

ПРОТОКОЛЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ, ПОЛЕЗНЫЕ МОДЕЛИ, ПРОГРАММЫ И СЕРВИСЫ**МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**В.В. Шумянцева^{1,2*}, Т.В. Булко¹, П.И. Королева¹¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *e-mail: viktorija.shumyantseva@ibmc.msk.ru²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117513, Москва, ул. Островитянова, 1

Рассмотрены современные методы количественного анализа лекарственных препаратов. Особое внимание уделено электрохимическим методам регистрации лекарственных средств, основанным на реакции электроокисления молекул. Описаны системы и материалы для модификации электродов, а также методы получения модифицированных электродов для электрохимических реакций на поверхности электродов. Приведены данные авторов по электроанализу ацетаминофена, диклофенака, ибупрофена, омепразола с помощью электродов, модифицированных углеродными наноматериалами на основе углеродных нанотрубок и графена. Показано, что электроаналитические методы позволяют регистрировать терапевтические препараты в широком диапазоне определяемых концентраций (0.1 мкМ – 10 мМ). Они могут быть использованы для работы с биологическими жидкостями (плазма, кровь, моча), для проведения лекарственного мониторинга и исследования межлекарственных взаимодействий.

Ключевые слова: электроанализ; лекарственные препараты; диклофенак; ибупрофен; ацетаминофен; эритромицин**DOI:** 10.18097/BMCRM00110**ВВЕДЕНИЕ**

Анализ лекарственных препаратов (ЛП) представляет собой активно развивающуюся область аналитической химии, биохимии, нанотехнологий, нанобиотехнологий и различных технологических платформ. Аналитические методы анализа лекарственных средств необходимы на различных стадиях дизайна новых лекарственных средств, при исследовании их стабильности и контроля качества, изготовлении рецептурных форм, получении новых систем доставки лекарственных средств, исследовании фармакокинетики и фармакодинамики, метаболических биотрансформаций ксенобиотиков, проведении доклинических и клинических испытаний. ЛП могут быть проанализированы для выявления контрафактной продукции, наличия примесей, установления концентрации, проверки загрязнений сточных вод, а также для исследования каталитической активности ферментов, метаболизирующих ЛП.

В данной работе основное внимание уделено обсуждению электрохимических методов количественного анализа лекарственных средств. Приведены примеры анализа ЛП диклофенака (вольтарен), ибупрофена (нурофен), ацетаминофена (парацетамол), эритромицина, омепразола на основе электрохимических реакций.

1. ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Электрохимические измерения можно проводить с использованием потенциостата PGSTAT 12 Autolab, («Metrohm Autolab», Нидерланды) с программным обеспечением GPES, (версия 4.9.7) и PGSTAT 312N Autolab

с программным обеспечением NOVA (версия 2.0). В работе использовали трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати («КолорЭлектроник», Россия) с графитовыми рабочим и вспомогательным электродами и хлорсеребряным электродом сравнения. Диаметр рабочего электрода – 0.2 см (площадь 0.0314 см²). Все потенциалы приведены относительно хлоридсеребряного электрода сравнения (Ag/AgCl).

Для электроанализа ЛП рабочий электрод модифицируют дисперсией многостенных углеродных нанотрубок (УНТ) или графена (1 мг/мл). В данной работе использовали метод нековалентной функционализации печатного графитового электрода углеродными наноматериалами. Для осуществления модификации на поверхность рабочего графитового электрода наносят 2 мкл суспензии углеродных наноматериалов с концентрацией 1 мг/мл в водных растворах полимерных материалов [1] (Статья с подробным описанием приготовления стабильных дисперсий углеродных наноматериалов готовится к печати). После этого электроды 15 мин выдерживают при температуре 37°C до высыхания жидкости на поверхности рабочего электрода. Электроанализ лекарственных препаратов проводят в горизонтальном режиме измерений, при нанесении 60 мкл анализируемой пробы в 0.1 М калий-фосфатном буфере (pH 7.4) содержащем 0.05 М NaCl.

Для расчета чувствительности и предела определяемых концентраций следует строить зависимость тока пика окисления аналита (лекарственного средства) от его концентрации на основе экспериментально получаемых вольтамперограмм (рис. 1). На графике выделяют диапазон, в котором зависимость имела линейный характер. Полученные калибровочные зависимости используют для расчета



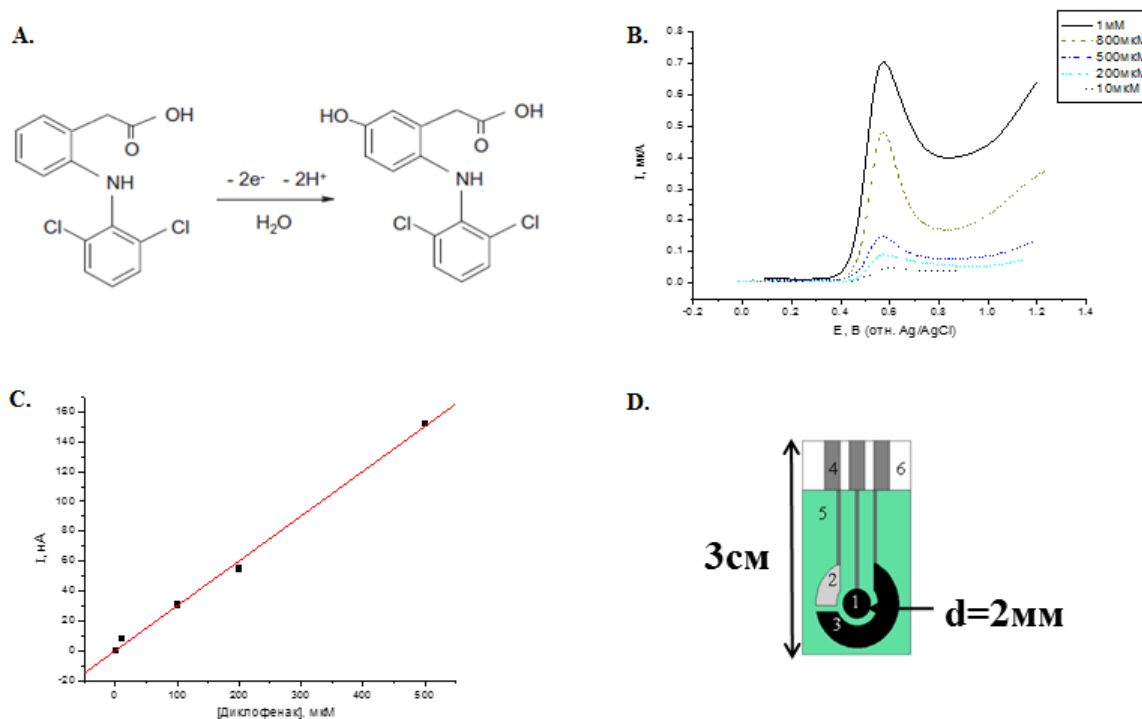


Рисунок 1. Принцип электрохимического анализа лекарственных препаратов. А. Механизм окисления диклофенака. В. Дифференциальная импульсная вольтамперограмма окислительного пика лекарственного препарата при разных концентрациях аналита. С. Зависимость максимальной амплитуды тока пика окисления аналита (лекарственного средства) при потенциале окисления ($E=0.6$ В) от его концентрации (калибровочная кривая). D. Общая схема электрода, получаемого методом трафаретной печати.

чувствительности (формула 1) и предела определяемых концентраций (формула 2):

$$S = \Delta I / \Delta C \quad (1)$$

$$LOD = k\sigma/S, \quad (2)$$

где S – чувствительность, I – ток, C – концентрация аналита, LOD – предел определяемых концентраций, σ – стандартное отклонение контрольного измерения (уровень шума), k – параметр, принимающий значения 1, 2 и 3 (статистическая достоверность 68.2%, 95.4%, 99.6% соответственно).

1. ТРАДИЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ: КРАТКИЙ ОБЗОР

Традиционные стандартные методы оценки качества лекарственных препаратов включают спектрофотометрию в УФ, видимой и средней ИК-области, флуоресцентные методы (в сочетании с модификациями квантовыми точками для визуализации) [2-5], спектроскопию ядерного магнитного резонанса [5] высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ, HPLC) [6-9], газовую хроматографию [10], иммуноанализ (анализ с применением соответствующих антител) [11], различные модификации масс-спектрометрических методов [12-14], а также комбинации методов, такие как HPLC/UV детектирование [15], HPLC-MS/MS анализ [16].

Современным направлением спектрофотометрии, используемым для анализа сложных многокомпонентных смесей лекарственных средств, являются хемометрические подходы с привлечением математической обработки спектров, например, методом главных компонент [17].

Для анализа макролидных, тетрациклиновых и пептидных антибиотиков используется планарная тонкослойная хроматография (ТСХ) [18].

ВЭЖХ за последние десятилетия во многом определила заметный прогресс в фармации и практической медицине. ВЭЖХ как универсальный и высокочувствительный метод анализа позволяет одновременно осуществлять контроль за содержанием нескольких лекарственных веществ, вспомогательных компонентов и возможных токсичных примесей в многокомпонентных системах, отличаясь при этом высокой точностью и воспроизводимостью [6-9].

Масс-спектрометрия – метод анализа, позволяющий определить молекулярную массу, молекулярную формулу и строение вещества. Его отличают высокая селективность, чувствительность и точность. Масс-спектрометрический метод анализа основан на ионизации молекул веществ, разделении ионов с разным отношением массы m к заряду z (m/z) и их регистрации [14]. Абсолютная чувствительность характеризует минимальное количество вещества в граммах или молях, необходимое для получения масс-спектра, относительная чувствительность – способность прибора определять данный компонент в смеси. Абсолютная чувствительность современных масс-спектрометров

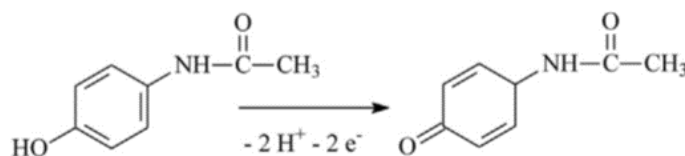


Рисунок 2. Схема электрохимического окисления ацетаминофена (парацетамола).

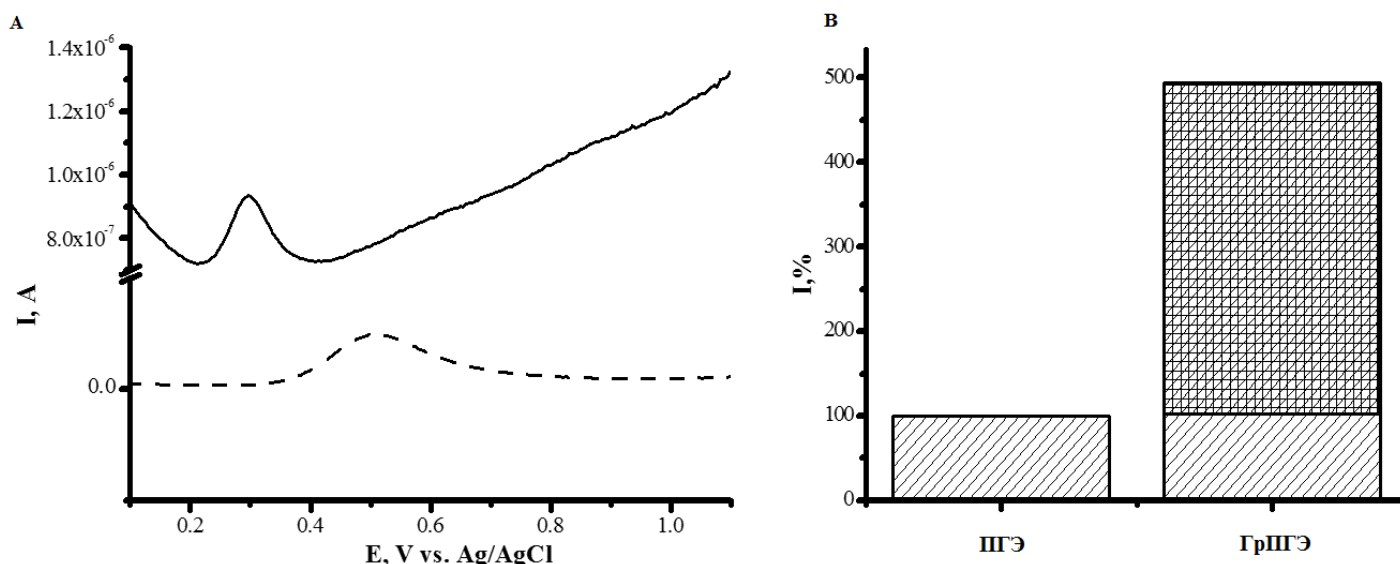


Рисунок 3. А. Дифференциальная импульсная вольтамперометрия 100 мкМ ацетаминофена на немодифицированном электроде (---) и на модифицированном дисперсией графена, допированного азотом (-). В. Сравнительные характеристики максимальной амплитуды тока дифференциальной импульсной вольтамперометрии 50 мкМ ацетаминофена для немодифицированного графитового электрода и электрода, модифицированного дисперсией графена, допированного азотом (Шумянцева В.В. и др., готовится к публикации).

составляет 10^{-14} – 10^{-12} г, в некоторых случаях этот показатель может быть еще меньше. Так, при использовании ионизации электрораспылением качественный масс-спектр можно получить при наличии 10 пг/л [16].

С помощью масс-спектрометрии можно анализировать высокомолекулярные соединения (белки, полипептиды, синтетические полимеры, композиции для адресной доставки лекарств) [12-14]. Масс-спектрометрия может быть применена для работы с биологическими жидкостями с целью терапевтического лекарственного мониторинга. К недостаткам метода относится то, что анализируемое вещество должно обладать достаточной способностью к ионизации (летучестью) и термической стабильностью. Отсутствие или низкая интенсивность в спектрах многих соединений сигнала молекулярного иона, а так же сложность анализа многокомпонентных систем затрудняет идентификацию целевого лекарственного средства в анализируемом образце.

Для анализа качества лекарственных препаратов активно внедряются экспресс-методы [19, 20]. Применение экспресс-методов необходимо также в связи с присутствием на фармацевтическом рынке лекарственных веществ, не отвечающих нормативным требованиям, включая контрафактную продукцию. Трудоемкость анализа и возможная погрешность при сопоставлении результатов, полученных в разных лабораториях и на разном оборудовании, диктуют необходимость применения более универсальных, экономичных и экспрессных методов контроля.

2. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Электрохимический анализ является строго количественным и позволяет рассчитать количество электроактивного соединения в пробе. Электроанализ с использованием наноматериалов, которые относятся, по современной терминологии, к «передовым, продвинутым материалам» (advanced materials), является

одним из наиболее чувствительных, экономичных и информативных методов в современной аналитической химии, биохимии, фармакологии [19-21]. Электроанализ ЛП основан на реакции присоединения/отдачи электронов, поставляемых электродом (реакции электроокисления/электровосстановления) и регистрации концентрационно-зависимой амплитуды тока при потенциале окисления/восстановления препарата [22, 23] (Рис. 1). Для проведения электроанализа возможно использование различных типов стационарных электродов: стеклоуглеродных, графитовых, золотых, допированных бором алмазных. Широко используются трехконтактные печатные электроды – одноразовые, промышленно выпускаемые графитовые электроды, получаемые последовательным нанесением на пластиковую основу проводящих слоев и изоляции методом трафаретной печати (ПГЭ). Алгоритм анализа ЛП с использованием электродов, получаемых методом трафаретной печати, заключается в проведении эксперимента в горизонтальном режиме измерений, что позволяет использовать минимальное количество пробы (60 мкл анализируемого раствора).

Нами были проанализированы ЛП с различным фармакологическим действием: ацетаминофен, диклофенак, ибупрофен, эритромицин, омепризол.

Самым востребованным классом ЛП, используемых современной медициной, являются обезболивающие средства. При всем разнообразии лекарств, представленных на современном фармакологическом рынке, спектр лекарственных средств, обладающих прямым обезболивающим действием, не столь велик и ограничивается, по сути, тремя группами лекарственных препаратов. Это ацетаминофен (парацетамол), нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и опиоидные анальгетики. Ацетаминофен (парацетамол, N-ацетил-п-аминофенол) – слабая органическая кислота с $pK=9.5$ (рис. 2).

Использование углеродных наноматериалов (углеродных нанотрубок, оксида графена, графена, допированного азотом) позволяет повысить аналитические характеристики сенсорных систем. Наиболее чувствительный сенсор с

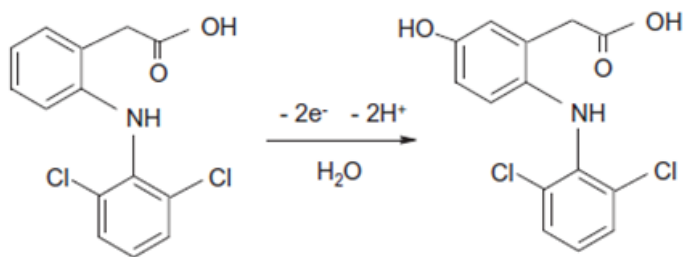


Рисунок 4. Схема электрохимического окисления диклофенака.

пределом определяемых концентраций ацетаминофена до 9×10^{-12} М и широким диапазоном 0.0002 – 15 мкМ описан в работе [24]. Авторы использовали стеклоглеродный электрод, модифицированный многостеночными углеродными нанотрубками.

Для модификации электродов широко используют стабильные дисперсии многостеночных углеродных нанотрубок и графена, допированного азотом в различных полимерных композициях (полиаллилдиметиламмоний хлорид (PDDA)/полистирол сульфонат (PSS), хитозан, ионные и полиионные жидкости) [1, 19, 25]. Наиболее значимыми свойствами, определяющими возможность использования ионных жидкостей при создании электрохимических систем, являются ионная проводимость, гидрофобность, вязкость и большая ширина электрохимического «окна» т.е. разность анодного и катодного потенциала окислительно-восстановительного процесса фонового электролита [25]. При использовании ПГЭ электроокисление ацетаминофена регистрируется при потенциале 0.5 В, при модификации ПГЭ дисперсией графена, допированного азотом, электроокисление ацетаминофена регистрируется при потенциале $0.25 \div 0.35$ В. Смещение окислительного потенциала в отрицательную область свидетельствует о более энергетически выгодном электродном процессе (рис. 3А) Диапазоны определяемых концентраций ацетаминофена составляют 10–100 мкМ и 100–000 нМ, что лежит в физиологических пределах лекарственных препаратов в биологических жидкостях [26].

Модификация нанокомпозитным материалом на основе графена, допированного азотом, существенно повышает чувствительность сенсорной системы (рис. 3В). Регистрируемая амплитуда анодного тока для модифицированного электрода (ГрПГЭ) возрастает в 5 раз.

Диклофенак («Вольтарен», «Вурдон», «Диклак», «Диклоберл», «Диклофенак», «Диклофенак Ретард», «Долекс», «Клодифен», «Наклофен», «Олфен», «Ортофен») – НПВП из группы производных фенилуксусной кислоты [27]. В лекарственных формах используется в виде натриевой соли. Диклофенак назначают при многих заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, остеоартрит, различные воспалительные процессы [28]. В некоторых случаях этот препарат может вызывать нежелательные побочные (явления) эффекты, такие как повышение артериального давления у пациентов с синдромом Шая-Драгера и сахарным диабетом, а также желудочные кровотечения или перфорацию. При длительном приеме диклофенака может развиваться инфаркт или инсульт [29]. В связи с этим анализ диклофенака и его метаболитов в биологических жидкостях является активно развивающейся областью биоаналитической химии. Электрохимические методы анализа диклофенака основаны на вольтамперометрическом анализе (квадратно-волновая

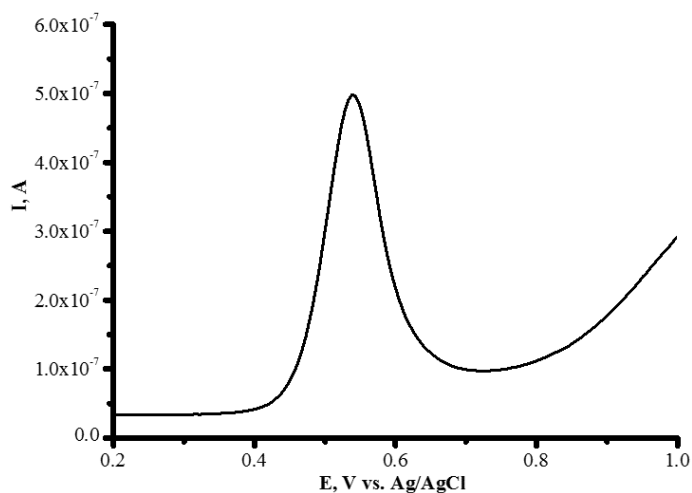


Рисунок 5. Дифференциальная импульсная вольтамперометрия 100 мкМ диклофенака на ПГЭ, модифицированных стабильными дисперсиями УНТ в полимерных материалах в диапазоне потенциалов 0.2–1 В, в аэробных условиях, при комнатной температуре (Шумянцева В.В. и др., готовится к публикации).

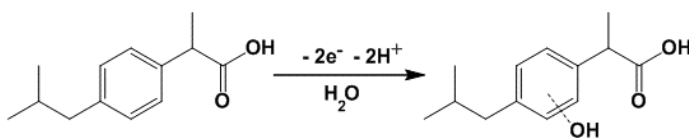


Рисунок 6. Схема электрохимического окисления ибупрофена.

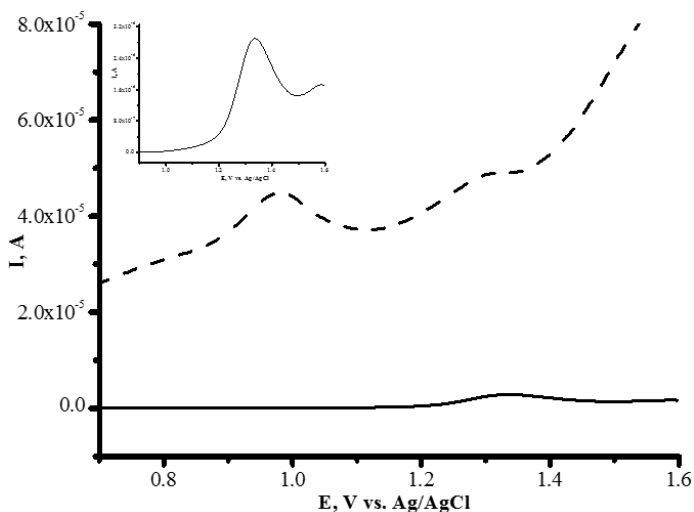


Рисунок 7. Дифференциальная импульсная вольтамперограмма 10 мМ ибупрофена на немодифицированном печатном графитовом электроде (—) и на ПГЭ, модифицированном дисперсией УНТ в хлороформе (---). Врезка: 10 мМ ибупрофен на ПГЭ. Измерения проводили в диапазоне потенциалов 0.6–1.6 В, в аэробных условиях, при комнатной температуре (Шумянцева В.В. и др., готовится к публикации).

или дифференциальная импульсная вольтамперометрия) с использованием модифицированных электродов [20–22]. Схема электрохимического окисления диклофенака приведена на рисунке 4. При модификации углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки, графен, оксид графена) электроокисление происходит при потенциале 0.5–0.6 В (рис. 5) [30]. Диапазоны определяемых концентраций диклофенака составляют 1–1000 нМ и 10–100 мкМ.

Таблица 1. Электроаналитические характеристики лекарственных препаратов

Лекарственное средство	Тип электрода	Потенциал окисления, В	Диапазон определяемых концентраций	Предел определяемых концентраций
Ацетаминофен (парацетамол)	ПГЭ/УНТ	0.35 ± 0.02	100 нМ - 100 мкМ	40 нМ
Диклофенак	ПГЭ/УНТ	0.53 ± 0.02	0.1 - 50 мкМ	35 нМ
Ибупрофен	ПГЭ/УНТ	0.97 ± 0.03	0.5 - 10 мМ	0.3 мМ
Эритромицин	СУЭ/АБ [33]	0.77 ± 0.03	0.2 - 10 мкМ	0.08 мкМ
Омепразол	ПГЭ/УНТ	0.70 ± 0.03	50 мкМ - 1 мМ	17 мкМ

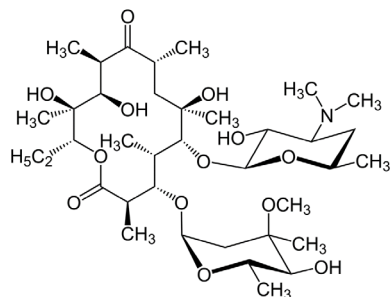


Рисунок 8. Химическая структура эритромицина.

Ибупрофен ((*RS*)-2-(4-изобутилфенил)-пропионовая кислота) – НПВП из группы производных пропионовой кислоты, обладает болеутоляющим и жаропонижающим действием [32]. В России ибупрофен зарегистрирован под торговым названием «Нурофен». Этот препарат обладает хорошей переносимостью и малым риском развития осложнений, а также оказывает жаропонижающие и противовоспалительные эффекты, что позволяет его широко использовать в клинической практике [33]. Схема электрохимического окисления ибупрофена представлена на рисунке 6.

Модификация графитового электрода дисперсией УНТ в хлороформе приводит к существенному смещению потенциала окисления ибупрофена в область отрицательных потенциалов (от 1.3 В до 1.0 В), а также к увеличению амплитуды окислительного пика, что свидетельствует о улучшении электронно-транспортных свойств электрода. Диапазон определяемых концентраций составляет 0.5 – 10 мМ. (рис. 7).

Эритромицин (рис. 8) относится к классу макролидных антибиотиков, применяется при лечении грамположительных и грамотрицательных бактериальных инфекций, широко используется в животноводстве [34]. Этот антибиотик используется также в случае непереносимости антибиотиков пенициллинового ряда [35, 36].

Механизм электрохимического окисления эритромицина и заключается в постадийном двухэлектронном окислении N-метильной группы [34, 35]. Для электрохимической регистрации эритромицина используют модифицированные углеродными наноматериалами электроды. Наночастицы ацетилена черного (Acetylene black nanoparticle) применены для модификации стеклоуглеродного электрода (СУЭ/АБ). Наночастицы ацетилена черного представляют собой материал с пористой структурой, большой поверхностью, хорошей электропроводностью и высокими адсорбционными свойствами. Регистрация эритромицина по окислительному пику при 0.77 В продемонстрирована в диапазоне концентраций 0.2 – 10 мкМ [35].

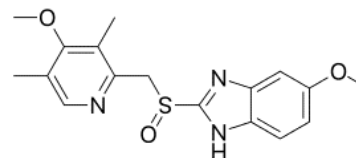


Рисунок 9. Химическая структура омепразола.

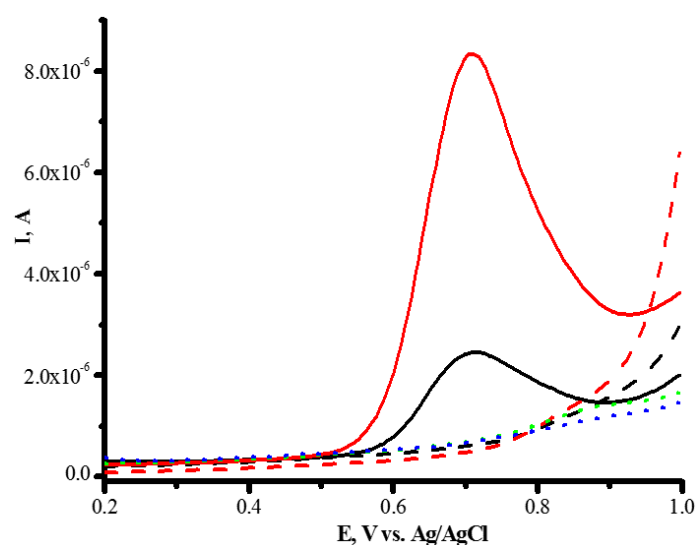


Рисунок 10. Дифференциальная импульсная вольтамперограмма омепразола 200 мкМ (-) и 1 мМ (-) омепразола с использованием УНТ/ПГЭ (Шумянцева В.В. и др., готовится к публикации).

Омепразол (omeprazole, Оmez) (рис. 9) лекарственное средство, угнетающее секрецию желудочной кислоты (относится к ингибиторам протонной помпы) и используемое при лечении язв желудка часто совместно с макролидными антибиотиками эритромицином или кларитромицином для угнетения *Helicobacter pylori* [37]. Показана возможность регистрации омепразола с помощью электроанализа [38, 39]. В наших экспериментах при использовании электродов, модифицированных стабильными дисперсиями УНТ, электроокисление омепразола наблюдается при потенциале 0.70 В (рис. 10). Диапазон определяемых концентраций составляет 20 мкМ ÷ 1 мМ.

Сравнительные характеристики параметров электроокисления лекарственных препаратов приведены в Таблице 1 (Шумянцева В.В. и др., готовится к публикации).

Электрохимические ячейки могут быть сопряжены с масс-спектрометрами. Принцип анализа заключается в том, что электрохимическая ячейка моделирует процесс ферментативных метаболических превращений, а последующий анализ с помощью масс-спектрометрии позволяет установить структуру соединения [40]. В



Рисунок 11. Дизайн электродов, получаемых методом трафаретной печати.

цитируемом обзоре приведены примеры исследования цитохром P450-моделирования метаболизма митохондриона (mitoxantrone). Показано образование метаболитов, аналогичных метаболитам в микросомах печени мышей и человека [40, 41].

Электроокисление лекарственных препаратов – субстратов цитохромов P450 – разработано нами для анализа каталитической активности этого класса гемопротеинов. Изменение (уменьшение) концентрации субстрата при электрокатализе цитохрома P450 позволяет количественно оценить скорость метаболизма субстрата и рассчитать кинетические параметры цитохром P450-зависимых ферментативных реакций [42, 43].

Для рутинных электрохимических измерений могут быть использованы коммерчески доступные портативные микропотенциостаты с программным обеспечением. Размеры таких портативных микропотенциостатов 13.2x10.0x3.6 см, 12.5x9.5x 4 см, 8.0x 5.4x2.3 см (<http://www.dropsens.com>). Анализ лекарственных препаратов может быть проведен с использованием взаимозаменяемых электродов, производимых методом трафаретной печати [44]. Электроды могут иметь различную конфигурацию, размер и материал рабочего (индикаторного) электрода, что расширяет возможности электроанализа (рис. 11).

Количественный анализ лекарственных средств является актуальной областью развития различных методов аналитической химии, биохимии, нанотехнологий, а также фарминдустрии и фармпроизводства. В статье показана значимая роль электроанализа в таких исследованиях как инструмента для оценки качества и чистоты препаратов, а также для исследования биохимических и кинетических особенностей поведения лекарств как субстратов ферментативных и биорецепторных систем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00374 и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sigolaeva, L.V., Bulko, T.V., Kozin, M.S., Zhang, W., Köhler, M., Romanenko, I., Yuan, J., Schacher, F.H., Pergushov, D.V., Shumyantseva, V.V. (2019) Long-term stable poly(ionic liquid)/MWCNTs inks enable enhanced surface modification for electrooxidative detection and quantification of dsDNA. *Polymer*, **168**, 95–103. DOI: 10.1016/j.polymer.2019.02.005
2. Passos, M., Saraiva, M. (2019) Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement*, **135**, 896–904.
3. De Souza, M., Kogawa, A., Salgado, H. (2019) New and miniaturized method for analysis of enrofloxacin in palatable tablets. *Spectrochimica Acta Part A:*

- Molecular and Biomolecular Spectroscopy, **209**, 1–7. DOI: 10.1016/j.saa.2018.10.014
4. Duan, Q., Ma, Y., Che, M., Zhang, B., Zhang, Y., Li, Y., Zang, W., Sang, S. (2019) Fluorescent carbon dots as carriers for intracellular doxorubicin delivery and track. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **49**, 527–533.
5. Guimarães, D., Noro, J., Loureiro, A., Cavaco-Paulo, A., Nogueira, E. (2019) Quantification of drugs encapsulated in liposomes by H NMR. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. *Colloids Surf B Biointerfaces*, **179**, 414–420. DOI.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.039
6. Hosny, N., Huddersman, K., El-Gizawy, S., Atia, N. (2019) New approach for simultaneous analysis of commonly used antigout drugs by HPLC/UV detection; Application in pharmaceutical and biological analysis. *Microchemical Journal*, **147**, 717–728. DOI.org/10.1016/j.microc.2019.03.080.
7. Kazakevich, Y., LoBrutto, R. HPLC for pharmaceutical scientists, 2007, John Wiley & Sons: New Jersey, p. 1135.
8. Ahuja, S., Dong, M.W. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. 2005, Elsevier/ Academic Press: Amsterdam, p. 679.
9. Lunn, G. HPLC methods for recently approved pharmaceuticals. 2005, John Wiley & Sons: New Jersey, p. 717. DOI: 10.1002/0471711683.fmatter
10. Sona, H., Nohb, K., Kanga, C., Nac, M., Ohd, S., Songe, I., Kang, W. (2019) HPLC-MS/MS analysis of ilimaquinone and its application in a pharmacokinetic study in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **166**, 291–294. DOI: 10.1016/j.jpba.2019.01.030.
11. Liu, Z., Fan, H., Zhou, Y., Qian, X., Duan, G. (2019) Development and validation of a sensitive method for alkyl sulfonate genotoxic impurities determination in drug substances using gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **168**, 23–29.
12. Schumacher, S., Seitz, H. (2016) A novel immunoassay for quantitative drug abuse screening in serum. *Journal of Immunological Methods*, **436**, 34–40. DOI: 10.1016/j.jim.2016.06.004
13. Yuan, C., Chen, D., Wang, S. (2015) Drug confirmation by mass spectrometry: Identification criteria and complicating factors. *Clinica Chimica Acta*, **438**, 119–125. DOI: 10.1016/j.cca.2014.08.021
14. Schulz, S., Becker, M., Groseclose, M., Schadt, S., Hopf, C. (2019) Advanced MALDI mass spectrometry imaging in pharmaceutical research and drug development. *Current Opinion in Biotechnology*, **55**, 51–59. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.08.003
15. Kuhlín, J., Sturkenboom, M., Ghimire, S., Margineanu, I., van den Elsen, S., Simbar, N., Akkerman, O., Jongedijk, O., Koster, R., Bruchfeld, J., Touw, D., Affenaar, J.-W. (2018). Mass spectrometry for therapeutic drug monitoring of anti-tubercular drugs. *Clinical Mass Spectrometry*, **14**, 34–45.
16. Yan Peng, Lata Gautam, Sarah W. Hall, (2019) The detection of drugs of abuse and pharmaceuticals in drinking water using solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere*, **223**, 438–447.
17. Ahmad, I., Sheraz, M., Ahmed, S., Anwar, Z. (2018) Multicomponent spectrometric analysis of drugs and their preparations. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, **44**, 379–413. DOI:10.1016/bs.podrm.2018.11.002
18. Vovyeikova, T., Tyaglov, B., Antonova, S., Barsukov, E., Sizova, I., Malakhova, I., Krasikov, V. (2008) Analysis of Macrolide, Tetracycline and Peptide Antibiotics by Thin-Layer Chromatography. *Biotechnology in Russia*, **2**, 105–125.
19. Akhtera, S., Basiruna, W., Alias, Y., Johanb, M., Bagherid, S., Shalauddinb, M., Ladane, M., Anuar, N. (2018) Enhanced amperometric detection of paracetamol by immobilized cobalt ion on functionalized MWCNTs - Chitosan thin film. *Analytical Biochemistry*, **551**, 29–36. DOI: 10.1016/j.ab.2018.05.004
20. Shaw, L., Dennany, L. (2017). Applications of electrochemical sensors: Forensic drug analysis. *Current Opinion in Electrochemistry*, **3**, 23–28. DOI: 10.1016/j.coelec.2017.05.001
21. Lima, H., da Silva, J., de Oliveira Farias, E., Teixeira, P., Eiras, C., Nunes, L. (2018). Electrochemical sensors and biosensors for the analysis of antineoplastic drugs. *Biosensors and Bioelectronics*, **108**, 27–37. DOI: 10.1016/j.bios.2018.02.034
22. Rahi, A., Karimian, K., Heli, H. (2016). Nanostructured materials in electroanalysis of pharmaceuticals. *Analytical Biochemistry*, **497**, 39–47. DOI: 10.1016/j.ab.2015.12.018
23. Cernat, A., Tertis, M., Sandulescu, R. (2015). Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review. *Analytica Chimica Acta*, **886**, 16–28. DOI: 10.1016/j.aca.2015.05.044.
24. Kutluay, A., Aslanoglu, M. (2013). Modification of electrodes using conductive porous layers to confer selectivity for the voltammetric detection of paracetamol in the presence of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens. Actuata. B-Chem.* **185**, 398–404.
25. Guo, S., Wen, D., Zhai, Y., Dong, S., Wang, E. (2011). Ionic liquid-graphene hybrid nanosheets as an enhanced material for electrochemical determination of trinitrotoluene, *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 3475–3481. DOI: 10.1016/j.bios.2011.01.028
26. Carrara, S., Cavallini, A., Erokhin, V., De Micheli, G. (2011). Multi-panel drugs detection in human serum for personalized therapy. *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 3914–3919. DOI: org/10.1016/j.bios.2011.03.009
27. Santini, A.O., Pezza, H.R., Pezza, L. (2006). Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations using a potentiometric sensor immobilized in a

- graphite matrix. *Talanta*, **68**(3), 636–642. DOI: org/10.1016/j.talanta.2005.05.016
28. *Lazarska, K., Dekker, S., Vermeulen, N., Commandeur, J.* (2018). Effect of UGT2B7*2 and CYP2C8*4 polymorphisms on diclofenac metabolism. *Toxicology Letters*, **284**, 70–78. DOI: 10.1016/j.toxlet.2017.11.038
29. *Goodarzi, M., Khalilzade, M., Karimi, F., Keyvanfar, V., Bagheri, H., Fouladgar, M.* (2014). Square wave voltammetric determination of diclofenac in liquid phase using a novel ionic liquid multiwall carbon nanotubes paste electrode. *Journal of Molecular Liquids*, **197**, 114–119. DOI: 10.1016/j.molliq.2014.04.037
30. *Sarhangzadeh, K., Khatami, A., Jabbari, M., Bahari, S.* (2013). Simultaneous determination of diclofenac and indomethacin using a sensitive electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and ionic liquid nanocomposite. *J Appl Electrochem.*, **43**, 1217–1224. DOI: 10.1007/s10800-013-0609-3
31. *Loudiki, A., Hammani, H., Boumya, W., Lahrich, S., Farahi, A., Achak, M., Bakasse, M., Mhammedi, M.* (2016). Electrocatalytic effect of montmorillonite to oxidizing ibuprofen: Analytical application in river water and commercial tablets. *Applied Clay Science*, **123**, 99–108. DOI: 10.1016/j.clay.2016.01.013
32. *Sugar, D., Francombe, D., da Silva T., Hanid S., Simon Hutchings, S.* (2019) Comparative Bioavailability Study of a New Orodispersible Formulation of Ibuprofen Versus Two Existing Oral Tablet Formulations in Healthy Male and Female Volunteers. *Clinical Therapeutics*, **41**, 1486–1498.
33. *Gasco-Lopez, A.I., Izquierdo-Hornillos, R., Jimenez, A.* (1999) LC method development for ibuprofen and validation in different pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **21**, 143–149.
34. *Avramov Ivic, M.L., Petrovic, S.D., Mijin, D.Z., Vanmoosa, F., Orlovic, D.Z., Marjanovic, D.Z., Radovic, V.V.* (2008) The electrochemical behavior of erythromycin A on a gold electrode. *Electrochimica Acta*, **54**, 649–654. DOI: 10.1016/j.electacta.2008.07.010
35. *Hu, X., Wang, P., Yang, J., Zhang, B., Li, J., Luo, J., Wu, K.* (2010). Enhanced electrochemical detection of erythromycin based on acetylene black nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **81**, 27–31. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.06.018
36. *Song, B., Zhou, Y., Jin, H., Jing, T., Zhou, T., Hao, Q., Zhou, Y., Mei, S., Lee, Y.-I.* (2014). Selective and sensitive determination of erythromycin in honey and dairy products by molecularly imprinted polymers based electrochemical sensor. *Microchemical Journal*, **116**, 183–190. DOI: 10.1016/j.microc.2014.05.010
37. *Calabresi, L., Pazzucconi, F., Ferrara, S., di Paolo, A., Del Tacca, M., Sirtori, C.* (2004). Pharmacokinetic interactions between omeprazole/pantoprazole and clarithromycin in healthy volunteers. *Pharmacological Research*, **49**, 493–499. DOI: 10.3390/pharmaceutics3040865
38. *Bojdi, M., Behbahani, M., Mashhadizadeh, M., Bagheri, A., Davarani, S., Farahani, A.* (2015). Mercapto-ordered carbohydrate-derived porous carbon electrode as a novel electrochemical sensor for simple and sensitive ultra-trace detection of omeprazole in biological samples. *Materials Science and Engineering C*, **48**, 213–219. DOI: 10.1016/j.msec.2014.12.006
39. *Chomisteková, Z., Culková, E., Bellová, R., Melicherčíková, D., Durdiak, J., Timkob, J., Rievaj, M., Tomčík, P.* (2017). Oxidation and reduction of omeprazole on boron-doped diamond electrode: Mechanistic, kinetic and sensing performance studies. *Sensors and Actuators B*, **241**, 1194–1202. DOI:doi.org/10.1016/j.snb.2016.10.014
40. *Portychova, L., Schug, K.A.* (2017). Instrumentation and applications of electrochemistry coupled to mass spectrometry for studying xenobiotic metabolism: A review. *Analytica Chimica Acta*, **993**, 1–21. DOI: org/10.1016/j.aca.2017.08.050
41. *Odijk, M., Olthuis, W., van den Berg, A., Qiao, L., Girault, H.* (2012). Improved conversion rates in drug screening applications using miniaturized electrochemical cells with frit channels. *Anal. Chem.*, **84**(21), 9176–9183. DOI: 10.1021/ac301888g
42. *Bisswanger, H.* Enzyme kinetics. Principles and methods. (Second, revised and updated edition). 2008, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.: Weinheim. DOI:10.1002/9783527622023
43. *Shumyantseva, V., Masamrekh, R., Kuzikov, A., Archakov, A.* (2018). From electrochemistry to enzyme kinetics of cytochrome P450. *Biosensors and Bioelectronics*, **21**, 192–204. DOI: 10.1016/j.bios.2018.08.040
44. *Arduini, F., Micheli, L., Moscone, D., Paleschi, G., Piermarini, S., Ricci, F., Volpe, G.* (2016). Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, **79**, 114–126. DOI: 10.1016/j.trac.2016.01.032

Поступила: 09.10.2019
 После доработки: 25.11.2019
 Принята к публикации: 28.11.2019

DRUG ANALYSIS METHODS

V.V. Shumyantseva^{1,2}, T.V. Bulko¹, P.I. Koroleva¹*

¹Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia;

*e-mail: viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru

² Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovitianov str., Moscow 117997, Russia

Modern methods of analysis of drugs for their quantitative assessment are considered. Particular attention is paid to the electrochemical methods of drug registration, based on the reaction of electrooxidation of molecules. Systems and materials for modifying electrodes are described, as well as methods for producing modified electrodes for electrochemical reactions on the surface of electrodes. The authors present data on the electroanalysis of acetaminophen, diclofenac, ibuprofen, omeprazole, using electrodes modified with carbon nanomaterials based on carbon nanotubes and graphene. It was shown that electroanalytical methods allow the registration of therapeutic drugs in a wide range of detectable concentrations (0.1 μM - 10 mM), which can be used to work with biological fluids (plasma, blood, urine), to conduct drug monitoring and study drug-drug interactions.

Key words: electroanalysis; medications; diclofenac; ibuprofen; acetaminophen; erythromycin

FUNDING: The work was performed in the framework of the Program for Basic Research of State Academies of Sciences for 2013–2020 and it was supported by Russian Fund of Fundamental Research (RFBR), research project No. 18-04-00374.

Received: 09.10.2019, revised: 25.11.2019, accepted: 28.11.2019