Количественное определение ивермектина в составе полимерных микрочастиц

А. И. Могайбо^{1,2*}, А. В. Мелешко^{1,2}, В. В. Суслов¹, О. И. Рыбченко¹, Ю. М. Домнина¹, С. А. Кедик¹

¹ ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА), 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

² АО «Институт фармацевтических технологий» (АО «ИФТ»), 121353, Россия, г. Москва, Сколковское шоссе, д. 21, офис 1

* Контактное лицо: Могайбо Анастасия Игоревна. E-mail: mogaibo@yandex.ru

ORCID: А. И. Могайбо – <https://orcid.org/0000-0003-3759-2866>; А. В. Мелешко – <https://orcid.org/0000-0002-1073-5073>; В. В. Суслов – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>; О. И. Рыбченко – <https://orcid.org/0000-0002-1326-3577>; Ю. М. Домнина – <https://orcid.org/0000-0002-2745-9431>; С. А. Кедик – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>.

Статья поступила: 01.07.2021

Статья принята в печать: 19.01.2022

Статья опубликована: 25.02.2022

Резюме

Введение. Ивермектин известен как ветеринарное средство с широким спектром действия в отношении эндо- и экзопаразитов сельскохозяйственных животных, что делает его применение перспективным. Поэтому в настоящее время исследуется возможность создания пролонгированных парентеральных лекарственных форм с использованием полимерных биоразлагаемых носителей. Для осуществления их контроля качества необходима методика количественного определения активного вещества. Большинство предложенных ранее методик отличаются трудоемкой пробоподготовкой, сложным составом подвижной фазы или длительным временем анализа, поэтому в ходе разработки инъекционного пролонгированного препарата ивермектина на основе микрочастиц поликапролактона была предложена новая методика количественного определения ивермектина, отличающаяся простотой и пригодная для применения на производстве.

Цель. Разработка методики количественного определения ивермектина в составе микрочастиц поликапролактона и проведение ее валидации.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали микрочастицы поликапролактона содержащие инкапсулированный ивермектин. Методика количественного определения ивермектина в исследуемом образце разрабатывалась на высокоэффективном жидкостном хроматографе Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенный диодно-матричным детектором.

Результаты и обсуждение. В настоящей работе изучены различные условия количественного определения ивермектина в составе микрочастиц поликапролактона. На основании полученных данных и результатов разработана методика, обладающая оптимальной пробоподготовкой и условиями проведения анализа.

Заключение. В результате проведения разработки методики выбраны условия проведения анализа, которые позволяют оценивать количественное содержание ивермектина в образце. Проведена валидация методики по параметрам специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность.

Ключевые слова: ивермектин, полимерные микрочастицы, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. В. Суслов и С. А. Кедик придумали и разработали эксперимент. С. А. Кедик, В. В. Суслов, Ю. М. Домнина и О. И. Рыбченко синтезировали образцы и провели их исследование. А. И. Могайбо и А. В. Мелешко разработали аналитическую методику. А. И. Могайбо и А. В. Мелешко участвовали в обработке данных. О. И. Рыбченко и Ю. М. Домнина проводили теоретические расчеты. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Для цитирования: Могайбо А. И., Мелешко А. В., Суслов В. В., Рыбченко О. И., Домнина Ю. М., Кедик С. А. Количественное определение ивермектина в составе полимерных микрочастиц. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(1):90–97. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-1-90-97>

Quantitative Determination of Ivermectin in Polymer Microspheres

Anastasiia I. Mogaibo^{1,2*}, Anastasiia V. Meleshko^{1,2}, Vasilii V. Suslov¹, Oxana I. Rybchenko¹, Yuliya M. Domnina¹, Stanislav A. Kedik¹

¹ Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "MIREA – Russian Technological University", 86, Vernadsky av., Moscow, 119571, Russia

² JSC Institute of Pharmaceutical Technologies, 21/1, Skolkovskoye highway, Moscow, 121353, Russia

* Corresponding author: Anastasiia I. Mogaibo. E-mail: mogaibo@yandex.ru

ORCID: Anastasiia I. Mogaibo – <https://orcid.org/0000-0003-3759-2866>; Anastasiia V. Meleshko – <https://orcid.org/0000-0002-1073-5073>;

Vasilii V. Suslov – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>; Oxana I. Rybchenko – <https://orcid.org/0000-0002-1326-3577>; Yuliya M. Domnina – <https://orcid.org/0000-0002-2745-9431>;

Stanislav A. Kedik – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>.

Received: 01.07.2021

Revised: 19.01.2022

Published: 25.02.2022

Abstract

Introduction. Ivermectin is known as a veterinary agent with a wide spectrum of action against endo- and exoparasites of farm animals, which makes its use promising. Therefore, the possibility of creating prolonged parenteral dosage forms using polymer biodegradable carriers is currently being investigated. To carry out their quality control, a method of quantitative determination of the active substance is necessary. Most of

the previously proposed methods are characterized by time-consuming sample preparation, complex composition of the mobile phase or a long analysis time, therefore, during the development of an injectable prolonged preparation of ivermectin based on polycaprolactone microparticles, a new method for the quantitative determination of ivermectin was proposed, which is simple and suitable for use in production.

Aim. Development of a method for the quantitative determination of ivermectin in the composition of polycaprolactone microparticles and its validation.

Materials and methods. Microparticles with ivermectin were used as the object of the study. The method of quantitative determination of ivermectin in the test sample was developed on a high-performance liquid chromatograph Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA), equipped with a diode-matrix detector.

Results and discussion. In this paper, various conditions for the quantitative determination of ivermectin in the composition of polymer microparticles are studied. Based on the obtained data and results, a method has been developed that has optimal sample preparation and analysis conditions.

Conclusion. As a result of the development, the conditions for the analysis were selected, which allow us to evaluate the quantitative content of ivermectin in the sample. The method was validated for the parameters specificity, analytical area, linearity, trueness, repeatability, intermediate precision.

Keywords: ivermectin, polymer microparticles, high-performance liquid chromatography, validation

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Vasiliy V. Suslov and Stanislav A. Kedik invented and developed an experiment. Stanislav A. Kedik, Vasiliy V. Suslov, Yuliya M. Domnina and Oxana I. Rybchenko synthesized samples and conducted their research. Anastasiia I. Mogaibo and Anastasiia V. Meleshko developed an analytical methodology. Anastasiia I. Mogaibo and Anastasiia V. Meleshko participated in data processing. Oxana I. Rybchenko and Yuliya M. Domnina carried out theoretical calculations. All the authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

For citation: Mogaibo A. I., Meleshko A. V., Suslov V. V., Rybchenko O. I., Domnina Yu. M., Kedik S. A. Quantitative determination of ivermectin in polymer microspheres. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2022;11(1):90–97. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-1-90-97>

ВВЕДЕНИЕ

Ивермектин представляет собой амакроциклический лактон, который известен как противопаразитарное средство уже более 30 лет [1–3]. Он является ветеринарным средством с широким спектром действия, в отношении эндо- и эктопаразитов сельскохозяйственных животных, проявляет очень высокую эффективность против желудочно-кишечных и легочных нематод, а также против оводов и клещей [4–5]. Благодаря своим свойствам ивермектин считается эффективным противопаразитарным средством для крупного рогатого скота, свиней и овец [6–8]. А так же является перспективным средством в борьбе с вирусом COVID-19 [9–11].

В настоящее время активно исследуется возможность создания пролонгированных парентеральных лекарственных форм с использованием полимерных биоразлагаемых носителей [4, 5, 12]. Большинство методик, предложенных ранее для количественного определения ивермектина, отличаются трудоемкой пробоподготовкой, сложным составом подвижной фазы и длительным временем анализа [13–15]. В связи с этим в ходе разработки инъекционного пролонгированного препарата ивермектина на основе микрочастиц поликапролактона нами предложена новая методика количественного определения ивермектина.

Ранее для анализа количественного содержания ивермектина в микрочастицах поликапролактона была предложена методика, требующая использования

токсичного метанола и длительной пробоподготовки, в ходе которой проводили отделение ивермектина от поликапролактона [16].

Подготовку образцов согласно данной методике проводили следующим образом: микрочастицы с ивермектином растворяли в хлористом метиле. Полученный раствор выдерживали в течение ночи при комнатной температуре для испарения растворителя и образования пленки, содержащей полимер и ивермектин в не инкапсулированной форме. Затем в каждый образец добавляли метанол для селективного извлечения ивермектина из полимера, который полностью нерастворим в метаноле. Далее, после двухчасового перемешивания при 300 об/мин, суспензию фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр 0,45 мкм для отделения твердого полимера от раствора ивермектина. Полученный таким образом раствор ивермектина анализировали методом ВЭЖХ.

Аналогичный метод экстракции применялся для определения ивермектина в составе полимерных имплантатов [17]. Для этого каждый имплантат измельчался, пропитывался хлористым метилом, а затем полученная суспензия проходила пробоподготовку полностью аналогичную описанной ранее.

Проанализировав известные из литературных источников методики количественного определения ивермектина [13–17] мы пришли к решению изменить состав подвижной фазы, а также упростить процесс пробоподготовки, что позволит быстрее получать

воспроизводимые результаты и делает метод доступным для рутинного анализа.

Цель работы заключалась в разработке методики количественного определения ивермектина в составе микрочастиц поликапролактона и проведение ее валидации.

В ходе разработки методики количественного определения ивермектина в составе микрочастиц поликапролактона было необходимо подобрать такие условия хроматографирования и пробоподготовки, которые бы минимизировали негативное влияние на оборудование полимера и при этом были максимально экспрессны и эффективны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Микрочастицы поликапролактона ($Mn_{cp} = 80\,000$ Да, Sigma-Aldrich, США); с инкапсулированным ивермектином (Huashu Pharmaceutical Corporation, Китай) [18].

Оборудование

Высокоэффективный жидкостный хроматограф Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США) оснащенный диодно-матричным детектором; хроматографическая колонка Luna C18 ($150 \times 4,6$ мм, диаметр частиц 5 μm , размер пор 100 Å) (Phenomenex, США); ванна ультразвуковая 1,3л/2 «Сапфир» ТТЦ (РМД); установка для фильтрования Millipore (Merck Millipore, США).

Используемые реактивы

Ивермектин (USP Reference Standard, кат. № 1354309), *n*-пропанол (х.ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия), ацетонитрил (Panreac, Испания, HPLC-gradient grade, кат. № 200-835-2), вода для хроматографии (Milli Q или аналогичного качества), поликапролактон ($Mn_{cp} = 80\,000$ Да, Sigma-Aldrich, США); ивермектин (Huashu Pharmaceutical Corporation, Китай).

Метод ВЭЖХ

Разделение проводили в изократическом режиме.

Приготовление подвижной фазы: В стеклянную бутылку вместимостью 500 мл помещали 50 мл воды, 350 мл ацетонитрила и 100 мл 1-пропанола. Полученный раствор перемешивали и дегазировали с помощью ультразвука в течение 10 мин.

Образцы растворяли в подвижной фазе.

Приготовление стандартного раствора ивермектина: В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали около 10 мг (точная навеска) стандартного образца ивермектина, растворяли в ацетонитриле, перемешивали и доводили объем раствора ацетонитрилом до метки.

0,1 мл полученного раствора, помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали.

Приготовление испытуемого раствора: В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали около 10 мг (точная навеска) образца микрочастиц, растворяли в ацетонитриле, обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин, доводили объем раствора ацетонитрилом до метки и перемешивали.

0,2 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали.

Приготовление раствора поликапролактона: В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 50 мг поликапролактона, прибавляли около 70 мл ацетонитрила, перемешивали и обрабатывали до растворения с помощью ультразвука. Раствор доводили до метки ацетонитрилом.

0,1 мл полученного раствора, помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали.

Анализ ивермектина проводился на колонке Phenomenex Luna C18 $150 \times 4,6$ мм с диаметром частиц 5 мкм и размером пор 100 Å. Скорость подвижной фазы 1 мл/мин. Температура колонки 40 °С. Детектирование осуществляли на длине волны 250 нм. Испытуемый образец вводили объемом 20,0 мкл. Элюирование осуществляли в изократическом режиме.

В хроматограф, выведенный на рабочий режим, последовательно вводили не менее 5 раз стандартный раствор ивермектина для анализа. На хроматограммах идентифицировали пик ивермектина и определяли его площадь. Время удерживания ивермектина в данных условиях около 4,7 мин (рисунок 1). В качестве критерия пригодности хроматографической системы приняли, что число теоретических тарелок, рассчитанное по пику ивермектина на хроматограммах стандартного образца не менее 5000.

Расчет:

Содержание ивермектина в полимерных микрочастицах (X , %) определяли по формуле:

$$X = \frac{S_{исп.} \cdot C_{Ст} \cdot 500 \cdot P}{S_{Ст} \cdot a} \cdot 100 \%,$$

где X – содержание ивермектина в образце, %; $C_{Ст}$ – концентрация раствора стандартного образца, мг/мл; $S_{Ст}$ – площадь пика стандартного образца, mAU · сек; $S_{исп.}$ – площадь пика испытуемого образца, mAU · сек; a – навеска испытуемого образца, мг; 500 – коэффициент, учитывающий разбавление испытуемого образца; P – содержание основного вещества в стандартном образце, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Для сокращения времени и упрощения пробоподготовки нами было предложено проводить анализ растворов микрочастиц, а для снижения негативного воздействия поликапролактона на колонку снизить концентрацию анализируемого раствора до минимума. В качестве растворителя для пробоподготовки,

Рисунок 1. Хроматограммы идентификации пика ивермектина и определения его площади.

1 – хроматограмма раствора микрочастиц с ивермектином; 2 – хроматограмма стандартного раствора ивермектина; 3 – хроматограмма раствора поликапролактона

Figure 1. Chromatograms of identification of the ivermectin peak and determination of its area.

1 – chromatogram of a solution of microparticles with ivermectin; 2 – chromatogram of ivermectin standard solution; 3 – chromatogram of polycaprolactone solution

нами был использован ацетонитрил, в котором анализируемые микрочастицы хорошо растворяются.

С целью уменьшения негативного действия поликапролактона на колонку при сохранении достаточной эффективности пика и возможности его адекватно интегрировать было использовано разбавление анализируемого образца микрочастиц в 1000 раз, при котором искомая концентрация ивермектина составляла около 0,010 мг/мл. После использования хроматографической колонки для лабораторного анализа полимерных микрочастиц в течение года (порядка 1500 инъекций растворов микросфер), была проведена оценка ее состояния в условиях, приведенных в сопроводительной документации. Число теоретических тарелок и фактор симметрии полученных пиков соответствовали предъявляемым в паспорте требованиям, что подтверждает то, что в подобранных условиях анализа поликапролактон действительно не оказывает негативного действия на хроматографическую колонку.

Поскольку метанол, входящий в состав подвижных фаз, используемых в разработанных ранее методиках [16, 17], является токсичным и контролируемым согласно законодательству РФ растворителем, то было принято решение заменить его на менее токсичный 1-пропанол в той же концентрации.

Полученная подвижная фаза, содержащая воду очищенную (15 % об.), 1-пропанол (34 % об.), ацетонитрил (51 % об.), имела достаточно высокую вязкость. Это приводило к тому, что давление в системе превышало верхний допустимый предел и делало подвижную фазу такого состава непригодной для использования.

Увеличение содержания ацетонитрила до 70 % об. и снижение содержания воды очищенной (10 % об.) и 1-пропанола (20 % об.) позволило получить подвижную фазу с удовлетворительной вязкостью.

Следует отметить, что более высокое содержание органических компонентов 1-пропанола и ацетонитрила в подвижной фазе будет способствовать удалению с колонки поликапролактона, что положительно скажется на сроке ее службы.

Для подтверждения пригодности разработанной методики количественного определения ивермектина в составе полимерных микрочастиц была проведена ее валидация в соответствии с требованиями ГФ XIV [19] по следующим параметрам: специфичность, правильность, линейность, прецизионность (повторяемость и внутрिलाбораторная сходимость).

Специфичность подтверждали на основе сравнения результатов хроматографирования растворителя, раствора поликапролактона [рисунок 1 (3)], стандарт-

ного раствора ивермектина [рисунок 1(2)], раствора полимерных микрочастиц с ивермектином [рисунок 1 (1)].

На хроматограммах растворителя и раствора placebo отсутствуют пики, препятствующие определению ивермектина. Пик, соответствующий ивермектину на хроматограмме раствора полимерных микрочастиц для анализа [рисунок 1 (1)], имеет такое же время удерживания, как пик на хроматограмме стандартного раствора ивермектина для анализа [рисунок 1 (2)].

Исходя из определяемого содержания ивермектина составляющего около 50 %, аналитическая область методики находится в диапазоне 40–60 %. Линейность методики была проверена при анализе пяти концентраций, находящихся в аналитической области (8,00; 9,00; 10,00; 11,00; 12,00 мкг/мл) (таблица 1, рисунок 2).

Значение коэффициента корреляции составляет 0,9931, что удовлетворяет требованиям критерия линейности. Линейность методики установлена.

Чтобы оценить правильность разрабатываемой методики готовили методом добавок растворы, соответствующие концентрационным уровням ивермектина 80, 100, 120 %. В качестве критериев приемлемости выбрали следующие: среднее значение фактора отклика, относительное стандартное отклонение $\leq 3,0\%$, а доверительный интервал должен включать 100 % значение. Результаты валидации по параметру правильность приведены в таблице 2.

Для оценки прецизионности методики по параметру повторяемость (сходимость) было проанализировано шесть образцов полимерных микрочастиц с ивермектином одним сотрудником лаборатории в течении 1 дня на одном приборе (таблица 3). Для подтверждения внутрилабораторной прецизионности было проанализировано по 6 образцов одной серии полимерных микрочастиц с ивермектином двумя сотрудниками лаборатории в разные дни на разном оборудовании (таблица 4).

Таблица 1. Валидация методики количественного определения ивермектина в полимерных микрочастицах по параметру линейность

Table 1. Validation of the method of quantitative determination of ivermectin in polymer microparticles by the linearity parameter

Уровень концентрации, % Concentration level, %	Расчетное содержание ивермектина, мкг/мл Calculated ivermectin content, mcg/ml	Площадь пика ивермектина, mAU · мин Ivermectin peak area, mAU · min	Отклонение от номинального значения, % Deviation from the nominal value, %
80	8,00	4,3878	0,84
80	8,00	4,3684	0,28
90	9,00	4,8325	1,13
90	9,00	4,8239	0,91
100	10,00	5,1258	2,16
100	10,00	5,1220	2,25
110	11,00	5,6321	0,35
110	11,00	5,6545	0,12
120	12,00	6,1230	0,86
120	12,00	6,1171	0,75
Статистические характеристики Statistical characteristics	Результаты Results	Критерии приемлемости Eligibility criteria	
Уравнение регрессионной прямой The equation of the regression line	$y = 429,89x + 0,9198$	$y = bx + a$	
Коэффициент корреляции R^2 Correlation coefficient R^2	0,9931	$\geq 0,99$	

Относительное стандартное отклонение не должно превышать 3,0 %. Требования критерия прецизионность по параметру повторяемость (сходимость) выполнены.

Рисунок 2. Графическое отображение параметра линейность
Figure 2. Graphical display of the Linearity parameter

Таблица 2. Валидация методики количественного определения ивермектина в полимерных микрочастицах по параметру правильность

Table 2. Validation of the method of quantitative determination of ivermectin in polymer microparticles by the correctness parameter

Уровень концентрации, % Concentration level, %	Расчетное содержание, мкг/мл Calculated content, mcg/ml	Полученное содержание, мкг/мл The resulting content, mcg/ml	Отклик, % Response, %	Среднее значение отклика, % Average response value, %
80	8,00	7,94	99,31	99,95
	8,00	7,98	99,75	
	8,00	8,06	100,78	
100	10,00	10,02	100,20	100,14
	10,00	9,98	99,78	
	10,00	10,04	100,44	
120	12,00	11,91	99,24	100,12
	12,00	11,99	99,88	
	12,00	12,15	101,24	
Статистические характеристики Statistical characteristics			Результаты, % Results, %	Критерии приемлемости Eligibility criteria
Среднее значение Average value			100,07	95–105 %
Стандартное отклонение Standard deviation			0,66	–
Относительное стандартное отклонение Relative standard deviation			0,66	≤3,0
Верхняя граница доверительного интервала (P = 95 %) Upper bound of the confidence interval (P = 95 %)			100,58	должен включать 100 % значение must include 100 % value
Нижняя граница доверительного интервала (P = 95 %) The lower limit of the confidence interval (P = 95 %)			99,56	

Таблица 3. Валидация методики количественного определения ивермектина в полимерных микрочастицах по параметру повторяемость (сходимость)

Table 3. Validation of the method of quantitative determination of ivermectin in polymer microparticles by the repeatability (convergence) parameter

Номер пробы Sample number	Площадь пика ивермектина, mAU · мин Ivermectin peak area, mAU · min	Содержание ивермектина в полимерных микрочастицах, % The content of ivermectin in polymer microparticles, %
1	5,1244	48,90
2	5,1892	49,66
3	5,1226	48,88
4	5,1145	48,79
5	5,1591	49,31
6	5,2428	50,28
Статистические характеристики Statistical characteristics		Результаты Results
Среднее содержание, % Average content, %		49,30
Стандартное отклонение, % Standard deviation, %		0,58
Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %		1,18
Доверительный интервал (P = 95 %), мг Confidence interval (P = 95 %), mg		±0,61

Относительное стандартное отклонение по результатам измерений в течение двух дней должно составлять не более 3,0 %. Критерий Фишера составил 1,01, что удовлетворяет предъявленным критериям. Требования критерия прецизионности по параметру внутрилабораторная прецизионность выполнены.

Полученные расчетные и экспериментальные значения, полностью удовлетворяли предъявленным критериям, что позволяет сделать заключение о корректности применения методики количественного определения ивермектина в полимерных микрочастицах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы удалось разработать методику количественного определения ивермектина в составе полимерных микрочастиц. Полученная методика отличается экспрессностью, эффективностью и простотой процедуры пробоподготовки исследуемого образца. В завершении была проведена валидация разработанной методики по параметрам специфичность, аналитическая область, линейность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность. Тесты выполнены в полном объеме и удовлетворяют всем предъявляемым требованиям.

На следующем этапе планируется разработка методики определения родственных примесей в образцах микрочастиц поликапролактона инкапсулированных ивермектином и изучение их стабильности.

Таблица 4. Валидация методики количественного определения ивермектина в полимерных микрокапсулах по параметру внутрилабораторная прецизионность

Table 4. Validation of the method of quantitative determination of ivermectin in polymer microparticles by the parameter intra-laboratory precision

Номер пробы Sample number	Сотрудник 1 Employee 1		Сотрудник 2 Employee 2	
	Площадь пика ивермектина, mAU · min Ivermectin peak area, mAU · min	Содержание ивермектина в полимерных микрокапсулах, % The content of ivermectin in polymer microparticles, %	Площадь пика ивермектина, mAU · min Ivermectin peak area, mAU · min	Содержание ивермектина в полимерных микрокапсулах, % The content of ivermectin in polymer microparticles, %
1	5,1244	48,90	5,2361	50,20
2	5,1892	49,66	5,2392	50,24
3	5,1226	48,88	5,1776	49,52
4	5,1145	48,79	5,1392	49,07
5	5,1591	49,31	5,2110	49,91
6	5,2428	50,28	5,2226	50,04
Статистические характеристики Statistical characteristics				
Среднее содержание, % Average content, %			49,30	49,83
Стандартное отклонение, % Standard deviation, %			0,58	0,45
Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %			1,18	0,91
Доверительный интервал (P = 95 %), мг Confidence interval (P = 95 %), mg			0,61	0,47
F(5 %; 5; 5) = 5,05			1,68	

ЛИТЕРАТУРА

- Meleny W. P. Abstract Paper: 61st Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago: Ill, USA; 1980.
- Burg R. W., Miller B. M., Baker E. E. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1979;15(3):361–367 DOI: 10.1128/aac.15.3.361.
- Soll M. D., Carmichael I. H., Swan G. E., Scherer H. Control of cattle mange in southern africa using ivermectin. *Tropical Animal Health and Production*. 1987;19(2):93–102 DOI: 10.1007/bf02297327.
- Dorati R., Genta I., Colzani B., Tripodo G., Conti B. Preliminary investigation on the design of biodegradable microparticles for ivermectin delivery: set up of formulation parameters. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2015;41(7):1182–1192. DOI: 10.3109/03639045.2014.935395.
- Lifschitz A., Virkel G., Ballent M., Sallovitz J., Imperiale F., Pis A., Lanusse C. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: Absorption pattern and pharmacokinetic considerations. *Veterinary parasitology*. 2007;147:303–310. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.04.009.
- Campbell W. C., Fisher M. H., Stapley E. O. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*. 1983;221(4613):823–828 DOI: 10.1126/science.6308762.

- Pulliam J. D., Seward R. L., Henry R. T., Steinberg S. A. Investigating ivermectin toxicity in collies. *Veterinary Medicine*. 1985;80:33–40.
- Mendes A. M., Albuquerque I. S., Machado M., Pissarra J., Meireles P., Prudencio M. Inhibition of Plasmodium liver infection by ivermectin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:1–9. DOI: 10.1128/AAC.02005-16.
- Caly L., Druce J. D., Catton M. G., Jans D. A., Wagstaff K. M. The FDA-approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*. 2020;178:104787 DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104787.
- Arévalo A. P., Pagotto R., Pórfido J. L., Daghero H., Segovia M., Yamasaki K., Varela B., Hill M., Verdes J. M., Duhalde Vega M., Bol-lati-Fogolin M., Crispo M. Ivermectin reduces in vivo coronavirus infection in a mouse experimental model. *Scientific Reports*. 2021;11(1):7132. DOI: 10.1038/s41598-021-86679-0.
- Zaheer T., Pal K., Abbas R. Z., del Pilar Rodríguez Torres M. COVID-19 and ivermectin: Potential threats associated with human use. *Journal of Molecular Structure*. 2021;1243:130808. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130808.
- Tavares E. J. M., De Araújo D. R., Fraceto, L. F. Ivermectin-loaded polymeric nanoparticles: Screening the effects of polymers, methods, and the usefulness of mathematical models. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2017;17(6):4218–4234. DOI: 10.1166/jnn.2017.13111.
- Devaka N., Rao V. Chromatographic Quantification of Ivermectin and Pranziquantel in the Tablets Using Stability Indicating RP-HPLC Method. *Pharmaceutical Sciences*. 2019;25(3):254–261. DOI: 10.15171/PS.2019.41.
- Nischal K., Somshekar B., Abhilekha P. M., Sharadamma K. C., Radhakrishna P. M. A Simple RP-HPLC Method for Estimation of Triclabendazole and Ivermectin in a Pharmaceutical Suspension Dosage Form. *Current Pharma Research*. 2011;1(4):306–310 DOI: 10.33786/JCPR.2011.V01I04.003.
- Vegad K. L., Paranjape D. B., Shah D. A., Patel E. D., Patel Y. K., Patel K. R. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of ivermectin and clorsulon in ivercam injection. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2017;7(08):523–531.
- Dorati R., Genta I., Colzani B., Modena T., Bruni G., Tripodo G., Conti B. Stability Evaluation of Ivermectin-Loaded Biodegradable Microspheres. *AAPS PharmSciTech*. 2015;16(5):1129–1139 DOI: 10.1208/s12249-015-0305-1.
- Dorati R., Conti B., Colzani B., Dondi D., Lazzaroni S., Modena T., Genta I. Ivermectin controlled release implants based on poly-D,L-lactide and poly-ε-caprolactone. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018;4:101–110. DOI 10.1016/j.jddst.2018.04.014.
- Рыбченко О. И., Суслев В. В., Домнина Ю. М., Инкапсулирование ивермектина в микрокапсулы поликапролактона. В кн.: Научные исследования молодых ученых: сборник статей XII Международной научно-практической конференции. Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение»; 2021. С. 226–230. Доступно по: <https://naukaip.ru/wp-content/uploads/2021/06/%D0%9C%D0%9A-1137.pdf>. Ссылка активна на 09.08.2021.
- ГФ XIV ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analiticheskikh-metodikh/> Ссылка активна на 09.08.2021.

REFERENCES

- Meleny W. P. Abstract Paper: 61st Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago: Ill, USA; 1980.
- Burg R. W., Miller B. M., Baker E. E. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1979;15(3):361–367 DOI: 10.1128/aac.15.3.361.
- Soll M. D., Carmichael I. H., Swan G. E., Scherer H. Control of cattle mange in southern africa using ivermectin. *Tropical Animal Health and Production*. 1987;19(2):93–102 DOI: 10.1007/bf02297327.

4. Dorati R., Genta I., Colzani B., Tripodo G., Conti B. Preliminary investigation on the design of biodegradable microparticles for ivermectin delivery: set up of formulation parameters. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2015;41(7):1182–1192. DOI: 10.3109/03639045.2014.935395.
5. Lifschitz A., Virkel G., Ballent M., Sallovitz J., Imperiale F., Pis A., Lanusse C. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: Absorption pattern and pharmacokinetic considerations. *Veterinary parasitology*. 2007;147:303–310. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.04.009.
6. Campbell W. C., Fisher M. H., Stapley E. O. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*. 1983;221(4613):823–828 DOI: 10.1126/science.6308762.
7. Pulliam J. D., Seward R. L., Henry R. T., Steinberg S. A. Investigating ivermectin toxicity in colliers. *Veterinary Medicine*. 1985;80:33–40.
8. Mendes A. M., Albuquerque I. S., Machado M., Pissarra J., Meireles P., Prudencio M. Inhibition of Plasmodium liver infection by ivermectin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:1–9. DOI: 10.1128/AAC.02005-16.
9. Caly L., Druce J. D., Catton M. G., Jans D. A., Wagstaff K. M. The FDA-approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*. 2020;178:104787 DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104787.
10. Arévalo A. P., Pagotto R., Pórfido J. L., Daghero H., Segovia M., Yamasaki K., Varela B., Hill M., Verdes J. M., Duhalde Vega M., Bollati-Fogolin M., Crispo M. Ivermectin reduces in vivo coronavirus infection in a mouse experimental model. *Scientific Reports*. 2021;11(1):7132. DOI: 10.1038/s41598-021-86679-0.
11. Zaheer T., Pal K., Abbas R. Z., del Pilar Rodríguez Torres M. COVID-19 and ivermectin: Potential threats associated with human use. *Journal of Molecular Structure*. 2021;1243:130808. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130808.
12. Tavares E. J. M., De Araújo D. R., Fraceto, L. F. Ivermectin-loaded polymeric nanoparticles: Screening the effects of polymers, methods, and the usefulness of mathematical models. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2017;17(6):4218–4234. DOI: 10.1166/jnn.2017.13111.
13. Devaka N., Rao V. Chromatographic Quantification of Ivermectin and Pranziquantel in the Tablets Using Stability Indicating RP-HPLC Method. *Pharmaceutical Sciences*. 2019;25(3):254–261. DOI: 10.15171/PS.2019.41.
14. Nischal K., Somshekar B., Abhilekha P. M., Sharadamma K. C., Radhakrishna P. M. A Simple RP-HPLC Method for Estimation of Triclabendazole and Ivermectin in a Pharmaceutical Suspension Dosage Form. *Current Pharma Research*. 2011;1(4):306–310 DOI: 10.33786/JCPR.2011.V01I04.003.
15. Vegad K. L., Paranjape D. B., Shah D. A., Patel E. D., Patel Y. K., Patel K. R. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of ivermectin and clorsulon in ivercam injection. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2017;7(08):523–531.
16. Dorati R., Genta I., Colzani B., Modena T., Bruni G., Tripodo G., Conti B. Stability Evaluation of Ivermectin-Loaded Biodegradable Microspheres. *AAPS PharmSciTech*. 2015;16(5):1129–1139 DOI: 10.1208/s12249-015-0305-1.
17. Dorati R., Conti B., Colzani B., Dondi D., Lazzaroni S., Modena T., Genta I. Ivermectin controlled release implants based on poly-D,L-lactide and poly-ε-caprolactone. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018;4:101–110. DOI 10.1016/j.jddst.2018.04.014.
18. Rybchenko O. I., Suslov V. V., Domnina Yu. M., Encapsulation of ivermectin in polycaprolactone microparticles. In: Scientific research of young scientists: collection of the XII International Scientific and Practical Conference. Penza: MTsNS «Nauka i Prosveshchenie»; 2021. P. 226–230. Available at: <https://naukaip.ru/wp-content/uploads/2021/06/%D0%9C%D0%9A-1137.pdf>. Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)
19. GF XIV OFS.1.1.0012.15. Validatsiya analiticheskikh metodik [GF XIV OFS.1.1.0012.15 Validation of analytical methods]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analiticheskikh-metodik/> Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)