

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕДНИЗОЛОНА И ЦИКЛОФОСФАНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ С ПРОВЕДЕНИЕМ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А. В. Лигостаев, Н. О. Ким, Е. А. Ивановская, С. В. Терентьева, Т. Г. Шинко

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 13 июля 2020 г.

Аннотация. В медицинской практике для лечения опухолевых процессов, в частности для лимфом, широко практикуют периодическое применение цитостатиков и глюкокортикоидов [1,2]. Циклофосфан, имеющий противоопухолевый эффект, и преднизолон, обладающий противовоспалительным действием, включены в схемы лечения онкобольных. В статье представлены оценка и расчёт фармакокинетических параметров преднизолона и циклофосфана у животных и пациентов с лимфомой на основе исследования биологических объектов методом спектрофотометрии. Установлены фармакокинетические параметры преднизолона и циклофосфана [3]. Цель работы - проведение фармакокинетических исследований с участием животных и пациентов на основе ранее разработанных экспресс-методик количественного определения преднизолона и циклофосфана в биологических объектах. Для работы использовали инъекционный раствор преднизолона 25 мг/мл (производитель «Никомед», Дания) для внутривенного и внутримышечного введения, лиофилизированный порошок циклофосфана (производитель ОАО «Биохимик», г. Саранск) и 0.9% раствор натрия хлорида. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-56 (Россия) и Shimadzu UV-1202 (Япония) в кюветках 1 см относительно растворителя. Величину рН контролировали с помощью универсального иономера «Анион 4100». Использованы методики с оптимальными условиями пробоподготовки сыворотки крови для определения циклофосфана и преднизолона с объемом анализируемых образцов от 0.5 до 1.0 мл, что позволило проводить фармакокинетические исследования пациентов в щадящем режиме.

Рассчитаны фармакокинетические параметры у животных и больных с лимфомой (начальная и поддерживающая дозы, период полувыведения, константа скорости элиминации, константа скорости всасывания, токсическая и эффективная концентрации) преднизолона и циклофосфана на основе разработанного спектрофотометрического экспресс-метода при анализе сыворотки крови.

Провели определение фармакокинетических параметров у животных и пациентов с лимфомой разработанными нами ранее методиками количественного определения преднизолона и циклофосфана методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области. Методики и данные фармакокинетических исследований могут быть использованы для мониторинга концентраций с подбором индивидуальных доз лекарственного средства и обнаружения препаратов в биологических образцах.

Ключевые слова: преднизолон, циклофосфан, лимфома, раствор, биологические объекты, фармакокинетика, количественное определение, пациенты, животные, оптическая плотность.

Ключевым моментом в оптимизации лечения пациентов с различными сочетанными патологиями с использованием комбинации лекарственных препаратов, является изучение их фармакокинетических параметров, что требует использования высокочувствительных и экспрессных методик определения [4-6]. В медицинской практике для лечения опухолевых процессов, в частности для

лимфом, широко практикуют периодическое применение цитостатиков и глюкокортикоидов [1,2]. Так, например, в схемы лечения онкологических больных включены препараты: циклофосфан, имеющий противоопухолевый эффект, и преднизолон, обладающий противовоспалительным действием. Преднизолон в сочетании с циклофосфаном усиливает его цитостатическое действие. При курсовом применении цитостатики вызывают ряд осложнений: снижение иммунитета, присоединение бактериальных, вирусных, грибковых инфек-

© Лигостаев А. В., Ким Н. О., Ивановская Е. А., Терентьева С. В., Шинко Т. Г., 2021

ций, что приводит к удлинению сроков лечения, а нередко, и к угрозе жизни.

Длительность поддерживающей терапии составляет 2 года и в настоящее время проводится амбулаторно с учетом мониторинга концентрации вводимых лекарственных средств.

Мониторинг (постоянное наблюдение) лекарственных веществ в биологических средах организма позволяет осуществлять своевременную коррекцию фармакотерапии, особенно у категории лиц с онкозаболеваниями [7-10].

Благодаря внедрению в медицинскую практику высокочувствительных методов определения концентрации ЛС в биологических средах хроматографических, ферментохимических, спектрофотометрических [11-13], стало возможным изучение фармакокинетики. На основании фармакокинетических данных определяют дозы, оптимальные пути введения, режим и длительность назначения препаратов.

Представляет интерес изучения возможности использования спектрофотометрии с различными видами детекции как ключевого метода наиболее доступного в лечебных учреждениях в контроле качества и для целей терапевтического мониторинга циклофосфана и преднизолона.

Таким образом, проведение фармакокинетических исследований и мониторинга концентраций позволят не только расширить показания к назначению данных лекарственных средств, создать оптимальные алгоритмы их использования для онкобольных, но и во многом реализовать индивидуальный подход при подборе терапии в каждом конкретном случае, кроме того помогут в судебно-химической практике при установлении причины смерти в результате передозировки этими препаратами.

Целью работы было - провести фармакокинетическое исследование с участием животных и пациентов на основе ранее разработанных эспресс-методик количественного определения преднизолона и циклофосфана в биологических объектах.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследования были взяты инъекционный раствор преднизолон 25 мг/мл (производитель «Никомед», Дания) для внутривенного и внутримышечного введения, лиофилизированный порошок циклофосфана (производитель ОАО «Биохимик», г. Саранск) и 0.9% раствор натрия хлорида.

Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-56 (Россия) и Shimadzu UV-1202 (Япония) в кюветах 1 см относительно растворителя. Величину рН контролировали с помощью универсального иономера «Анион 4100».

Все использованные в эксперименте с биологическими жидкостями реагенты: спирт этиловый 96%, раствор гексацианоферрата (II) калия, $4 \cdot 10^{-4}$ г/мл водный раствор калия гидроксида, 0.5 моль/л спиртовой раствор калия гидроксида, 0.1 моль/л раствор серебра нитрата, раствор железоаммонийных квасцов, 0.1 моль/л раствор аммония роданида, 0.125 М водный раствор серной кислоты, цинка сульфат, 0.75 М водный раствор натрия гидроксида, 10% водный раствор ванадата натрия, 0.335 М водный раствор серной кислоты и разбавленную азотную кислоту готовили с применением субстанций марки ч. или х.ч. Вода очищенная и вода для инъекций.

В работе для получения сыворотки крови и растворов различных концентраций были задействованы центрифуги: mini Spin (Германия) и центрифуга СМ6М (Латвия) и одноканальные дозаторы на 0.05; 1.00; 10.00 мл фирмы «Ленпипет» (Россия) со сменными наконечниками.

Лабораторные животные крысы-самцы массой 300 – 400 г нелинейные беспородные, 8 особей для испытаний с преднизолоном и 11 особей для циклофосфана. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении со свободным доступом к воде и корму.

Забор крови у крыс осуществляли из хвостовой вены по 1 мл в эпиндорфы. Центрифугировали при 3000 об/мин 10 мин. Далее отбирали дозатором сыворотку по 0.5 мл в пробирки. Таким образом, от каждого животного мы получали по 6 проб сыворотки. Пробоподготовку сыворотки осуществляли путем осаждения.

При выполнении работы соблюдены этические принципы экспериментов на животных и основные положения Хельсинской декларации. Исследовательская работа выполнена в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.), и приказу МЗ РФ от 12.08.1977 г. №755.

Пациенты с лимфомой: 8 пациентов для определения циклофосфана и 5 – для определения преднизолона в возрасте от 22 до 70 лет, с массой тела от 54 до 82 кг. От всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

Расчет дозировок, введение препарата и забор крови у пациентов осуществляли квалифицированные сотрудники Муниципального учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 2» (г. Новосибирск), в отделении гематологии. Кровь забирали из вены по 2 мл в пробирки, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Отбирали дозатором сыворотку по 1 мл в пробирки. Таким образом, от каждого пациента мы получали по 6 проб сыворотки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наиболее распространенным препаратом в совместных схемах лечения онкозаболеваний является циклофосфан и преднизолон. Существующие методики, описанные в ГФ XIV из-за невысокой чувствительности (титрование циклофосфана – субстанции), отсутствием пробоподготовки для биологических объектов (ВЭЖХ циклофосфана – таблетки), и спектрофотометрический метод только для преднизолон натрия фосфата, непригодны для целей фармакокинетического исследования, особенно в присутствии других биологически активных веществ [14].

Поэтому ранее нами были разработаны методики определения субстанций циклофосфана и преднизолон в биологических объектах на основе спектрофотометрического метода в ультрафиолетовой области с использованием осаждения [1,15] белков (табл. 1).

Преимуществами предложенных методик была экспрессность, время единичного анализа составляло 1 мин (с проведением пробоподготовки 15 мин, включая пробоподготовку от 2 до 10

биологических объектов одномоментно). Более того, сама пробоподготовка оказалась универсальной для любого биологического объекта: крови, мочи.

Разработанные методики преднизолон и циклофосфана адаптированы для готовых лекарственных форм:

– таблетки (преднизолон) – погрешность методики не более 3.05 %;

– порошок лиофилизированный (циклофосфан) – погрешность методики не более 4.55 %.

Для апробации разработанных методик определения преднизолон и циклофосфана фармакокинетические исследования на начальном этапе проведены на лабораторных животных - крысах при внутрибрюшинном введении лекарственных препаратов в дозе 0.63 мг для преднизолон (из расчета 2.1 мг/кг ($1/5 LD_{50}$) и 8.4 мг для циклофосфана (из расчета 21 мг/кг ($1/5 LD_{50}$)) [16,17]. Полученные фармакокинетические кривые 2 и 4 представлены на рисунке 1.

Из представленного на рисунке 1 графика по преднизолону на животных все точки концентрации расположены в области, не превышающей 0.1 мг/л, что в сочетании с рассчитанным высоким объемом распределения в среднем для животных составляет 1.5 л (табл. 2), это говорит о распределении препарата по тканям организма и медленном поступлении лекарственного вещества в кровь. Период полуэлиминации преднизолон у животных составляет 12 часов. Наступление максимального эффекта наблюдается в среднем через полтора часа после введения препарата, но в основной массе через час. Преднизолон медленно

Таблица 1.

Методики количественного определения препаратов в биообъектах

Методика с осаждением на преднизолон	Методика с осаждением на циклофосфан
1. Приготовление раствора сравнения: К 1 мл сыворотки + 8 мл раствора А ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O + 0.125 M H_2SO_4$) и 1 мл раствора Б (0.75 М раствор NaOH). Для приготовления раствора А брали навеску 12.5г цинка сернокислого 7-водного помещали в мерную колбу и добавляли 125 мл 0.125 М раствора серной кислоты и общий объем доводили до 1л водой очищенной. Центрифугирование проводили при 3000 об/мин., 10 мин. После осаждения белков из центрифугата брали 0,1 мл и добавляли 2.9 мл 0.9 % NaCl.	1. Приготовление раствора сравнения: К 1 мл сыворотки + 8 мл воды очищенной, 0.5 мл раствора А (10 % раствором $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) и 0.5 мл раствора Б (0,335 М раствор H_2SO_4). Перемешивали и помещали в центрифугу на 10 мин при 3000 об/мин. Из центрифугата брали аликвоту 0,1 мл и добавляли 2.9 мл 96,6 % спирта этилового.
2. Приготовление анализируемого образца: К 1 мл сыворотки + 0,1 мл раствора преднизолон ($2.5 \cdot 10^{-2}$ г/мл), 8 мл раствора А и 1 мл раствора Б. Перемешивали и помещали в центрифугу на 10 мин при 3000 об/мин. Из центрифугата брали аликвоту 0,1 мл и добавляли 2.9 мл 0.9 % NaCl. Измеряли оптическую плотность раствора при $\lambda = 249$ нм.	2. Приготовление анализируемого образца: К 1 мл сыворотки + 0,1 мл раствора циклофосфана в спирте ($C = 1 \cdot 10^{-2}$ г/мл), 8 мл воды очищенной, 0.5 мл раствора А, 0.5 мл раствора Б. Перемешивали и центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Из центрифугата брали аликвоту 0,1 мл и добавляли 2.9 мл 96,6 % спирта этилового. Раствор измеряли при длине волны 211 нм.

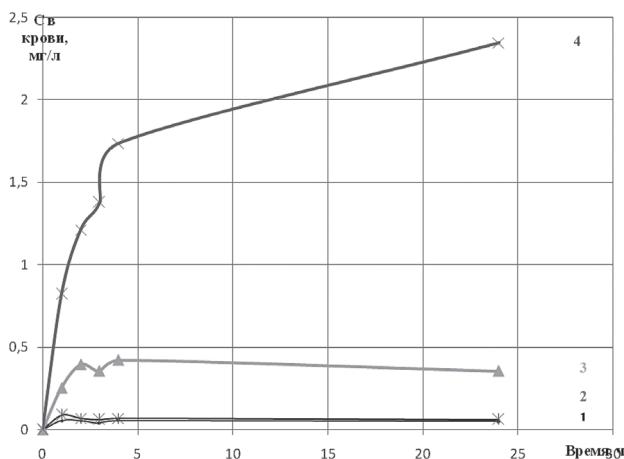


Рис. 1. Фармакокинетические кривые преднизолона и циклофосфана при исследовании на животных и пациентах. Фармакокинетические кривые: 1 – преднизолона, вводимого пациентам (через 1 ч после введения, 2, 3, 4, 24 ч); 2 – преднизолона, вводимого животным (через 1 ч после введения, 2, 3, 4, 24 ч); 3 – циклофосфана, вводимого пациентам (через 1 ч после введения, 3, 5, 8, 12 ч); 4 – циклофосфана, вводимого животным (через 1 ч после введения, 3, 5, 8, 12 ч).

поступает в кровь и медленно элиминируется из кровяного русла, о чем свидетельствуют низкие значения констант скорости абсорбции и элиминации.

График на рисунке 1 по циклофосфану на животных характеризуются присутствием двух максимумов, при этом второй максимум превышает первый. Первый максимум расположен в области 1–3 часа, второй максимум расположен в области 5–8 часов. Таким образом, можно предпо-

ложить, что препарат может частично связываться с белками крови, одновременно поступая во внутреннюю среду лимфоцита, при этом первый пик соответствует концентрации лекарственного средства, присутствующего непосредственно в кровяном русле. Второй пик соответствует концентрации циклофосфана, присутствующего в кровяном русле, а также циклофосфану, вышедшему из разрушенного лимфоцита в соответствии с механизмом действия препарата (циклофосфан разрушает лимфоциты и поступает обратно в кровяное русло). Из данных таблицы 2 следует, что максимальные и средние концентрации составляют 2 и 1 мг/л соответственно, период полуэлиминации циклофосфана для животных составляет 6–7 часов. Наступление максимального эффекта наблюдается в среднем через 3–4 часа после введения препарата.

Полученные фармакокинетические параметры преднизолона и циклофосфана с участием лабораторных животных согласуются с литературными данными (табл. 3).

После экспериментов с использованием лабораторных животных исследования продолжили на образцах сыворотки крови, полученных от пациентов с лимфомой, которые были госпитализированы в гематологическое отделение для проведения программной полихимиотерапии.

Введение преднизолона и циклофосфана осуществлялось внутривенно капельно. Дозу препаратов рассчитывали исходя из площади кожного покрова пациента.

Забор крови у пациентов осуществляли до введения препарата и через определенные ин-

Таблица 2.

Результаты оценки фармакокинетических параметров преднизолона и циклофосфана при парентеральном введении животным и пациентам

Фармакокинетические параметры	Преднизолон		Циклофосфан	
	животные	пациенты	животные	пациенты
$t_{1/2}$, ч	11.97±0.12	12.24±0.31	5.66±0.09	5.53±0.28
t_{max} , ч	1.48±0.12	2.0±0.15	3.77±0.34	4.09±0.41
$k_{эл}$, мин ⁻¹	0.15±0.03	0.46±0.11	0.39±0.10	0.48±0.13
$k_{аб}$, мин ⁻¹	1.51±0.16	0.97±0.03	0.77±0.07	0.80±0.08
C_s , мг/л	0.09±0.02	0.07±0.01	1.64±0.18	0.48±0.21
$C_{ср}$, мг/л	0.05±0.01	0.006±0.002	1.03±0.42	0.002±0.0001
$C_{с2}$, мг/л	0.06±0.02	0.04±0.01	1.09±0.05	2.34±0.12
C_{max} , мг/л	0.10±0.02	0.07±0.03	1.72±0.18	0.51±0.14
C_0 , мг/л	0.07±0.01	0.35±0.13	1.89±0.21	1.03±0.17
V_d , л	1340.6±90.12	5273.52±340.4	18.50±2.4	2045.80±125.3
Cl , л/мин	232.54±30.3	718.69±42.7	6.80±0.23	850.31±52.3
t	7.52±0.50	9.63±0.71	4.48±0.35	5.92±0.37
$D_{пр}$, мг	2.53±0.14	3343.16±235.3	26.04±3.2	1418.08±73.23
$D_{под}$, мг	0.53±0.02	40.30±3.91	6.17±0.40	348.24±32.3
S	2.10±0.83	2.65±0.90	3.10±0.11	3.18±0.15
AUC , мг·мин/мл	0.01322±0.0001	1.3800±0.05	9.77±0.60	2.6835±0.09

тервалы времени для определения преднизолона (через 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 24 ч) и для определения циклофосфана (через 1 ч, 3 ч, 5 ч, 8 ч, 12 ч) после внутривенного капельного введения препаратов в виде инъекционных растворов.

Наиболее пригодной для анализа (инъекционных растворов) концентрации препарата в крови, плазме и сыворотке является одночастевая модель, при которой организм представляют в виде единой, гомогенной камеры (Рисунок 2).

Процессы, происходящие с лекарственным средством в организме, количественно характеризуются рядом фармакокинетических параметров:

$t_{1/2}$ – период полуэлиминации препарата, ч, мин – время элиминации из организма половины введенной и воссавшейся дозы препарата;

C_0 – кажущаяся начальная концентрация препарата, мг/л – условный параметр, равный той концентрации, которая получилась бы в плазме крови при условии введения препарата в кровь и мгновенного его распределения по органам и тканям;

$k_{эл}$ – константа скорости элиминации, ч⁻¹, мин⁻¹ – параметр, характеризующий скорость исчезновения (элиминации) препарата из организма путем экскреции и биотрансформации;

V_d – объем распределения препарата, л, мл – условный параметр, характеризующий степень захвата препарата тканями из сыворотки крови;

AUC – площадь под кривой «концентрация-время», мг мл/мин;

Cl_t – общий клиренс препарата, мл/мин, л/ч – параметр, характеризующий скорость «очищения» организма от лекарственного препарата, соответствует (условно) той части объема распределения, которая очищается от препарата в единицу времени;

C_{cp} – средняя концентрация препарата в крови, мг;

τ – интервал между введениями препарата, мин, ч;

$D_{нач}$ – начальная доза препарата, г, мг;

$D_{под}$ – поддерживающая доза препарата, г, мг;

$C_{эф}$ – эффективная концентрация препарата в крови, мг;

C_s – максимально допустимая, безопасная концентрация препарата в крови, мг;

$C_{мин ss}$ – стационарный уровень концентрации препарата в крови, мг;

C_t – средняя терапевтическая концентрации препарата в крови, мг;

S – характеристика терапевтической широты препарата.

Пробоподготовку сыворотки крови осуществляли путем подобранного метода осаждения.

На рисунке 1 представлены индивидуальные фармакокинетические кривые **1** и **3** (фармакокинетический профиль) преднизолона и циклофосфана для пациентов.

Необходимо отметить следующее для преднизолона, вводимого пациентам (табл. 2): период полуэлиминации, также как и у животных, составляет 12 часов, но это касается только того количества препарата, который в неизменном виде циркулирует в кровяном русле, константа скорости абсорбции выше, а время наступления максимального эффекта составляет порядка двух часов. Высокое значение данного параметра можно объяснить тем, что людям вводили преднизолон внутривенно капельно, тогда как животным – внутривенно. Значение объема распределения составляет не менее 5 л, это свидетельствует о том, что препарат при поступлении в кровяное русло сразу распределяется по тканям организма. Если сравнивать фармакокинетическую кривую и значения фармакокинетических параметров, то необходимо отметить, что препарат, метаболизируясь в тканях организма, снова может поступать в кровь, но это не оказывает влияние на фармакокинетические параметры, так как глюкокортикоиды и сульфаты окисленных форм не обладают

Таблица 3.

Сравнение фармакокинетических параметров преднизолона и циклофосфана при парентеральном введении животным с данными научной литературы

Преднизолон		Циклофосфан	
Данные литературы (Hideki Yano Fumitoshi Hirayama, 2002 г.)	Экспериментальные данные	Данные литературы (Powers J. F., Sladek N. E., 2004 г.)	Экспериментальные данные
$t_{1/2} = 12$ ч 00 мин	$t_{1/2} = 11$ ч 97 мин	$t_{1/2} = 6$ ч 00 мин	$t_{1/2} = 5$ ч 66 мин
$T_{max} = 1$ ч 30 мин	$T_{max} = 1$ ч 48 мин	$T_{max} = 4$ ч 00 мин	$T_{max} = 3$ ч 77 мин
$C_{MAX} = 0.10$ мг/л	$C_{MAX} = 0.10$ мг/л	$C_{MAX} = 2.00$ мг/л	$C_{MAX} = 1.72$ мг/л
$C_{cp} = 0.06$ мг/л	$C_{cp} = 0.05$ мг/л	$C_{cp} = 1.00$ мг/л	$C_{cp} = 1.03$ мг/л



Рис. 2. Математическая однокамерная модель фармакокинетического процесса. Примечание. $k_{эл}$ – константа скорости элиминации, $ч^{-1}$, $мин^{-1}$ – параметр, характеризующий скорость исчезновения (элиминации) препарата из организма путем экскреции и биотрансформации; k_{01} – величина константы скорости полуабсорбции лекарственного средства.

фармакологической активностью. Обращает на себя внимание очень низкий показатель концентрации препарата в крови, максимальное значение которого не превышает 0.07 мг/л, что можно объяснить сопутствующими заболеваниями обследованных пациентов, а также тем, что терапия преднизолоном проводилась не в виде монотерапии, а в сочетании с противоопухолевыми препаратами.

График на рисунке 1 для циклофосфана вводимого пациентам характеризуется присутствием двух максимумов, при этом второй максимум превышает первый. Первый максимум расположен в области 3 часа, второй максимум расположен в области 8 часов. Таким образом, можно предположить, что препарат может частично связываться с белками крови, одновременно поступая во внутреннюю среду опухолевой клетки, при этом первый пик соответствует концентрации лекарственного средства, присутствующего непосредственно в кровяном русле. Второй пик соответствует концентрации циклофосфана, присутствующего в кровяном русле, а также циклофосфану, вышедшему из разрушенного лимфоцита в соответствии с механизмом действия препарата (циклофосфан разрушает лимфоциты и поступает обратно в кровяное русло).

Период полуэлиминации циклофосфана (табл.2) составляет 6 – 8 ч, наступление максимального эффекта 4 – 5 ч. Препарат характеризуется высоким значением клиренса, в среднем 850.31 л/мин, поэтому время достижения максимального эффекта и период полуэлиминации близки по значению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использованы методики с оптимальными условиями пробоподготовки сыворотки крови для определения циклофосфана и преднизолона с объемом анализируемых образцов от 0.5 до 1.0 мл, что позволило проводить фармакокинетические исследования пациентов в щадящем режиме.

Рассчитаны фармакокинетические параметры у животных и больных с лимфомой (начальная и поддерживающая дозы, период полувыведения, константа скорости элиминации, константа скорости всасывания, токсическая и эффективная концентрации) преднизолона и циклофосфана на основе разработанного спектрофотометрического экспресс-метода при анализе сыворотки крови.

Полученные параметры согласуются с данными в научной литературе [18-21].

Методики и данные фармакокинетических исследований могут быть использованы для мониторинга концентраций с подбором индивидуальных доз лекарственного средства и обнаружения препаратов в сыворотке, плазме крови и моче.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лигостаев, А. В., Ивановская Е.А. // «Актуальные вопросы фармакологии и фармации», сборник трудов межвузовской научной конференции, посвященной памяти профессора В. В. Пичугина и 75-летию КГМУ., Курск, 2009, с. 362–363.
2. Кузьмичев Д.Е., Вильцев И.М., Раннев А.Ю. К вопросу диагностики меланомы // Вестник судебной медицины. 2013. Т. 2, № 2. С. 48-51
3. Пиголкин Ю.И., Кильдюшов Е.М., Шилова М.А., Боева С.Е., Захаров С.Н., Глоба И.В. // Вестник судебной медицины. 2016. Т. 5, № 2. - С. 8-11.
4. Ramanathan, R. Mass spectrometry in drug metabolism and pharmacokinetics / R. Ramanathan. Hoboken: Wiley, 2009. 389 p.
5. Шорманов В.К., Андреева Ю.В., Омельченко В.А. Экстракция флуотида из водных растворов // Судебно-медицинская экспертиза. 2014. № 5. С. 18-20.
6. Okcu M. Fatih, Despa Simona, Choroszy Mary // Med. and Pediat. Oncol. 2001. Vol. 37. No. 2, pp. 90–96.
7. Coso D., Sebban C., Boulat O. // Bone Marrow Transplant. 2006. Vol. 38. No. 3, pp. 217 – 222.
8. Caspers-Velu, L. E. // Bull. Soc. belge ophthalmol. 2001. No. 1, pp. 49 – 59.
9. Richard J. Jones, Robert A. Brodsky // Brit. J. Haematol. 2004. Vol. 125. No. 3, pp. 408 – 410.
10. Hernandez J. M., Garcia-Sanz R., Golvano E. // Brit. J. Haematol. 2004. Vol. 127. No. 2, pp. 159–164.
11. Moffat A.C., Jackson J.V., Moss M.S., Widdop B., Greenfield E.S.. Clarke's isolation and identification of drugs. London: THE PHARMACEUTICAL PRESS, 1986. – 503 p.

12. Mohammed Shahid Ali, Mohsin Ghori, Anwar Saeed // J. Chromatogr. Sci. 2002. Vol. 40. No. 8, pp. 429 – 433.
13. Gallego J. M. Lemus, Arroyo J. Perez // J Chromatogr. B. 2003. Vol. 784. No. 1, pp. 39 – 47.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Москва: Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2018. Том. III. - 5187 с.
15. Справочник биохимика: Пер. с англ./ Р. Досон, Д. Эллиот, У. Элиот, К. Джонс-М.: Мир, 1991.- 472 с. [Handbook of biochemist: Per. from English / R. Dason, D. Elliot, U. Eliot, K. Jones-M.: Mir, 1991. 472 p. (in Russ.)].
16. Грек О.Р., Мишенина С.В., Пупышев А.Б. // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2002. Т. 134, № 10. С. 413 – 417.
17. Мишенина С. В. Дисс. канд. мед.наук. Новосибирск, 2002, 19с.
18. Yano Fumitoshi Hirayama Hideki // J Control Release. 2002. Vol. 79, No. 1-3, pp. 103 – 112.
19. Powers J.F., Sladek N.E. // Cancer Research. 2004. Vol. 43, pp. 1101 – 1106.
20. Hrynyk Rafal, Storm Gert, Metselaar Bart, Langner Marek // Pol. J. Pharmacol. 2003. Vol. 55, No. 6., pp. 1063 – 1070.
21. J. Xu, J. Winkler, H. Derendorf // J. Pharmacokinet. and Pharmacodyn. 2007. Vol. 34, No. 3. pp. 355 – 372.

Новосибирский государственный медицинский университет

**Лигостаев А. В., к.фарм.н, доцент кафедры фармацевтической химии
E-mail: arbi.83@mail.ru*

Ким Н. О., преподаватель кафедры фармацевтической химии

Ивановская Е. А., д.фарм.н, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической химии

Терентьева С. В., д.фарм.н, профессор кафедры фармацевтической химии

Шинко Т. Г., преподаватель кафедры фармацевтической химии

*Novosibirsk State Medical University
Ligostaev A. V., PhD., Associate Professor,
Department of Pharmaceutical Chemistry
E-mail: arbi.83@mail.ru*

*Kim N. O., Lecturer, Department of
Pharmaceutical Chemistry*

*Ivanovskaya E. A., PhD., DSci., Full Professor,
head of the Department of Pharmaceutical Chemistry*

*Terentyeva S. V., PhD., DSci., Full Professor,
Department of Pharmaceutical Chemistry
E-mail: terentyeva_sv@mail.ru*

*Shinko T. G., teacher, Department of
Pharmaceutical Chemistry*

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PREDISOLONE AND CYCLOPHOSPHANE IN BIOLOGICAL OBJECTS WITH PHARMACOKINETIC STUDIES

A. V. Ligostaev, N. O. Kim, E. A. Ivanovskaya, S. V. Terentyeva, T. G. Shinko

Novosibirsk State Medical University

Abstract. In medical practice, for the treatment of tumor processes, in particular for lymphomas, cytostatics and glucocorticoids can be periodically use [1,2]. Cyclophosphamid with its antitumor effect, and prednisolone with an anti-inflammatory effect, are included in the treatment regimens for cancer patients. The article presents the assessment and calculation of the pharmacokinetic parameters of prednisone and cyclophosphamide in animals and patients with lymphoma based on the study of biological objects by spectrophotometry. The pharmacokinetic parameters of prednisone and cyclophosphamide were found [3]. Aim of the study was to conduct pharmacokinetic studies involving animals and patients based on previously developed express methods for the quantitative determination of prednisolone and cyclophosphamide in biological objects. We use an injection solution of prednisone 25 mg / ml (manufacturer "Nycomed",

Denmark) for intravenous and intramuscular administration, lyophilized cyclophosphamide powder (manufacturer "Biochemist", Saransk) and 0.9% sodium chloride solution for our research. The optical density of the solutions was measured on an SF-56 spectrophotometer (Russia) and Shimadzu UV-1202 (Japan) in 1 cm cuvettes relative to the solvent. The pH was monitored using the universal Anion 4100 ionomer. We used techniques with optimal conditions for the preparation of blood serum to determine cyclophosphamide and prednisone with the volume of analyzed samples from 0.5 to 1.0 ml, which allowed conducting pharmacokinetic studies of patients in a gentle mode.

The pharmacokinetic parameters in animals and patients with lymphoma (initial and maintenance doses, half-life, elimination rate constant, absorption rate constant, toxic and effective concentrations) of prednisolone and cyclophosphamide based on the developed spectrophotometric express method for blood serum analysis were calculated.

We determined the pharmacokinetic parameters in animals and patients with lymphoma by the previously developed methods for the quantitative determination of prednisolone and cyclophosphamide by spectrophotometry in the ultraviolet region. The methods and data of pharmacokinetic studies can be used to monitor concentrations with the selection of individual doses of the drug and the detection of drugs in biological samples.

Keywords: prednisolone, cyclophosphamide, lymphoma, solution, biological objects, pharmacokinetics, quantitative determination, patients, animals, optical density.

REFERENCES

1. Ligostaev, A. V., Ivanovskaya E.A., «Aktual'nye voprosy farmakologii i farmatsii», sbornik trudov mezhvuzovskoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati professora V. V. Pichugina i 75-letiyu KGMU., Kursk, 2009, pp. 362 – 363.
2. Kuz'michev D.E., Viltsev I.M., Rannev A.Yu. K voprosu diagnostiki melanomy, Vestnik sudebnoi meditsiny, 2013, Vol. 2, No. 2, pp. 48-51.
3. Pigolkin Yu.I., Kil'dyushov E.M., Shilova M.A., Boeva S.E., Zakharov S.N., Globa I.V., Vestnik sudebnoi meditsiny, 2016, Vol. 5, № 2, pp. 8-11.
4. Ramanathan, R. Mass spectrometry in drug metabolism and pharmacokinetics / R. Ramanathan. – Hoboken: Wiley, 2009, 389 p.
5. Shormanov V.K., Andreeva Yu.V., Omel'chenko V.A. Ekstraktsiya flutamida iz vodnykh rastvorov, Sudebno-meditsinskaya ekspertiza, 2014, No. 5, pp. 18-20.
6. Okcu M. Fatih, Despa Simona, Choroszy Mary, Med. and Pediat. Oncol., 2001, Vol. 37, No. 2, pp. 90–96.
7. Coso D., Sebban C., Boulat O., Bone Marrow Transplant., 2006, Vol. 38, No. 3, pp. 217–222.
8. Caspers-Velu, L. E., Bull. Soc. belge ophtalmol., 2001, No. 1, pp. 49–59.
9. Richard J. Jones, Robert A. Brodsky, Brit. J. Haematol., 2004, Vol. 125, No. 3, pp. 408–410.
10. Hernandez J.M., Garcia-Sanz R., Golvano E., Brit. J. Haematol., 2004, Vol. 127, No. 2, pp. 159–164.
11. Moffat A.C., Jackson J.V., Moss M.S., Widdop B., Greenfield E.S.. Clarke's isolation and identification of drugs. London: THE PHARMACEUTICAL PRESS, 1986, 503 p.
12. Mohammed Shahid Ali, Mohsin Ghori, Anwar Saeed, J. Chromatogr. Sci., 2002, Vol. 40, No. 8, pp. 429–433.
13. Gallego J. M. Lemus, Arroyo J. Perez, J Chromatogr. B., 2003, Vol. 784, No. 1, pp. 39–47.
14. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Moskva: Izdatel'stvo «Nauchnyi tsentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya», 2018. Vol. III. - 5187 p.
15. Spravochnik biokhimiya: Per. s angl./ R. Doston, D. Elliot, U. Eliot, K. Dzhons-M.: Mir, 1991, 472 p.
16. Grek O.R., Mishenina S.V., Pupyshev A.B. // Byul. eksperim. biol. i med, 2002, Vol. 134, No. 10 , pp. 413–417.
17. Mishenina S. V. Diss. cand. med. nauk. Novosibirsk, 2002, 19 p.
18. Yano Fumitoshi Hirayama Hideki, J Control Release, 2002, Vol. 79, No. 1-3, pp. 103–112.
19. Powers J.F., Sladek N.E., Cancer Research, 2004, Vol. 43, pp. 1101–1106.
20. Hrynyk Rafal, Storm Gert, Metselaar Bart, Langner Marek, Pol. J. Pharmacol., 2003, Vol. 55, No. 6, pp. 1063–1070.
21. J. Xu, J. Winkler, H. Derendorf, J. Pharmacokinet. and Pharmacodyn, 2007, Vol. 34, No. 3, pp. 355–372.