтио)-1Н-бензимидазол-2-ил]карбаминовой кислоты метиловый эфир) (синонимы: гелмадол, зентел, немозол, саноксал) представляет собой противоглистный лекарственный препарат широкого спектра действия, применяемый для лечения глистных инвазий людей и животных. Механизм действия связан с подавлением полимеризации β -тубулина, что приводит к разрушению цитоплазматических микрочанальцевых клеток кишечного тракта паразитов, альбендазол также подавляет синтез АТФ и утилизацию глюкозы, кроме того, препарат блокирует перемещение органелл в мышечных клетках червей, что приводит к их гибели [1, 2].

Альбендазол эффективен в отношении множества кишечных паразитов, включая простейших, цистод и нематод, а также при заражении тканевыми паразитами, особенно при цистных инвазиях. Следует отметить и эффективность препарата при полиинвазиях [3, 4].

Альбендазол (брутто-формула $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, молекулярная масса 265.33 г/моль) представляет собой беловатый или белый аморфный порошок. Он хорошо растворим в муравьиной кислоте и сильных кислотах, щелочах, диметилформамиде и диметилсульфоксиде, плохо растворим в метаноле, этаноле, метилхлориде, хлороформе и нерастворим в воде [5–7].

Исследуемое вещество обладает токсическим действием в отношении теплокровных. При его пероральном введении крысам LD_{50} составляет 1500 мг/кг. Известны отравления людей альбендазолом и другими производными бензимидазола. Кроме общих негативных эффектов альбендазола, таких как реакции гиперчувствительности (кожная сыпь, зуд) и диспептические расстройства (тошнота, рвота, диарея, боли в эпигастральной области), можно выделить экспериментально доказанное его тератогенное воздействие на эмбрион [8–10].

Активное использование альбендазола для лечения гельминтозов, его токсичность и недостаточная изученность в химико-токсикологическом отношении делают важной задачей его химико-токсикологического анализа.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей определения и динамики разложения альбендазола в биологическом материале.

1. Экспериментальная часть

Объектом данного исследования являлся альбендазол ([5-(пропилтио)-1Н-бензимидазол-2-ил]карбаминовой кислоты метиловый эфир) с содержанием основного вещества не менее 98%.

Проведен поиск оптимального агента и условий изолирования альбендазола из модельных смесей с биологическим материалом. Принимались во внимание также результаты извлечения классическими методами (Стаса – Отто, П. Валова, А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко).

Модельные смеси представляли собой 0.1%-ные композиции альбендазола с тканью печени (размер частиц 2–5 мм), выдержанные в течение 45 мин при комнатной (18–22 °С) температуре [11–13].

Изолирование аналита из модельных смесей проводили в режиме инфузии (настаивания) 14 растворителями различной полярности. В каждом случае настаивание осуществляли дважды по 45 мин порциями растворителя, двукратно по массе превышающими количество биоматериала, извлечения объединяли, фильтровали через бумажный фильтр, доводили до фиксированного объема и количественно (0.3 мл) наносили на хроматографическую пластину типа «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ в виде полосы. В качестве подвижной фазы использовали сочетание изопропанола и гексана (8:2). Для идентификации альбендазола находили величину R_f на хроматограммах (0.64 ± 0.03) после детектирования УФ-светом. Вырезали участок хроматограммы, содержащий альбендазол, и элюировали 5 мл ДМФА, после чего спектрофотометрировали на приборе СФ-2000 в кюветках с толщиной рабочего слоя 1 см.

По величине оптической плотности полученного элюата при 301 нм на фоне ДМФА определяли количество анализа на основе использования градуировочного графика следующего вида: $A = 0.044249 \cdot C + 0.002049$, где A – величина оптической плотности; C – содержание альбендазола в фотометрируемом растворе, мкг/мл [14, 15].

После выявления оптимального извлекающего агента (критерий – степень извлечения) определяли наиболее рациональные условия изолирования в ряду критериев: время, кратность настаивания, соотношение масс изолирующего агента и биоматрицы.

Изучали возможность применения очистки анализа от соэкстрактивных веществ биоматрицы в два этапа: сначала использовался метод жидкость-жидкостной экстракции, затем – адсорбционной хроматографии в колонке силикагеля L 40/100 мкм (190 × 10 мм). Элюат собирали фракциями по 2 мл. Определение анализа в элюате проводили методом УФ-спектрофотометрии (прибор СФ-2000; кюветы с l 1 см) [16, 17].

Как возможные методы определения подлинности были рассмотрены методы ТСХ, ВЭЖХ-МС/МС, УФ-спектрофотометрии [18–20].

Для предварительной идентификации с помощью метода ТСХ (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ) определяли величину R_f после детектирования УФ-светом (λ 254 нм). В качестве подвижной фазы использовали смесь изопропанол – гексан (8:2).

Для подтверждающего анализа рассмотрен метод ВЭЖХ-МС/МС, сочетающий ультравысокоэффективную жидкостную хроматографию (прибор фирмы Bruker Daltonics) в колонке с обращенной фазой и масс-спектрометрию (масс-спектрометр типа «ионная ловушка» amaZon speed фирмы Bruker Daltonics) [18–20].

Для подтверждающей идентификации и количественного определения применялся метод УФ-спектрофотометрии в среде ДМФА (критерии идентификации – форма спектральной кривой и максимумы полос поглощения, количественного определения – интенсивность поглощения света в области аналитического максимума (301 нм)).

С помощью разработанной в ходе исследований методики изучали динамику распада альбендазола в биоматериале на основе определения количественного содержания изучаемого соединения в экспериментальных смесях, выдерживаемых вместе с контрольными образцами при заданных температурных диапазонах: 0–2 °С, 8–10 °С и 18–22 °С. Для этого через определенные промежутки времени параллельно брали на анализ по 5 г экспериментальной смеси и контрольного образца биоматрицы.

2. Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования продемонстрировали, что классические методы изолирования показали низкую (не более 35%) степень извлечения анализа. Оптимальным изолирующим агентом для извлечения альбендазола из биоматериала является ацетон. Извлечение целесообразно проводить в режиме двукратной инфузии при получасовой продолжительности каждого ее этапа и соотношении масс ацетона и биоматрицы 2:1.

Табл. 1

Хроматографическое поведение альбендазола и структурно родственных соединений при определении методом ТСХ

Подвижная фаза	Альбендазол		Тиабендазол		Мебендазол		2-(фенил-метил)-1Н-бензимидазол	
	R _f	R _s	R _f	R _s	R _f	R _s	R _f	R _s
Хлороформ	0.13	0.67	0.18	0.93	0.11	0.6	0.19	1.00
Ацетонитрил	0.44	0.64	0.63	0.90	0.72	1.04	0.69	1.00
Ацетонитрил – толуол (9:1)	0.46	0.80	0.41	0.72	0.36	0.63	0.85	1.00
Ацетонитрил – толуол (7:3)	0.65	1.27	0.57	0.8	0.65	1.27	0.71	1.00
Изопропанол – гексан (8:2)	0.64	0.79	0.58	0.71	0.70	0.86	0.81	1.00
Изопропанол – гексан (2:8)	0.43	0.54	0.4	0.51	0.49	0.62	0.79	1.00
Ацетонитрил – тетра-хлорметан (6:4)	0.49	0.75	0.42	0.65	0.45	0.69	0.65	1.00
Ацетон – метилен – хлорид (8:2)	0.88	0.97	0.86	0.94	0.86	0.94	0.91	1.00
Ацетон – метилен – хлорид (5:5)	0.75	0.88	0.75	0.88	0.71	0.83	0.85	1.00
Изопропанол – ацетон – толуол (1:1:8)	0.54	0.77	0.51	0.74	0.67	0.97	0.70	1.00

Данные исследований характера хроматографического поведения альбендазола и ряда структурно родственных производных бензимидазола в тонком слое силикагеля (пластины «Сорбфил»; внутренний стандарт – 2-(фенилметил)-1Н-бензимидазол) представлены в табл. 1.

На основании данных табл. 1 можно заключить, что для идентификации альбендазола методом ТСХ целесообразно применение подвижной фазы изопропанол – гексан (8:2). В этом случае величины R_f и R_s аналита, характеризующие абсолютную и относительную хроматографическую подвижность, равны соответственно 0.64 и 0.79.

В процессе очистки методом жидкость-жидкостной экстракции альбендазол переводят в диметилформамидный раствор, который в 5 раз разбавляют буфером с рН 5 и экстрагируют аналит из гидрофильного слоя метиленхлоридом в условиях присутствия в гидрофильном слое электролита – хлорида натрия.

При хроматографировании в колонке силикагеля L 40/100 мкм в качестве подвижной фазы возможно использование смеси ацетон-метиленхлорид (9:1). В этих условиях выход аналита наблюдается с фракциями элюата 11–17 (21–34) мл.

Для воспроизведения метода ВЭЖХ-МС/МС в ходе подтверждающего анализа на приборе фирмы Bruker Daltonics оптимальным является использование хроматографической колонки Intensity Solo 2 C18 размерами 100 × 2.1 мм. При этом применяли градиентное элюирование с использованием двух элюирующих агентов – А и Б. Элюент А состоял из деионизированной воды с 0.1%-ным содержанием ацетонитрила и 0.1%-ным содержанием кислоты муравьиной, 5 мМ

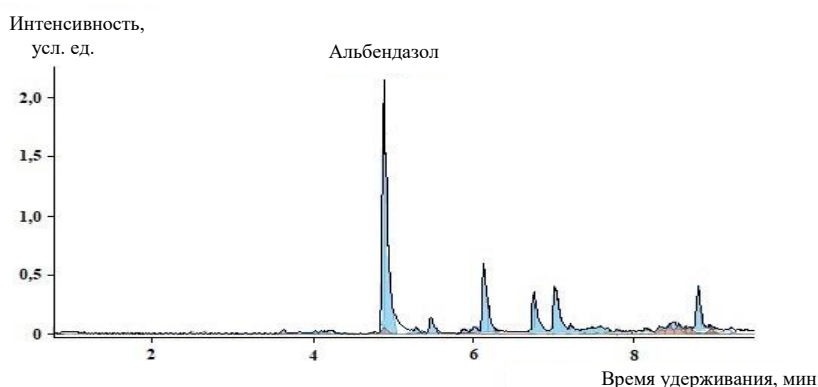


Рис. 1. Хроматограмма альбендазола (наиболее интенсивный пик), извлеченного из печени

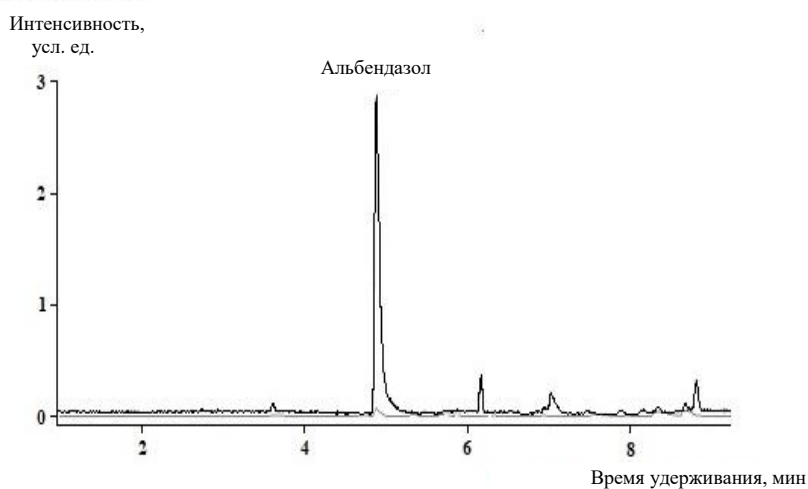


Рис. 2. Хроматограмма стандарта альбендазола с концентрацией 100 нг/мл

формиата аммония, элюент Б представлял собой ацетонитрил с 0.1%-ным содержанием деионизированной воды и 0.1%-ным содержанием кислоты муравьиной, 5 мМ формиата аммония. Применен следующий режим элюирования: 0 мин – 1% Б, далее – увеличение до 99% Б с 1 по 8 мин, с 8 по 9 мин – 99% Б, с 9 по 10 мин уменьшение до 1% Б, затем до 11 мин – 1% Б. Температура термостатирования колонки – 40 °С, скорость потока подвижной фазы – 0.5 мл/мин, объем вводимой пробы – 5 мкл. В качестве способа ионизации применялся электро-спрей (протонирование молекулы).

На хроматограмме извлеченного из биоматериала вещества (рис. 1) по сравнению с хроматограммой стандарта (рис. 2) не наблюдаются дополнительные интенсивные пики и заметное увеличение фонового поглощения. Параметры хроматографирования анализируемого вещества и стандарта совпадают.

Характеристики масс-спектров 1-го, 2-го и 3-го порядков стандарта альбендазола и альбендазола, извлеченного из биоматрицы, представлены в табл. 2.

Массы частиц, присутствующих в спектрах альбендазола, извлеченного из биоматрицы, практически совпадают с массами соответствующих частиц, присутствующих в спектрах альбендазола-стандарта.

Табл. 2

Характеристика масс-спектров стандарта альбендазола и альбензазола, извлеченного из биоматериала

Частицы (m/z), присутствующие в масс-спектрах стандарта альбендазола			Частицы (m/z), присутствующие в масс-спектрах альбендазола, выделенного из биоматериала		
спектр 1-го порядка	спектр 2-го порядка	спектр 3-го порядка	спектр 1-го порядка	спектр 2-го порядка	спектр 3-го порядка
265.99	233.97 (1+)	159.13 (1+)	265.95	293.97 (1+)	159.09 (1+)
287.94 (1+)		191.83 (1+)	287.93 (1+)		191.83 (1+)

В контрольных опытах с тканью печени, не содержащей альбендазол, установлено, что фоновое поглощение части элюата, соответствующего фракциям, в которых возможно присутствие рассматриваемого вещества, составляет 0.12 (измерение в области аналитической длины волны для определения аналита методами спектрофотометрии). Такая оптическая плотность обусловлена содержанием в 1 см³ фотометрируемого раствора остатков соэкстрактивных веществ из 1 г печени.

3. Методика определения альбендазола в биологическом материале

3.1. Изолирование. Из 5 г модельной смеси (измельченной печени (размер частиц 2–5 мм), содержащей альбендазол) аналит изолировали дважды по 30 мин путем инфузии с ацетоном (масса каждой порции 10 г) при периодическом перемешивании. Извлечения объединяли и освобождали от механических включений с помощью бумажного фильтра, предварительно смоченного чистым ацетоном. Затем очищенные извлечения после их объединения высушивали досуха при комнатной температуре (18–20 °С).

3.2. Очистка жидкость-жидкостной экстракцией в сочетании с колонной хроматографией обычного давления. Остаток, полученный по завершении стадии изолирования, растворяли в 5 мл диметилформамида, довели до 25 мл буферным раствором с рН 5.02, насыщали натрия хлоридом и экстрагировали метиленхлоридом дважды по 25 мл при продолжительности каждого этапа экстрагирования 5 мин. Два полученных экстракта объединяли и упаривали досуха при комнатной температуре (18–20 °С). Остаток растворяли в 2 мл смеси ацетон-метиленхлорид (9:1), полученный раствор вводили в колонку силикагеля L 40/100 мкм и элюировали в описанных выше условиях. Полученные фракции (с 11 по 17) объединяли, высушивали досуха и растворяли в 7–8 мл диметилформамида, количественно переносили в мерную колбу на 10 мл и добавляли в колбу диметилформамид до метки. По 4 мл полученного раствора испаряли в отдельных выпарительных чашках (№ 1, № 2) досуха.

3.3. Идентификация. Остаток в чашке № 1 растворяли в 0.3 мл диметилформамида и полосой количественно наносили на пластину «Сорбфил», после детектирования УФ-светом определяли величину R_f (0.64 ± 0.03).

Табл. 3

Результаты количественного определения альбендазола в модельных смесях с биоматериалом (ткани печени)

Внесено альбендазола (мг в 25 г объекта)	Найдено альбендазола, % ($n = 5; P = 0.95$)			
	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	S	S_r	$S_{\bar{x}}$
1.25	85 ± 4	2.92	0.034	1.31
2.5	86 ± 3	2.37	0.027	1.06
10.0	86 ± 2	1.90	0.021	0.85
25.0	87 ± 2	1.73	0.019	0.77
50.0	88 ± 2	1.58	0.017	0.71

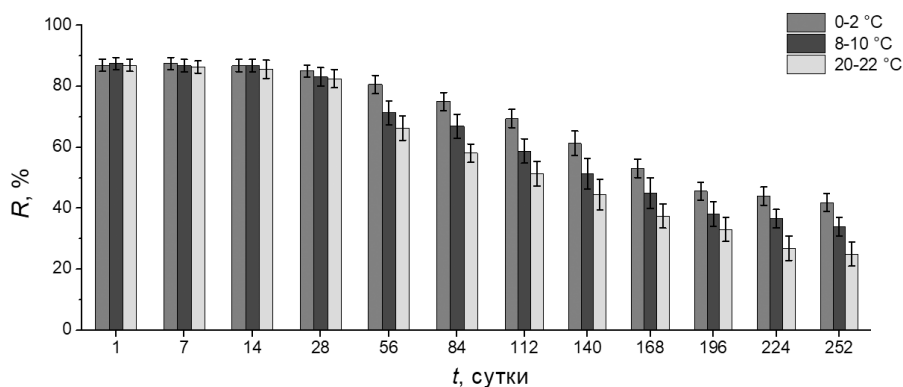


Рис. 3. Динамика разложения альбендазола в биологическом материале

Остаток в чашке № 2 растворяли в 1 мл элюента Б и проводили исследование методом ВЭЖХ-МС/МС при указанных ранее условиях. Идентифицировали по значению времени удерживания (4.92 ± 0.05 мин) и характерным масс-спектрам 1-го, 2-го и 3-го порядков.

После идентификации методом ТСХ вырезали участок, содержащий альбендазол, и элюировали 5 мл ДМФА, после чего спектрофотометрировали на приборе СФ-2000, в кюветках с толщиной рабочего слоя 1 см. По положению точек экстремумов и форме спектра проводили идентификацию.

3.4. Количественное определение. По величине оптической плотности полученного диметилформамидного элюата при 301 нм на фоне диметилформамида определяли количество аналита, учитывая уравнение градуировочного графика. Результаты определения аналита по разработанной методике в модельных смесях с тканью печени представлены в табл. 3.

Данные таблицы указывают на то, что при содержании аналита в исследуемых смесях в концентрации 0.005–0.2% разработанная методика позволяет определять $[(85–88) \pm (2–4)]\%$ альбендазола.

Изучение динамики разложения альбендазола в биологическом материале, проведенное с помощью разработанной методики, позволило получить результаты, отраженные в графической форме на рис. 3. Из рисунка видно, что продолжительность присутствия альбендазола увеличивается при снижении температуры сохранения биоматериала.

Было выявлено, что в интервале температур 0–22 °С альбендазол сохраняется в биологическом материале по крайней мере в течение 36 недель. При сохранении альбендазола в температурных режимах 0–2 °С, 8–10 °С и 18–22 °С уменьшение содержания аналита в модельных смесях с тканью печени составляет соответственно 87–43%, 88–35% и 87–25%.

Валидация предлагаемой методики определения альбендазола в биологическом материале с использованием УФ-спектрофотометрии показала ее соответствие критериям линейности, правильности, прецизионности и селективности.

Методика обеспечивает пределы обнаружения и количественного определения альбендазола соответственно на уровне 0.5 и 1.0 мг в 100 г биоматериала.

Заключение

Для изолирования альбендазола из биологического материала предложено настаивание с ацетоном, обеспечивающее степень извлечения аналита из биоматериала на 85–88% (ткани печени). Представлена возможность очистки полученных извлечений от соэкстрактивных веществ биоматрицы сочетанием жидкость-жидкостной экстракции и колоночной хроматографии низкого давления в силикагеле L 40/100 мкм.

Предложена методика идентификации альбендазола методами ТСХ, ВЭЖХ-МС/МС и УФ-спектрофотометрии. Валидация методики количественного определения альбендазола в биологическом материале с использованием УФ-спектрофотометрии в среде диметилформамида показала ее соответствие критериям линейности, правильности, прецизионности и селективности. Пределы обнаружения и количественного определения альбендазола составляют соответственно 0.5 и 1.0 мг в 100 г биоматериала. С применением предложенной методики изучена динамика разложения альбендазола в ткани печени при различных температурах. При этом выявлено, что альбендазол сохраняется в биологическом материале при температурах 0–2 °С, 8–10 °С, 18–22 °С более 8 месяцев.

Разработанные подходы могут быть использованы для химико-токсикологического анализа альбендазола в биологических объектах при проведении судебно-химической и эколого-токсикологической экспертиз.

Литература

1. Albendazole. Vidal. – URL: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1301>.
2. De Oliveira M.F., Stradiotto N.R. Voltammetric assay of albendazole in pharmaceutical dosage forms // Anal. Lett. – 2001. – V. 34, No 3. – P. 377–387. – doi: 10.1081/AL-100102580.
3. Zuhri A.Z.A., Hussein A.I., Musmar M.J., Yaish S. Adsorptive stripping voltammetric determination of albendazole at a hanging mercury drop electrode // Anal. Lett. – 1999. V. 32, No 15. – P. 2965–2975. – doi: 10.1080/00032719908543020.
4. Fregonezi-Nery M.M., Baracat M.M., Kedor-Hackmann É.R.M., Pinheiro R.M. Determination of albendazole in oral suspension // Anal. Lett. – 2001. – V. 34, No 8. – P. 1255–1263. – doi: 10.1081/AL-100104151.
5. Albendazole // Pub Chem. Open Chemistry Database. – URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2082>.

6. *Basavaiah K., Prameela H.C.* Kinetic and titrimetric determination of albendazole using bromate and methyl orange // *Indian J. Pharm. Sci.* – 2005. – V. 67, No 1. – P. 57–60.
7. *Atkoşar Z., Göksel A.* The determination of albendazole by flow injection analysis method using UV-detection and HPLC method in suspensions // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* – 2006. – V. 29, No 6. – P. 849–856. – doi: 10.1080/10826070500531201.
8. *Васин А.Е., Белоусова З.П., Зарубин Ю.П., Пурыгин П.П.* Изучение токсичности некоторых производных бензимидазола // *Бутлеровские сообщения.* – 2015. – Т. 41, № 3. – С. 119–123.
9. *Delatour P., Parish R.C., Gyurik R.J.* Albendazole: A comparison of relay embryotoxicity with embryotoxicity of individual metabolites // *Ann. Rech. Vet.* – 1981. – V. 12, No 2. – P. 159–167.
10. *Хромова С.Н.* Изучение острой токсичности микрокапсулированного альбендазола // *Материалы докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями».* – 2006. – Вып. 7. – С. 431–432.
11. *Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П.* Определение фурадана в биологических жидкостях // *Судебно-медицинская экспертиза.* – 2005. – Т. 48, № 5. – С. 36–38.
12. *Шорманов В.К., Иванов В.П., Королев В.А., Маслов С.В., Жуков Д.А., Олимпиев И.Б., Олейник С.М.* Судебно-химическое определение фурадана // *Судебно-медицинская экспертиза.* – 2005. – Т. 48, № 3. – С. 27–31.
13. *Шорманов В.К., Щербаков Д.П.* Определение альбендазола в условиях химико-токсикологического анализа // *Вестн. соврем. клин. мед.* – 2018. – Т. 11, Вып. 3. – С. 44–50.
14. *Tella A.C., Olabemiwo O.M., Salawu M.O., Obiyenwa G.K.* Developing a spectrophotometric method for the estimation of albendazole in solid and suspension forms // *Int. J. Phys. Sci.* – 2010. – V. 5, No 4. – P. 379–382.
15. *Mandal C., Bhattacharyya S.M., Maity A.K., Gupta B.K., Ghosal S.K.* Determination of albendazole in tablet formulations by UV spectrophotometric method // *Indian Drugs.* – 1992. – V. 29. – P. 323–324.
16. *Шорманов В.К., Асташкина А.П., Тарасова О.В., Сухомлинов Ю.А., Пугачёва О.И., Орехова Л.О.* Определение моногидроксиаренов методом ТСХ // *Сорбционные и хроматографические процессы.* – 2017. – Т. 17, Вып. 6. – С. 648–656.
17. *Шорманов В.К., Андреева Ю.В., Герасимов Д.А., Маркелов М.Ю., Омельченко В.А.* Применение методов обращеннофазовой хроматографии для идентификации и количественного определения флутамида и близких по структуре веществ в биологических жидкостях // *Сорбционные и хроматографические процессы.* – 2016. – Т. 16, № 6. – С. 868–879.
18. *Шорманов В.К., Щербаков Д.П.* Определение альбендазола в биоматериале // *Новшества в медицине и фармакологии: Сб. науч. тр. по итогам междунар. науч.-практ. конф.* – Тюмень: Фед. центр науки и образования «Эвенсис», 2017. – Вып. 2. – С. 26–28.
19. *Sharma K., Kandaswamy M., Mithra C., Meena A.K., Giri S., Rajagopal S., Mullangi R.* Highly sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous quantitation of albendazole and ricobendazole in rat plasma and its application to a rat pharmacokinetic study // *Bio-med. Chromatogr.* – 2012. – V. 26, No 2. – P. 247–255. – doi: 10.1002/bmc.1654.
20. *Blasco C., Font G., Picó Y.* Analysis of pesticides in fruits by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-ion trap-triple stage mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* – 2005. – V. 1098, No 1–2. – P. 37–43. – doi: 10.1016/j.chroma.2005.08.037.

Шорманов Владимир Камбулатович, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии

Курский государственный медицинский университет
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Россия
E-mail: *r-wladimir@yandex.ru*

Щербаков Денис Павлович, аспирант кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии

Курский государственный медицинский университет
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Россия
E-mail: *D.Sherbakov90@yandex.ru*

Гармонов Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. Карла Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: *serggar@mail.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2021, vol. 163, no. 2, pp. 209–220

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2021.2.209-220

Features of Albendazole Determination and Dynamics of Its Decomposition in Biological Material

V.K. Shormanov^{a}, D.P. Shcherbakov^{a**}, S.Yu. Garmonov^{b***}*

^a*Kursk State Medical University, Kursk, 305041 Russia*

^b*Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia*

E-mail: ^{*}*r-wladimir@yandex.ru*, ^{**}*D.Sherbakov90@yandex.ru*, ^{***}*serggar@mail.ru*

Received March 1, 2021

Abstract

Albendazole ([5-(propylthio)-1H-benzimidazol-2-yl]carbamic acid methyl ester) is a benzimidazole derivative drug that has anthelmintic activity and is especially effective against various nematodes. Along with pronounced pharmacological action, this compound is toxic to humans. Cases of poisoning with this substance and other benzimidazole derivatives are not uncommon. Despite the active use of albendazole in medical practice and its toxicity, many questions of the chemical and toxicological analysis of albendazole remain practically unexplored. In this regard, it is advisable to study albendazole in chemical and toxicological terms. This paper aims to analyze the determination and dynamics of albendazole decomposition in biological material.

Acetone was used as a chemical agent for albendazole isolation from the liver as a biomaterial. Purification of the obtained extracts was carried out sequentially in a column (190 × 11 mm) of silica gel L 40/100 μm (eluent – acetone-methylene chloride (9:1)) and by liquid-liquid extraction. The methods of thin-layer chromatography (TLC), high-performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), UV spectrophotometry were used for identification. The quantitative content of the analyte was determined using UV spectrophotometry by the absorption of the dimethylformamide (DMF) medium at 301 nm. The level of albendazole extraction from the biomaterial was 85–88%.

Using the selected optimal conditions for isolation and purification, the dynamics of albendazole decomposition of in the biomaterial was studied based on the model mixtures with liver tissue stored

at different temperatures. It was established that albendazole was still present in the biological material at temperatures of 0–2 °C, 8–10 °C, 18–22 °C for at least 36 weeks.

Keywords: albendazole, isolation, biological material, purification, identification and quantification

Figure Captions

Fig. 1 Chromatogram of albendazole (the most intense peak) extracted from the liver.

Fig. 2 Chromatogram of the albendazole standard with a concentration of 100 ng/mL.

Fig. 3 Dynamics of albendazole decomposition in the biological material.

References

1. Albendazole. Vidal. Available at: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1301>.
2. De Oliveira M.F., Stradiotto N.R. Voltammetric analysis of albendazole in pharmaceutical dosage forms. *Anal. Lett.*, 2001, vol. 34, no. 3, pp. 377–387. doi: 10.1081/AL-100102580.
3. Zuhri A.Z.A., Huseyn A.I., Musmar M.J., Yaish S. Adsorption voltammetric determination of albendazole on a hanging mercury drop electrode. *Anal. Lett.*, 1999, vol. 32, no. 15, pp. 2965–2975. doi: 10.1080/00032719908543020.
4. Fregonesi-Nery M.M., Barakat M.M., Kedor-Hackmann É.R.M. Determination of albendazole in oral suspension. *Anal. Lett.*, 2001, vol. 34, no. 8, pp. 1255–1263. doi: 10.1081/AL-100104151.
5. Albendazole. *Pub Chem. Open Chemistry Database*. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2082>.
6. Basavaiah K., Prameela H.C. Kinetic and titrimetric determination of albendazole using bromate and methyl orange. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2005, vol. 67, no. 1, pp. 57–60.
7. Atkoşar Z., Göksel A. Determination of albendazole by flow injection analysis using UV-detection and HPLC method in suspensions. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2006, vol. 29, no. 6, pp. 849–856. doi: 10.1080/10826070500531201.
8. Vasin A.E., Belousova Z.P., Zarubin Yu.P., Purygin P.P. Studying the toxicity of some benzimidazole derivatives. *Butlerovskie Soobshch.*, 2015, vol. 41, no. 3, pp. 119–123. (In Russian)
9. Delatour P., Parish R.C., Gyurik R.J. Albendazole: A comparison of relay embryotoxicity with embryotoxicity of individual metabolites. *Ann. Rech. Vet.*, 1981, vol. 12, no. 2, pp. 159–167.
10. Khromova S.N. Studying the acute toxicity of microencapsulated albendazole. *Materialy dokl. nauch. konf. "Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami"* [Proc. Sci. Conf. "Theory and Practice of Preventing Parasitic Diseases"], 2006, no. 7, pp. 431–432. (In Russian)
11. Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Duritsyn E.P. Furadan determination in biological fluids. *Sud.-Med. Ekspert.*, 2005, vol. 48, no. 5, pp. 36–38. (In Russian)
12. Shormanov V.K., Ivanov V.P., Korolev V.A., Maslov S.V., Zhukov D.A., Olimp'ev I.B., Oleinik S.M. Forensic-chemical determination of furadan. *Sud.-Med. Ekspert.*, 2005, vol. 48, no. 3, pp. 27–31. (In Russian)
13. Shormanov V.K., Shcherbakov D.P. Albendazole determination in chemical and toxicological analysis. *Vestn. Sovrem. Klin. Med.*, 2018, vol. 11, no. 3, pp. 44–50. (In Russian)
14. Tella A.C., Olabemiwo O.M., Salawu M.O., Obiyenwa G.K. Developing a spectrophotometric method for the estimation of albendazole in solid and suspension forms. *Int. J. Phys. Sci.*, 2010, vol. 5, no. 4, pp. 379–382.
15. Mandal C., Bhattacharyya S.M., Maity A.K., Gupta B.K., Ghosal S.K. Determination of albendazole in tablet formulations by UV spectrophotometric method. *Indian Drugs*, 1992, vol. 29, pp. 323–324.
16. Shormanov V.K., Astashkina A.P., Tarasova O.V., Sukhomlinov Yu.A., Pugacheva O.I., Orekhova L.O. Determination of monohydroxyarenes by the TLC method. *Sorbtsionnye Khromatogr. Protsessy*, 2017, vol. 17, no. 6, pp. 648–656. (In Russian)
17. Shormanov V.K., Andreeva Yu.V., Gerasimov D.A., Markelov M.Yu., Omel'chenko V.A. Using reverse-phase chromatography methods for identification and quantitative determination of flutamide and similar substances in biological fluids. *Sorbtsionnye Khromatogr. Protsessy*, 2016, vol. 16, no. 6, pp. 868–879. (In Russian)

18. Shormanov V.K., Shcherbakov D.P. Determination of albendazole in biomaterial. In: *Novshetva v meditsine i farmakologii* [Innovations in Medicine and Pharmacology]. Tyumen, Fed. Tsentr Nauki Obraz. "Evensis", 2017, no. 2, pp. 26–28. (In Russian)
19. Sharma K., Kandaswamy M., Mithra C., Meena A.K., Giri S., Rajagopal S., Mullangi R. Highly sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous quantitation of albendazole and ricobendazole in rat plasma and its application to a rat pharmacokinetic study. *Biomed. Chromatogr.*, 2012, vol. 26, no. 2, pp. 247–255. doi: 10.1002/bmc.1654.
20. Blasco C., Font G., Picó Y. Analysis of pesticides in fruits by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-ion trap-triple stage mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2005, vol. 1098, nos. 1–2, pp. 37–43. doi: 10.1016/j.chroma.2005.08.037.

Для цитирования: Шорманов В.К., Щербakov Д.П., Гармонов С.Ю. Особенности определения альбендазола и динамики его разложения в биологическом материале // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2021. – Т. 163, кн. 2. – С. 209–220. – doi: 10.26907/2542-064X.2021.2.209-220.

For citation: Shormanov V.K., Shcherbakov D.P., Garmonov S.Yu. Features of albendazole determination and dynamics of its decomposition in biological material. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2021, vol. 163, no. 2, pp. 209–220. doi: 10.26907/2542-064X.2021.2.209-220. (In Russian)