

Разработка биоаналитической методики определения нового антиоксиданта вольтамперометрическим методом

Т.Г. Шинко¹, С.В. Терентьева¹, Е.А. Ивановская¹, О.И. Просенко²

¹Новосибирский государственный медицинский университет,
Российская Федерация, 630091, Новосибирск, ул. Красный проспект, д. 52;

²Новосибирский государственный педагогический университет,
Российская Федерация, 630126, Новосибирск, ул. Вилуйская, д. 28

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шинко Татьяна Геннадьевна – аспирант кафедры фармацевтической химии Новосибирского государственного медицинского университета (НГМУ). Тел.: +7 (913) 004-59-23. E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7597-078X

Терентьева Светлана Владимировна – профессор кафедры фармацевтической химии НГМУ, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (903) 999-13-52. E-mail: terentyeva_sv@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3566-2760

Ивановская Елена Алексеевна – заведующая кафедрой фармацевтической химии НГМУ, доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (903) 901-35-84. E-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-9338-5792

Просенко Ольга Ивановна – доцент кафедры химии Новосибирского государственного педагогического университета, кандидат химических наук. Тел.: +7 (913) 919-16-71. E-mail: olyad1@rambler.ru. ORCID: 0000-0001-8835-1945

РЕЗЮМЕ

Введение. На базе кафедры химии Новосибирского государственного педагогического университета разработан новый перспективный фенольный серосодержащий антиоксидант – додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфид. Антиоксидантная активность данного соединения показана в исследованиях на различных моделях. Также установлено, что он способен проявлять гепатопротекторную, противовоспалительную активность, обладает гемореологическим, антиагрегационным, антитромбоцитарным эффектами, и выраженным протекторным действием при ишемии головного мозга.

Цель исследования: Разработка биоаналитической методики определения количественного содержания додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида в биологическом материале для проведения дальнейших фармакокинетических исследований.

Материал и методы. Для разработки методики был выбран метод дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Определение проводили на рабочем ртутно-пленочном (амальгамном) электроде, используя в качестве электрода сравнения хлорид-серебряный электрод. Фоновым электролитом служила смесь спирт этиловый 95%-2М раствор натрия гидроксида (4:6).

Результаты. Изучено электрохимическое поведение додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида и подобраны условия его количественного определения в сыворотке крови крыс. Разработанная методика валидирована. С использованием данной методики были установлены фармакокинетические параметры додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида на крысах при однократном внутривенном введении в дозе 500мг/кг.

Заключение. Разработанная методика вольтамперометрического определения додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида в сыворотке крови крыс может применяться для определения его фармакокинетических параметров при проведении доклинических исследований.

Ключевые слова: додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфид, вольтамперометрия, валидация, фармакокинетика.

Для цитирования: Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А., Просенко О.И. Разработка биоаналитической методики определения нового антиоксиданта вольтамперометрическим методом. Фармация, 2021; 70 (8): 12–18. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-08-02>

DEVELOPMENT OF A BIOANALYTICAL PROCEDURE FOR DETERMINATION OF A NEW ANTIOXIDANT BY A VOLTAMMETRIC METHOD

T.G. Shinko¹, S.V. Terentyeva¹, E.A. Ivanovskaya¹, O.I. Prosenko²

¹Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyi Prospect, Novosibirsk 630091, Russian Federation;

²Novosibirsk State Pedagogical University, 28, Vilyuiskaya St., Novosibirsk 630126, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Shinko Tatiana Gennadievna – Postgraduate student of the Department of Pharmaceutical Chemistry of Novosibirsk State Medical University (NSMU). Тел.: +7 (913) 004-59-23. E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7597-078X

Terentyeva Svetlana Vladimirovna – Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry of NSMU, Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (903) 999-13-52. E-mail: terentyeva_sv@mail.ru. *ORCID: 0000-0003-3566-2760*

Ivanovskaya Elena Alekseevna – Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry of NSMU, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Tel.: +7 (903) 901-35-84. E-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru. *ORCID: 0000-0002-9338-5792*

Prosenko Olga Ivanovna – Associate professor of the Department of Chemistry of Novosibirsk State Pedagogical University, PhD. Tel.: +7 (913) 919-16-71. E-mail: olyad1@rambler.ru. *ORCID: 0000-0001-8835-1945*

SUMMARY

Introduction. The new promising sulfur-containing phenolic antioxidant dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide has been developed at the Department of Chemistry, Novosibirsk State Pedagogical University. The antioxidant activity of this compound has been shown in studies using various models. It has also been found to be able to have hepatoprotective and anti-inflammatory activities, hemorheological, antiaggregatory, antiplatelet, and pronounced protective effects in cerebral ischemia.

Objective: to develop a bioanalytical procedure for estimating the content of dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide in biological material for further pharmacokinetic studies

Material and methods. Differential pulse voltammetry was chosen to develop this procedure. The determination was carried out on a working mercury-film (amalgam) electrode using a silver chloride electrode as a reference electrode. The background electrolyte was a mixture of 95% ethanol and 2M sodium hydroxide solution (4:6).

Results. The electrochemical behavior of dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide was investigated and conditions for its rat serum quantification were selected. The developed procedure was validated. This procedure could establish the pharmacokinetic parameters of dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide in the rats after its single intragastric administration at a dose of 500 mg/kg.

Conclusion. The developed procedure for the voltammetric determination of rat serum dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide can be used to identify its pharmacokinetic parameters during preclinical studies.

Key words: dodecyl (3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide, voltammetry, validation, pharmacokinetics.

For reference: Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A., Prosenko O.I. Development of a bioanalytical procedure for determination of a new antioxidant by a voltammetric method. *Farmatsiya*, 2021; 70 (8): 12–18. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-08-02>

Введение

Комплексное применение антиоксидантных препаратов давно зарекомендовало себя в терапии таких заболеваний, как ишемическая болезнь, атеросклероз, гепатиты, злокачественные новообразования [1]. Особый интерес представляют полифункциональные антиоксиданты, обладающие несколькими механизмами антиоксидантной защиты и оказывающие дополнительные положительные эффекты на состояние организма. К такому классу относятся фенольные серосодержащие антиоксиданты, поскольку сульфидная (тиоловая) группа, входящая в их структуру, способна восстанавливать глутатион, связывать некоторые токсические вещества и катионы тяжелых металлов.

На базе кафедры химии Новосибирского государственного педагогического университета был синтезирован новый фенольный серосодержащий антиоксидант – додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфид (далее по тексту – Т-1) (рис. 1). Антиоксидантная активность данного соединения установлена по способности угнетать перекисное окисление липидов (ПОЛ) на различных моделях [2]. Также показано, что Т-1 не оказывает токсического действия, не проявляет мутагенного и генотоксического свойств [3]. Исследования на модели тетрахлолметан-индуцированного гепа-

тита у мышей и крыс выявили гепатопротекторную и противовоспалительную активность данного соединения [2]. Т-1 положительно влияет на показатели крови, обладает гемореологическим, антиагрегационным и антитромбоцитарным эффектами, а также выраженным протекторным эффектом при ишемии головного мозга. Кроме того, установлено, что описываемое соединение обладает цитопротективным действием и способно усиливать противоопухолевый эффект препаратов при полихимиотерапии [4].

Результаты исследований позволяют считать Т-1 перспективным антиоксидантом для медицинского применения и продолжить работу в рамках доклинического исследования. Для проведения фармакокинетических исследований необходима аналитическая методика, позволяющая определять содержание Т-1 в биологическом материале. Вольтамперометрия является известным, доступным и относительно малозатратным по времени методом, широко используемым для определения лекарственных средств в биологическом материале [5–8], в том числе для определения серосодержащих антиоксидантов [9], чем и обусловлен его выбор.

Цель настоящего исследования – разработка биоаналитической методики определения количественного содержания додецил(3,5-диметил-

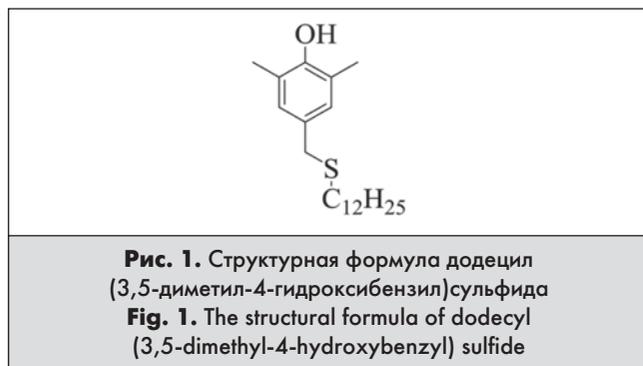
4-гидроксibenзил)сульфида в биологическом материале для проведения дальнейших фармакокинетических исследований.

Материал и методы

Опытные образцы додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида были предоставлены кафедрой химии Новосибирского государственного педагогического университета. Определение проводили на полуавтоматическом вольтамперометрическом анализаторе «ТА-4», «ТомьАналит», Россия (ПО TA-LabX). Для проведения анализа использованы натрия гидроокись (ЧДА ГОСТ 4328-77), спирт этиловый (ГОСТ Р 51652-200), ацетон (ЧДА ГОСТ 2603-79).

Условия вольтамперометрического определения. Рабочий электрод – ртутно-пленочный (амальгамный) электрод, электрод сравнения – хлорид-серебряный (Ag/AgCl, 3МКCl). Состав фонового электролита: смесь спирта этилового и 2 моль/л (2М) раствора натрия гидроксида (4:6). Параметры дифференциально-импульсного вольтамперометрического определения: начало развертки (-0,3) В, конец развертки (-1,1) В, скорость развертки потенциала 25 мВ/с, амплитуда волны 30 мВ, шаг развертки 10 мВ, задержка измерения 10 мс. Объем пробы – 40 мкл. Измерение высоты сигнала проводили в области потенциала (-0,8)±0,05 В. Для определения содержания исследуемого вещества использовали метод стандарта. Расчет содержания определяемого вещества произведен автоматически с использованием программного обеспечения TA-LabX на основе высоты сигнала определяемого вещества в стандартном растворе Т-1 100 мг/л.

Валидацию разработанной биоаналитической методики проводили в соответствии с Руководством по валидации биоаналитических методик Европейского агентства лекарственных средств (Guide line on bioanalytical method validation, European Medicines Agency, 2011)



и Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (Решение Совета Евразийской экономической комиссии №85 от 3 ноября 2016 г.; Приложение №6. Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов) по параметрам «Селективность», «Линейность», «Эффект переноса», «Нижний предел количественного определения», «Правильность», «Прецизионность», «Стабильность» [10, 11].

Для установления фармакокинетических параметров Т-1 в учебном виварии Новосибирского государственного медицинского университета были получены 8 крыс-самцов массой 300±50 г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом режиме, при свободном доступе к корму и воде на стандартной лабораторной диете. На проведение эксперимента получено заключение Комитета по этике Новосибирского государственного медицинского университета (Протокол №111 от 29.11.2018). Т-1 вводили крысам внутривенно в виде масляного раствора в дозе 500 мг/кг массы испытуемого животного. Забор крови из хвостовой вены крысы проводили через 0, 1, 2, 4, 6, 9 и 24 ч после введения исследуемого вещества. Сыворотку получали центрифугированием крови в течение 10 мин на скорости 4 000 об/мин. Образцы сыворотки хранили при температуре -20°C.

Обработку данных, полученных в ходе валидации методики, проводили с использованием Microsoft Excel. Основные фармакокинетические параметры и фармакокинетическая кривая Т-1 получены с использованием программного обеспечения Borgia 1.03 для однокамерной модели с абсорбцией.

Результаты и обсуждение

На основании литературных данных о способах определения органических сульфидов на ртутно-пленочном электроде с использованием (1,0–3,0) моль/л раствора натрия гидроксида в качестве фонового электролита [12, 13], были подобраны условия электрохимического определения Т-1. При разработке методики в электролитическую ячейку вносили равные алиquotы (40 мкл) 0,1% раствора Т-1 в спирте этиловом. На циклической вольтамперограмме (рис. 2а) сигнал окисления наблюдали на анодной (-0,9 В) и катодной (-0,95 В) развертке, что свидетельствует об обратимости электрохимического процесса.

Органические сульфиды и сульфоксиды способны образовывать с солями ртути комплексные соединения, что мешает правильному определению указанных веществ на ртутно-пленочном электроде ввиду их прочной адсорбции на поверхности электрода. Для устранения этого мешающего влияния в состав фонового электролита вводили спирт этиловый в качестве компонента, способствующего сохранению исследуемого вещества и продукта его окисления в растворе. На рис. 2В имеет место увеличение сигнала окисления определяемого компонента относительно соответствующего сигнала в фоновом электролите без добавления этилового спирта (рис. 2а). Однако при увеличении содержания этилового спирта в составе фонового электролита увеличивается общий ток системы и снижается высота сигнала определяемого компонента. Оптимальным составом фонового электролита было выбрано соотношение спирт этиловый-2М NaOH (4:6).

Отмечено влияние длительности предварительной стадии перемешивания раствора в электрохимической ячейке при отсутствии стадии накопления (рис. 2в). Увеличение времени перемешивания до 90 с приводит к увеличению высоты пика окисления на вольтамперограмме. Дальнейший прирост времени перемешивания существенно не изменяет высоту пика. При выборе оптимальных условий определения оценивали равномерность прироста сигнала от добавления равных аликвот и удобство обработки сигнала. Дифференциально-импульсный режим развертки потенциала позволяет свести к минимуму влияние фона, увеличить высоту сигнала определяемого вещества (рис. 2г) и добиться равномерного прироста сигнала.

Влияние биологической матрицы на вольтамперограмму исследу-

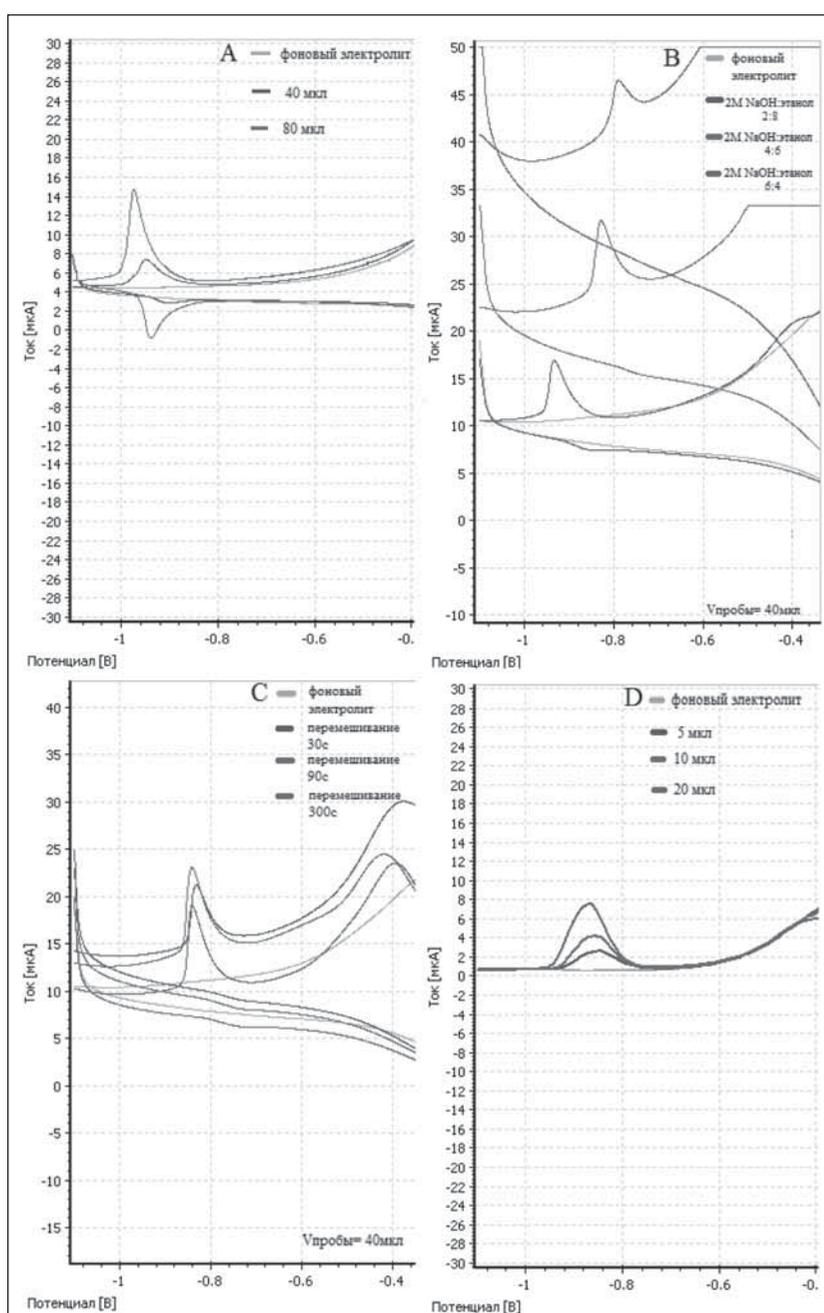


Рис. 2. Вольтамперограммы 0,1% раствора Т-1, полученные с использованием ртутно-пленочного (амальгамного) рабочего электрода
Примечание. а – циклическая вольтамперограмма, фон – 2М NaOH; б – циклическая вольтамперограмма, фон – 2М NaOH с добавлением спирта этилового; в – циклические вольтамперограммы с различным временем перемешивания раствора в электрохимической ячейке, фон – спирт этиловый-2М NaOH (4:6); г – дифференциально-импульсная катодная вольтамперограмма, фон – спирт этиловый: 2МNaOH 4:6.

Fig. 2. Voltammograms obtained in a 0.1% T-1 solution using a working mercury-film (amalgam) electrode
Note. а – cyclic voltammogram; background, 2M NaOH; б – cyclic voltammogram; background, 2M NaOH with the addition of ethanol; в – cyclic voltammograms with different mixing times for the solution in the electrochemical cell; background, ethanol – 2M NaOH (4:6); г – differential-pulse cathodic voltammogram; background, ethanol – 2MNaOH (4:6).

емого вещества оценивали путем записи вольтамперограммы биологического образца (сыворотка крови крысы без добавления исследуемого вещества). На вольтамперограмме образца, не подвергнувшегося предварительной пробоподготовке, обнаружен пик окисления, совпадающий с потенциалом пика окисления Т-1 (рис. 3).

Так как предположительным механизмом реакции является окисление сульфидной группы, то, вероятно, мешающее влияние на запись вольтамперограммы оказывают белки сыворотки крови. Для устранения влияния белков их осадили ацетоном (2:1) с последующим центрифугированием (5 мин, 5000 об/мин). Внесенная в электрохимическую ячейку аликвота надосадочной жидкости не имеет пика на вольтамперограмме (рис. 3). Для того, чтобы оценить влияние указанного способа пробоподготовки на определение Т-1, приготовили модельный раствор с концентрацией 100 мг/л, состоящий из

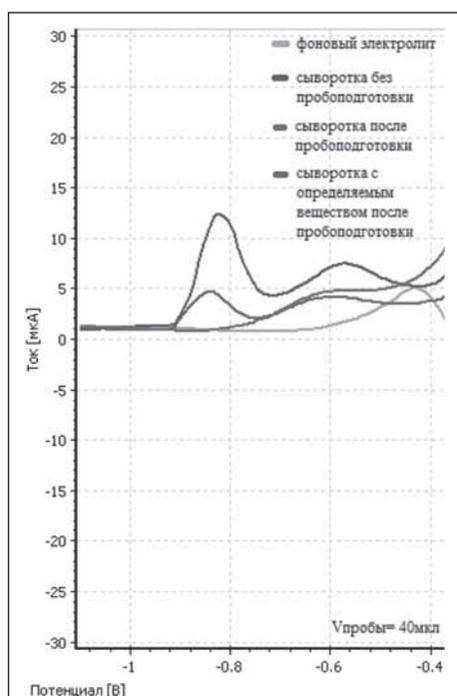


Рис. 3. Дифференциально-импульсная катодная вольтамперограмма на фоне смеси спирт этиловый-2М NaOH (4:6)

Fig. 3. Differential-pulse cathodic voltammogram in the presence of a mixture of ethanol – 2MNaOH (4:6)

100 мкл 1000 мг/л раствора Т-1 в спирте этиловом и 900 мкл сыворотки крови крысы, не содержащей определяемого компонента. На вольтамперограмме модельного раствора, измеренной после проведения предварительной пробоподготовки, зафиксирован пик окисления определяемого компонента.

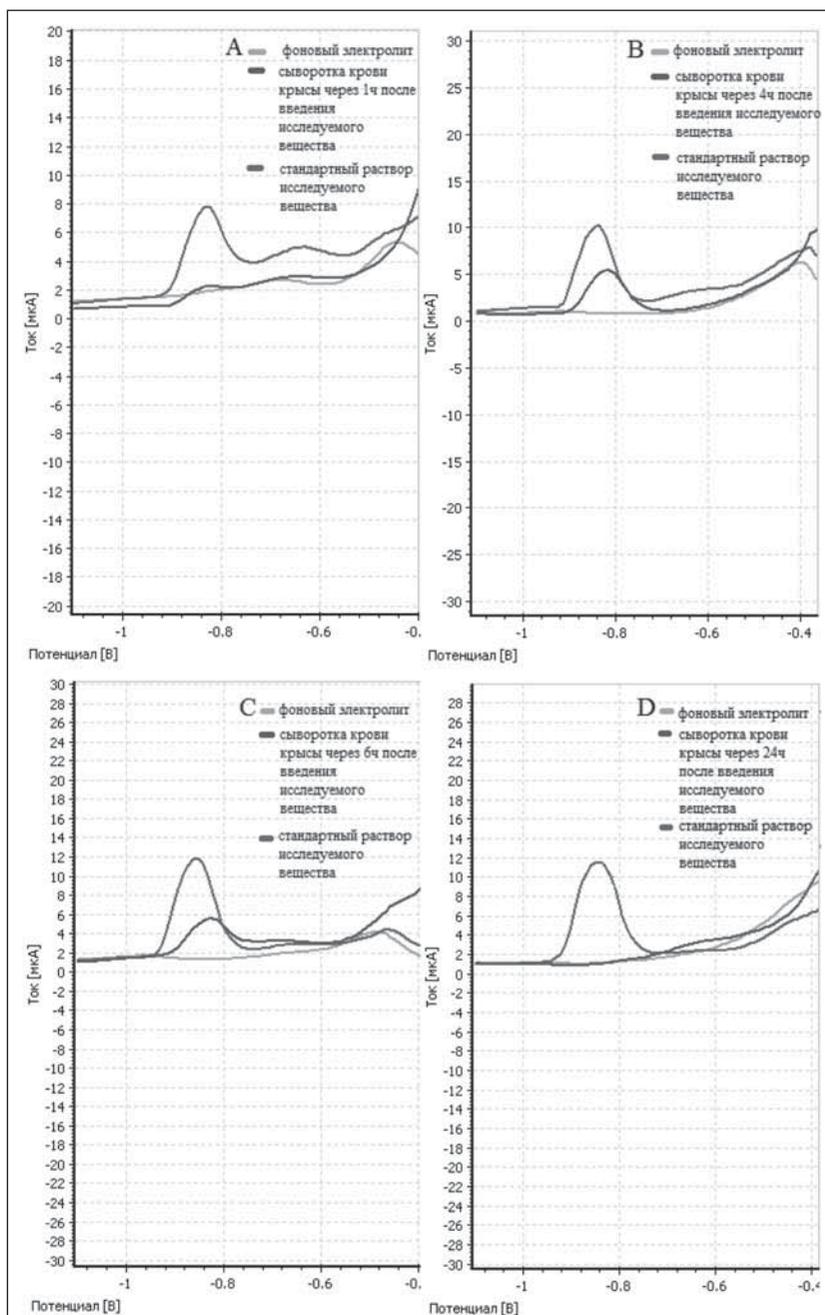


Рис. 4. Вольтамперограммы сыворотки крови крыс

Примечание. а – 1 ч после введения исследуемого вещества; б – 4 ч после введения исследуемого вещества; в – 6 ч после введения исследуемого вещества; г – 24 ч после введения исследуемого вещества.

Fig. 4. Rat serum voltammograms

Note. а – One hour after administration of the test substance; б – 4 hours after administration of the test substance; в – 6 hours after administration of the test substance; г – 24 hours after administration of the test substance.

понента (рис. 3). Установлено, что высоты пиков окисления модельных растворов после пробоподготовки совпадают с высотами стандартных растворов Т-1 в эквивалентных концентрациях. Таким образом, выбранный способ пробоподготовки не мешает определению исследуемого вещества.

Разработанная методика валидирована на модельном растворе сыворотки крови крыс с добавлением стандартного раствора определяемого вещества в соответствии с требованиями к валидации биоаналитических методик по показателям «Селективность», «Эффект переноса», «Нижний предел количественного определения», «Линейность», «Правильность», «Прецизионность», «Стабильность».

На вольтамперограммах шести холостых биологических проб, полученных от разных крыс, отсутствует пик, соответствующий потенциалу пика электрохимического окисления Т-1, что говорит о специфичности методики. Высоты пиков электрохимического окисления Т1, полученные при записи вольтамперограмм модельных растворов с концентрацией 12,5; 40; 75; 100; 150; 200 мг/л проявляли линейную зависимость относительно номинальной концентрации модельных растворов. Значение коэффициента корреляции составило $r=0,9955$. Отклонение рассчитанного значения концентрации не превышало номинального более, чем на 10,4% (максимально допустимое значение – $\pm 15\%$). Установлено, что высота пика на вольтамперограмме холостой биологической пробы, записанной сразу после измерения вольтамперограммы раствора с концентрацией Т-1 1000 мг/л не превышает 5,4% высоты пика на вольтамперограмме модельного раствора с концентрацией 12,5 мг/л (максимально допустимое значение – 20%).

Для определения правильности и прецизионности методики оценивали рассчитанное содержание Т-1 в модельных растворах с концентрациями 12,5, 40, 100, 200 мг/л относительно номинального содержания. Рассчитанные концентрации модельных растворов внутри

одного цикла и между циклами (днями) не отличались от номинальных более чем на 8 и 2,7% соответственно (восстановление Recovery должно находиться в пределах 85–115%). Величина относительного стандартного отклонения (RSD, %) измерений внутри одного цикла и между циклами не превышала соответственно 3,89 и 3,38% (максимально допустимое значение – 15%).

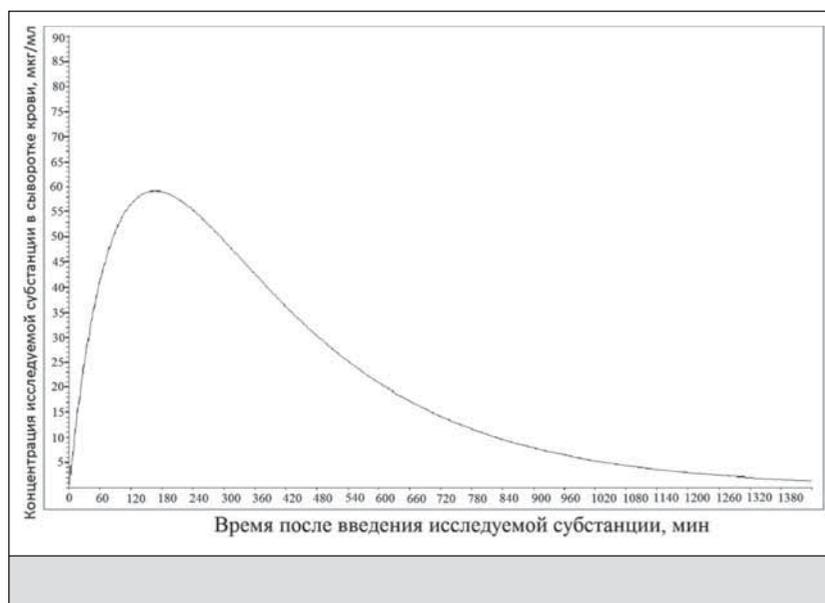
Параметры линейной зависимости, правильности и прецизионности, полученные в ходе валидации модельного раствора с концентрацией Т-1 12,5 мг/л, соответствовали установленным требованиям. Нижний предел количественного определения методики принимается 0,5 мкг Т-1.

Далее определяли отклонение рассчитанного содержания Т-1 в модельных растворах от номинального (12,5, 200 мг/л) после 2 циклов замора-

Основные фармакокинетические параметры Т-1 на крысах при однократном внутрижелудочном введении в дозе 500 мг/кг

Basic pharmacokinetic parameters of T-1 in rats after single intragastric administration at a dose of 500 mg/kg

Время, мин	Рассчитанная концентрация Т-1 в сыворотке крови, мкг/мл	Период полувыведения, мин	Константа скорости элиминации, ч ⁻¹	Общий клиренс, мл/мин	Площадь под кинетической кривой
60	24,32	210,38	0,00329	0,819	31129,6
120	54,48				
240	92,11				
360	63,66				
540	38,76				
1440	2,04				



живания (-20°C)/размораживания (при комнатной температуре) и после хранения при комнатной температуре в течение 2, 6, 12 ч. Все рассчитанные значения концентраций определяемого компонента в модельных растворах находились в диапазоне допустимых $\pm 15\%$ от номинального, что подтверждает стабильность образцов. Таким образом, в ходе проведенных испытаний была показана валидность разработанной методики.

Методика была успешно применена для установления фармакокинетических параметров исследуемого вещества при однократном внутривенном введении на крысах в дозе 500 мг/кг массы тела животного. Методика позволяет определять изменение концентрации Т-1 в сыворотке крови со временем (рис. 4, см. таблицу).

Заключение

Разработана и валидирована методика количественно определения нового полифункционального фенольного серосодержащего антиоксиданта додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида в сыворотке крови методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Данная методика показала пригодность для установления фармакокинетического профиля додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида в эксперименте на крысах и может быть в дальнейшем использована при проведении доклинических и клинических исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература/References

1. Neha K., Haider M.R., Pathak A., Yar M.S. Medicinal prospects of antioxidants. *European J. of Medicinal Chemistry*. 2019; 178: 687–704. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.06.010
2. Плотников М.Б., Просенко А.Е., Смольякова В.И. и др. Синтез и антиокислительная активность 3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиододекана. *Химико-фармацевтический журнал*. 2010; 44 (3): 65–7. [Plotnikov M.B., Prosenko A.E., Smol'yakova V.I., et al. Synthesis and antioxidant activity of 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzylthiododecane. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2010; 44 (3): 65–7 (In Russian)].
3. Кемелева Е.А., Васюнина Е.А., Сеницина О.И. и др. Новые перспективные антиоксиданты на основе 2,6-диметилфенола. *Биоорганическая химия*. 2008; 34 (4): 558–69. [Kemeleva E.A., Vasyunina E.A., Sinitsina O.I. et al. New

promising antioxidants, based on the structure of 2,6-dimethylphenol. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2008; 34 (4): 558–69 (In Russian)].

4. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing. 2012; 488. [Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Kandalintseva N.V. Phenolic antioxidants in biology and medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing. 2012; 488 (In Russian)].
5. Mohamed M.A., Eldin G., Ismail S.M. et al. Innovative electrochemical sensor for the precise determination of the new antiviral COVID-19 treatment Favipiravir in the presence of coadministered drugs. *J. of Electroanalytical Chemistry*. 2021; 895: 115422. DOI:10.1016/j.jelechem.2021.115422
6. Karami F., Ranjbar S., Ghasemi Y., Negahdaripour M. Analytical methodologies for determination of methotrexate and its metabolites in pharmaceutical, biological and environmental samples. *J. of Pharmaceutical Analysis*. 2019; 9 (6): 373–91. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.06.001
7. Ferraz B., Guimaraes T., Profeti D., Profeti L. Electrooxidation of sulfanilamide and its voltammetric determination in pharmaceutical formulation, human urine and serum on glassy carbon electrode. *J. Pharm. Anal.* 2018; 8 (1): 55–9. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.10.004
8. Ansari R., Hasanzadeh M., Ehsani M. et al. Sensitive identification of silibinin as anticancer drug in human plasma samples using poly (β-CD)-AgNPs: A new platform towards efficient clinical pharmacotherapy. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 140: 111763. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111763
9. Marin M., Lete C., Manolescu B.N., Lupu S. Electrochemical determination of α-lipoic acid in human serum at platinum electrode. *J. of Electroanalytical Chemistry*. 2014; 729: 128–34. DOI: 10.1016/j.jelechem.2014.07.024
10. Sonawane L.V., Poul B.N., Usnale S.V., Surwaise L.H. Bioanalytical method validation and its pharmaceutical application-a review. *Pharm. Anal. Acta*. 2014; 5 (3): 288. DOI: 10.4172/2153-2435.1000288
11. Supriya V., Shakirunisa M., Krupa S.O. et al. A review on bioanalytical method development and validation. *Indo Am. J. P. Sci.* 2021; 8 (5): 210–25. DOI: 10.5281/zenodo.4773954
12. Лейтес Е.А., Анисимова Л.С., Катюхин В.Е. Определение органических сульфидов методом инверсионной вольтамперометрии. *Известия Алтайского государственного университета*. 1998; 1: 82–4. [Leites E.A., Anisimova L.S., Katyukhin V.E. Determination of organic sulfides by inverse voltammetry. *Izvestiya Altaiskogo gosudarstvennogo universiteta*. 1998; 1: 82–4 (In Russian)].
13. Ковалева С.В., Черемухина Н.М., Гладышев В.П. Определение сульфид-ионов методом вольтамперометрии. *Журнал аналитической химии*. 2004; 59 (8): 839–42. [Kovaleva S.V., Cheremukhina N.M., Gladyshev V.P. Voltammetric determination of sulfide-ions. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. 2004; 59 (8): 839–42 (In Russian)].

Поступила 28 октября 2021 г.

Received 28 October 2021

Принята к публикации 14 ноября 2021 г.

Accepted 14 November 2021