

## ОБЗОР МЕТОДОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АНТИОКСИДАНТОВ

### Т.Г. Шинко

аспирант, фармацевтический факультет,  
Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Новосибирск, Россия)  
E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

### С.В. Терентьева

д.фарм.н.,  
Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Новосибирск, Россия)  
E-mail: terentyeva\_sv@mail.ru

### Е.А. Ивановская

д.фарм.н., профессор, Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Новосибирск, Россия)  
E-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru

Антиоксидантная защита является эффективным и признанным способом борьбы со свободнорадикальным окислительным механизмом повреждения клеток организма. Антиоксиданты широко применяются в комплексной терапии гепатитов, атеросклероза, злокачественных новообразований. Одним из перспективных направлений синтеза новых антиоксидантов является включение в их состав серы, как элемента, легко подвергающегося окислению и к тому же способного связывать катионы тяжелых металлов. Методы фармацевтического анализа таких препаратов должны позволять адекватно оценить состояние важных с точки зрения эффективности препарата функциональных групп и, таким образом, коррелировать с антиоксидантным эффектом препарата. В обзоре рассматриваются методы контроля качества субстанций и лекарственных форм серосодержащих антиоксидантов, а также методы, позволяющие определить их концентрацию в биообъектах. Анализируются методики, представленные в Европейской фармакопее 8-го издания, фармакопее США 41, Британской фармакопее 2016, Японской фармакопее 17-го издания для анализа субстанций и лекарственных препаратов тиоктовой кислоты, пробуккола, буцилламина, дисульфирама. Установлено, что наряду с надёжными фармакопейными методами количественного определения, такими как титриметрия, спектрофотометрия и высокоэффективная жидкостная хроматография, для анализа антиоксидантов активно разрабатываются электрохимические методы. Данные методы предлагается применять как самостоятельно, так и для хроматографического детектирования. Количественное определение, основанное на использовании окислительно-восстановительного потенциала антиоксидантов способно адекватно отражать функциональное состояние такой субстанции или лекарственного препарата и тем самым гарантировать его эффективность. Электрохимические методы, благодаря высокой чувствительности и относительной простоте прободготовки, могут также применяться для установления содержания серосодержащих антиоксидантов в биологических образцах. Однако большинство рассмотренных методов анализа лекарственных средств в биообъектах являются хроматографическими, поскольку позволяют одновременно определять лекарственное средство и его метаболит, а в случае применения хромато-масс-спектрометрии ещё и устанавливать структуру метаболитов.

**Ключевые слова:** серосодержащие антиоксиданты, контроль качества, фармацевтический анализ.

**Для цитирования:** Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А. Обзор методов фармацевтического анализа серосодержащих антиоксидантов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(5):15-21. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-05-02>

Роль перекисного окисления липидов и свободнорадикального механизма для организма человека начали широко изучать научные коллективы разных стран мира в 1950–1960-х гг. Именно тогда было показано влияние активных форм кислорода на повреждение клеточных мембран, этиологию и патогенез онкологических заболеваний. Предложенная теория оксидативного стресса позволила обнаружить влияние свободных радикалов на развитие и течение заболеваний многих систем и органов человека. Применение лекарственных препара-

тов с антиоксидантной активностью дает возможность восстановить нарушенный прооксидантный/антиоксидантный баланс в организме и предотвратить нежелательное повреждение тканей [1].

Антиоксидантная активность может быть обусловлена наличием в структуре лекарственного средства фенольных групп, непредельного углеводородного радикала, легкоокисляющихся элементов (селен, сера). Серосодержащие структуры являются перспективными в плане синтеза новых активных соединений, поскольку они имеют двой-

ственный механизм действия: выступают одновременно как донаторы протона и как хелаторы катионов тяжёлых металлов [1]. Поскольку эффективность препаратов данного ряда напрямую связана с их химическим строением, необходимо, чтобы это находило отражение в фармацевтическом анализе. Применение методов контроля качества, позволяющих адекватно оценить реакционную способность функционально активных групп, может являться гарантом проявления лекарственных препаратами специфической активности.

Ц е л ь р а б о т ы – обзор методов исследования, предложенных ведущими мировыми фармакопеями для анализа серосодержащих антиоксидантов, а также методов их контроля качества в лекарственных формах и определения в биологических объектах.

### ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ – СЕРСОДЕРЖАЩИЕ АНТИОКСИДАНТЫ

Тиоктовая ( $\alpha$ -липоевая) кислота (рис. 1) – является коферментом окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты и  $\alpha$ -кетокислот в цикле Кребса. Препарат обладает гепатопротекторным, дезинтоксикационным, гиполипидемическим и гипохолестеринемическим действием, поэтому его назначают при различных заболеваниях печени (гепатит, цирроз, жировая дистрофия), гиперлипидемии, а также при интоксикациях, диабетической и алкогольной полинейропатии [2]. В Российской Федерации (РФ) зарегистрировано более 30 лекарственных препаратов тиоктовой кислоты в различных лекарственных формах.

Буцилламин (рис. 2) – синтетический антиоксидантный препарат, применяемый для снижения повреждения тканей при инфаркте миокарда, операциях на сердце, трансплантации органов. Буцилламин способен восполнять тиольные группы глутатиона, тем самым восстанавливая собственную антиоксидантную систему организма. Кроме того, буцилламин активирует транскрипцию фактора Nf2, за счёт чего увеличивается синтез эндогенного глутатиона [3]. Лекарственное средство разработано и применяется в Японии, в РФ не зарегистрировано.

Пробукол (рис. 3) – синтетический антиоксидант, обладающий широким спектром активности. Основной эффект пробукола связан с предотвра-

щением перекисного окисления липопротеинов низкой плотности в плазме. Этот эффект обуславливает применение пробукола при атеросклерозе и гиперлипидемии [4]. В настоящее время данный препарат не зарегистрирован на территории РФ.

Дисульфирам (рис. 4) – производное дитиокарбаминовой кислоты, широко известен как препарат, применяющийся для лечения алкогольной зависимости. В исследованиях была показана способность дисульфирама препятствовать повреждающему действию активных форм кислорода, благодаря чему дисульфирам успешно применяется в лечении катаракты [5], одобрен FDA для проведения клинических испытаний в качестве противоопухолевой и ВИЧ-терапии [6]. На территории РФ дисульфирам на данный момент зарегистрирован как препарат, устраняющий алкогольную зависимость.

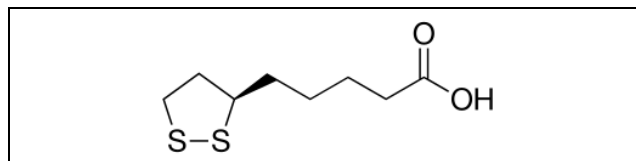


Рис. 1. Тиоктовая ( $\alpha$ -липоевая) кислота

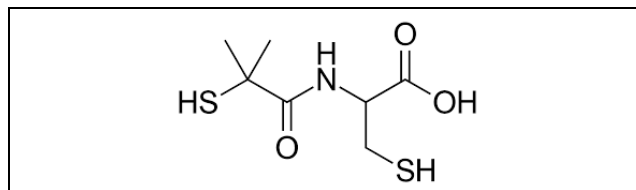


Рис. 2. Буцилламин

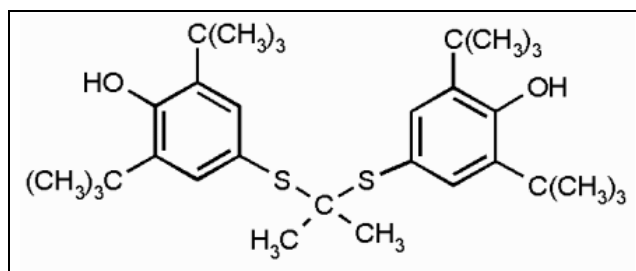


Рис. 3. Пробукол

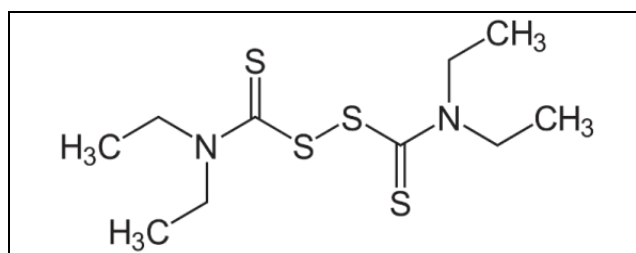


Рис. 4. Дисульфирам

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Различные спектральные характеристики широко используются в фармацевтическом анализе антиоксидантов.

Ведущие фармакопеи мира – Европейская фармакопея 8-го издания (Ph.Eur.), фармакопея США 41 (USP), Британская фармакопея 2016 (Br.Ph.), Японская фармакопея 17-го издания (Jp.Ph.) – предлагают применять для установления подлинности субстанций тиоктовой кислоты, пробукола, дисульфирама и буцилламина ИК-спектрометрию (сравнение с ИК-спектром стандартного образца субстанции). Наличие в структуре исследуемых субстанций сопряженных электронных связей позволяет также определять подлинность исследуемых субстанций с помощью УФ-спектрофотометрии (Jp.Ph. – для анализа пробукола и дисульфирама).

Кроме того, предложены спектральные методики количественного определения серосодержащих антиоксидантов в лекарственных формах. Для определения тиоктовой кислоты и пробукола рекомендован метод фотоэлектроколориметрии окрашенного продукта реакции с нитропруссидом ( $\lambda=490$  нм), полученного в результате его взаимодействия с сульфгидрильными группами [7] (тиоктовая кислота: открываемость (Recovery) – 99,5–101,25%; относительное стандартное отклонение (RSD) – 0,31%; аналитическая область – 0,006–0,30 мг/мл; пробукол: Recovery – 98,88–101,1%, RSD – 0,35%; аналитическая область – 0,1–0,5 мг/мл).

Количественно определить буцилламин в таблетках можно методом Фурье-ИК-спектроскопии [8] (Recovery – 95,86–96,6%; RSD – 1,9%). Дисульфирам, включенный с целью повышения биодоступности в различные полимерные материалы (циклодекстрин, поллоксамер P188), можно количественно определять с помощью УФ-спектрофотометрии (RSD – 1,86% аналитическая область: 0,008–0,011 мг/мл) [5].

Содержание тиоктовой кислоты в биологических образцах предложено устанавливать методом кинетической спектрофотометрии, основанном на каталитическом эффекте реакции азиды натрия с йодом (предел обнаружения (LOD) 0,018 мкг/мл; аналитическая область 0,1–1 мкг/мл) [9].

## ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Самым распространенным методом анализа серосодержащих антиоксидантов является высоко-

эффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) (табл. 1).

Данный метод предлагают использовать для количественного определения субстанций пробукола (USP, Jp.Ph.), дисульфирама (USP) и тиоктовой кислоты (Eur.Ph.). Также распространенным фармакопейным методом является ВЭЖХ для обнаружения и установления допустимых пределов содержания родственных примесей (Jp.Ph. – буцилламин, пробукол; USP – пробукол; Eur.Ph. – тиоктовая кислота). В контроле качества фармацевтических субстанций хроматографические методы применяют для установления подлинности (дисульфирам):

ВЭЖХ по времени удерживания основного пика по сравнению со стандартом (USP);

тонкослойная хроматография (ТСХ) по расположению и форме пятна по сравнению со стандартом (Eur.Ph.).

Для оценки содержания родственных примесей в фармацевтических субстанциях дисульфирама и тиоктовой кислоты Eur.Ph. предлагает использовать метод ТСХ, что обусловлено отсутствием светопоглощающей способности у данных примесей.

Для анализа фармацевтических препаратов и пищевых добавок с тиоктовой кислотой и дисульфирамом разработаны методики ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [10, 11]. Электрохимический метод детектирования основан на способности серы к окислению, а потому может косвенно отражать функциональную эффективность лекарственного препарата.

Также ВЭЖХ является самым распространенным методом определения серосодержащих антиоксидантов в биообъектах. Методика с УФ-спектрофотометрическим детектированием разработана для пробукола [12]. Флуориметрическое детектирование используют для определения буцилламина [13] и тиоктовой кислоты [14]. Данные субстанции не обладают свойством флуоресценции, однако могут быть детектированы после реакции с флуорохромами монобромобиманом (буцилламин) или 2-(4-аминофенил)-6-метилбензотиазолом (тиоктовая кислота). Разработаны методики количественного определения тиоктовой кислоты методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [15]. Распространенным методом количественной оценки содержания лекарственных средств в плазме крови является хромато-масс-спектрометрия [16, 17].

Таблица 1. ВЭЖХ-параметры определения серосодержащих антиоксидантов

Объект	Исследуемое вещество	Колонка	Подвижная фаза	Скорость потока	Детектор	LOD	Аналит. область	Recovery, %	RSD, %
Субстанция	Тиоктовая кислота (Eur.Ph.)	Октадецилсиликагель 5µm / $l = 0,25$ м; $d = 4,6$ мм	Смесь 8 объемов ацетонитрила, 41 объема дигидрофосфата калия, предварительно доведенного до значения pH=3,0 фосфорной кислотой и 51 объема метанола	1,2 мл/мин	УФ-спектрофотометрический, 215 нм	-	-	-	-
Субстанция	Пробукол (Jp.Ph.)	Октадецилсиликагель 5µm / $l = 0,25$ м; $d = 4,6$ мм	Ацетонитрил : вода 97:3	RT пробуккола $\approx 13$ мин	УФ-спектрофотометрический, 242 нм	-	-	-	-
Субстанция	Пробукол (USP)	Наполнитель L7 / $l = 0,25$ м; $d = 4,6$ мм	Ацетонитрил : вода 85:15	2 мл/мин	УФ-спектрофотометрический, 242 нм	-	-	-	-
Субстанция	Дисульфирам (USP)	Наполнитель L1 5µm / $l = 0,15$ м; $d = 4,0$ мм	Метанол : буферный раствор 7:3; буферный раствор: водный раствор 6,8 г/л одноосновного калия фосфата довести до pH=7,0 45%-ным раствором калия гидроксида	2 мл/мин	УФ-спектрофотометрический, 242 нм	-	-	-	-
Субстанция	Буцилламин-родственные примеси (Jp.Ph.)	Октадецилсиликагель 5µm / $l = 0,15$ м; $d = 6$ мм	0,01 М лимонная кислота : метанол 1:1	RT буцилламина $\approx 5$ мин	УФ-спектрофотометрический, 254 нм	-	-	-	-
БАД	Тиоктовая кислота [10]	C18 (150 мкмх4,6 мм, 5 мкм)	Ацетонитрил : 0,05 М фосфатный буфер (pH=2,5) 1:1	1,0 мл/мин	Амперометрический детектор: потенциал детектирования - 1,05 В; электрод сравнения - хлорсеребряный; рабочий электрод - алмазный электрод, дигириванный бором	3,0 нг/мл	0,01-60 мкг/мл	94,4-103,6	1,2-3,7
Продукты питания	Дисульфирам [11]	C18	Ацетонитрил : 0,05 М фосфатный буфер (pH=5) 45:55	1,5 мл/мин	Амперометрический детектор: потенциал детектирования - 1,2 В; электрод сравнения - хлорсеребряный; рабочий электрод - графитовый электрод, модифицированный наночастицами золота	0,165 мкг/мл	0,5-15 мкг/мл	94,3-108,8	-
Плазма крови	Тиоктовая кислота [15]	Discovery HS C18 (250 мкмх4,6 мм, 5 мкм)	0,05М фосфатный буфер (pH=2,5), ацетонитрил 50:50	1,5 мл/мин	Амперометрический детектор: потенциал детектирования - 1,0 В	0,2 нг/мл	0,001-10 мкг/мл	95,6-102,7	4,97
Плазма крови/моча	Тиоктовая кислота [14]	UltraSphere C8	Ацетонитрил : вода	-	Флуориметрический детектор (после предварительной дериватизации с 2-(4-аминсоединитель)-6-метилбензотриазолом)	-	-	-	-
Плазма крови	Тиоктовая кислота [17]	Zorbax SB-C18 (100 мкмх3 мм, 3,5 мкм)	Ацетонитрил : 0,1%-ная уксусная кислота (pH=4,0) 65:35	0,3 мл/мин	Масс-спектрометрическое детектирование	-	5-10000 нг/мл	-	7
Плазма крови	Пробукол [12]	Hypersil ODS	Ацетонитрил : вода 96:4	-	УФ-спектрофотометрический, 241 нм	0,5 мкг/мл	-	-	1,6-4,8
Плазма крови	Дисульфирам [16]	Phenomenex Kinetex® XB C18	Ацетонитрил : вода(содержащая 0,1% муравьиной кислоты и 1 мМ аммония ацетата)	0,2 мл/мин	Масс-спектрометрическое детектирование: 296,95/115,94	-	0,6-1200 нг/мл	75,7-78,3	8,9-12,4
Плазма крови	Буцилламин [13]	-	-	-	Флуориметрический детектор (после предварительной дериватизации с монобромбианом)	-	0,05-10 мкг/мл	107,6	6,3

Таблица 2. Параметры электрохимического определения серосодержащих антиоксидантов

Объект	Исследуемое вещество	Метод	Электроды	Параметры разветтки	LOD	Аналит. область	Recovery, %	RSD, %
БАД	Тиоктовая кислота	Квадратно-волновая анодная вольт-амперометрия [18]	Рабочий электрод – графеновый электрод, модифицированный оксидом марганца (IV)	-	0,088 мкг/мл	0,3-25 мкг/мл	-	-
Лекарственные препараты	Дисульфирам	Квадратно-волновая анодная вольт-амперометрия [19]	Рабочий электрод – амальгамный электрод (ртутно-плёночный электрод Hg(Ag)); электрод сравнения – хлорсеребряный электрод (Ag(AgCl)/3M KCl); вспомогательный – платиновый электрод	Фоновый электролит - буферный раствор Бриттона-Робинсона (рН 7,5), потенциал накопления - 0 В, время накопления - 30 с, амплитуда импульсов - 60 мВ, частота - 25 Гц, шаг развертки потенциала - 7 мВ; пик восстановления дисульфирама - (-0,5) В	1,1·10 <sup>-8</sup> моль/л	5,0·10 <sup>-8</sup> ... 5,0·10 <sup>-6</sup> моль/л	99,75	0,25
Сыворотка крови	Тиоктовая кислота	Дифференциально-импульсная вольт-амперометрия [20]	Рабочий электрод - платиновый электрод	Фоновый электролит - ацетатный буферный раствор (рН=4,5); пик тиоктовой кислоты - 0,55 В	13,1 мкМ	10-800 мкМ	-	1,15

Хроматографические методы удобны для фармакокинетических исследований лекарственных средств, поскольку являются высокоселективными и позволяют обнаружить и количественно определить не только сами действующие вещества, но и их метаболиты, а в случае хромато-масс-спектрометрии – еще и установить их структуру. Однако хроматографические методы довольно затратны по времени, требуют серьезной пробоподготовки, что может привести к потерям определяемого вещества, что является их недостатком.

### ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Способность серы, входящей в структуру серосодержащих антиоксидантов, легко вступать в окислительно-восстановительные реакции лежит в основе применения электрохимических методов для различного вида анализа (табл. 2). Применение данных методов целесообразно с точки зрения оценки реакционной способности серы как функционально активного элемента.

Провести количественное определение тиоктовой кислоты и дисульфирама в лекарственных формах можно вольтамперометрически [18, 19].

Кроме того, предложен метод вольтамперометрии для определения тиоктовой кислоты в плазме крови [20]. Данный метод, как и ВЭЖХ, является избирательным, но менее продолжительным, а также отличается высокой чувствительностью (аналитическая область: 10–800 мкМ; LOD: 13,1 мкМ).

### ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Химические реакции и различные методики титрования являются фармакопейными для установления подлинности и количественного определения субстанций серосодержащих антиоксидантов. Так, Eur.Ph. предлагает устанавливать подлинность дисульфирама по образованию желтого окрашивания с меди(II)хлоридом в метаноле, а Jp.Ph. – подлинность буцилламина по образованию фиолетового окрашивания в реакции с нитропруссидом. Определить содержание дисульфирама в субстанции согласно Eur.Ph. можно аргентометрически, а содержание буцилламина и дисульфирама в соответствии с требованиями Jp.Ph. – йодиметрически.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стандартами Eur.Ph, USP, Br.Ph, Jp.Ph. на дисульфиром, тиоктовую кислоту, пробукол и бу-

цилламин установлено преимущественное использование физико-химических и спектральных методов анализа, что соответствует современному уровню развития фармацевтической химии и высоким требованиям, предъявляемым к качеству лекарственных средств. Спектральные характеристики, используемые для анализа субстанции, позволяют достаточно точно оценить структуру, чистоту и содержание исследуемого компонента, однако не характеризуют функциональное состояние и не позволяют предсказать антиоксидантную активность.

Оптимальными методами количественного определения антиоксидантов с точки зрения оценки их эффективности могут выступать электрохимические методы (вольтамперометрия, хроматография с электрохимическим детектированием), поскольку они основаны на способности определяемого вещества вступать в окислительно-восстановительные реакции, которые являются основой проявляемого терапевтического эффекта. Этим можно объяснить достаточно широкое распространение электрохимических методов для анализа лекарственных форм и биологических объектов с серосодержащими антиоксидантами.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Трегубова И.А., Косолянов В.А., Снагов А.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы. Успехи физиологических наук. 2012; 43(1):75–94.
2. Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Sgherri C. Lipoic acid: A unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. B: Plant Physiology and Biochemistry. 2002; 40(6–8): 463–470.
3. Wielandt A.M., Vollrath V., Farias M., Chianale J. Bucillamine induces glutathione biosynthesis via activation of the transcription factor Nrf2. Biochem Pharmacol. 2006; 72(4): 455–462.
4. Zimetbaum P., Eder H., Frishman W. Probutol: Pharmacology and clinical application. Journal of Clinical Pharmacology. 1990; 30: 3–9.
5. Золотарева М.С., Тюкова В.С. Валидация методики количественного определения дисульфирама в субстанции на основе комплекса включения гидроксипропил-β-циклодекстрина с дисульфиромом. Современная наука: исследования, технологии, проекты. Сборник V междунар. науч.-практич. конф. (Москва, 8 ноября 2015 г.). 2015; 251–258.
6. Kaul L., Süß R., Zannettino A., Richter K. The revival of dithiocarbamates – from pesticides to innovative medical treatment. iScience. 2021; 24(2): 102092.
7. Патент № 2426097 Российская Федерация, МПК G01N 21/78. Способ количественного определения лекарственных веществ в фармакопейных препаратах. В.П. Калашиников, А.И. Сливкин, Л.Ю. Яковлев; заявитель и патен-

- тообладатель ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет». №2010106669/28; заявл. 24.02.2010; опубл. 10.08.2011; бюл. № 22. 9 с.
8. *Bunaciu A.A., Aboul-Enein H.Y., Fleschin Ş.* Quantitative analysis of bucillamine and its pharmaceutical formulation using FT-IR spectroscopy. *Farmaco.* 2005; 60(8): 685–688.
  9. *Walash M.I., Metwally M.E.S., El-Brashy A.M., Abdelal A.A.* Kinetic spectrophotometric determination of some sulfur containing compounds in pharmaceutical preparations and human serum. *Farmaco.* 2003; 58(12): 1325–1332.
  10. *Siangproh W., Rattanarat P., Chailapakul O.* Reverse-phase liquid chromatographic determination of  $\alpha$ -lipoic acid in dietary supplements using a boron-doped diamond electrode. *J. Chromatogr. A.* 2010; 1217(49): 7699–7705.
  11. *Charoenkitamorn K., Chailapakul O., Siangproh W.* Development of gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode for the analysis of thiram, disulfiram and their derivative in food using ultra-high performance liquid chromatography. *Talanta.* 2015; 132: 416–423.
  12. *Nourooz-Zadeh J., Gopaul N.K., Forster L.A., Ferns G.A., Ånggård E.E.* Measurement of plasma probucol levels by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1994; 654(1): 55–60.
  13. *Lee K.C., Chun Y.G., Kim I., Shin B.S., Park E.S., Yoo S.D.* Development and validation of a reversed-phase fluorescence HPLC method for determination of bucillamine in human plasma using pre-column derivatization with monobromobimane. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2009; 877(22): 2130–2134.
  14. *Haj-Yehia A.I., Assaf P., Nassar T., Katzhendler J.* Determination of lipoic acid and dihydrolipoic acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Chromatogr. A.* 2000; 870(1–2): 381–388.
  15. *Khan A., Khan M.I., Iqbal Z., Ahmad L., Shah Y., Watson D.G.* Determination of lipoic acid in human plasma by HPLC-ECD using liquid-liquid and solid-phase extraction: Method development, validation and optimization of experimental parameters. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2010; 878(28): 2782–2788.
  16. *Zhang L., Jiang Y., Jing G., Tang Y., Chen X., Yang D.* A novel UPLC-ESI-MS/MS method for the quantitation of disulfiram, its role in stabilized plasma and its application. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2013; 937: 54–59.
  17. *Chen J., Jiang W., Cai J., Tao W., Gao X., Jiang X.* Quantification of lipoic acid in plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 824(1–2):249–257.
  18. *Charoenkitamorn K., Chaiyo S., Chailapakul O., Siangproh W.* Low-cost and disposable sensors for the simultaneous determination of coenzyme Q10 and  $\alpha$ -lipoic acid using manganese (IV) oxide-modified screen-printed graphene electrodes. *Anal. Chim. Acta.* 2018; 1004: 22–31.
  19. *Smarzewska S., Festinger N., Skowron M., Guziejewski D., Metelka R., Brycht M.* Voltammetric analysis of disulfiram in pharmaceuticals with a cyclic renewable silver amalgam film electrode. *Turkish J. Chem.* 2017; 41(1): 116–124.
  20. *Marin M., Lete C., Manolescu B.N., Lupu S.* Electrochemical determination of  $\alpha$ -lipoic acid in human serum at platinum electrode. *J. Electroanal. Chem.* 2014; 729: 128–34.

Поступила 18 февраля 2021 г.

## REVIEW OF METHODS FOR PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF SULFUR-CONTAINING ANTIOXIDANTS

© Authors, 2021

### T.G. Shinko

Post-graduate Student, Pharmaceutical Department, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia)

E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

### S.V. Terentyeva

Dr.Sc. (Pharm.), Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia)

E-mail: terentyeva\_sv@mail.ru

### E.A. Ivanovskaya

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia)

E-mail: el-ivanovskaja@yandex.ru

Antioxidant protection is an effective and recognized way to control the free-radical oxidative mechanism in live organisms. Antioxidants are widely used in the treatment of hepatitis, atherosclerosis, and malignancies. One of the promising directions for the synthesis of new antioxidants is the inclusion of sulfur in its structures. Sulfur is an element that is easily oxidized and, in addition, is able to bind heavy metal cations. Methods for pharmaceutical analysis of such pharmaceuticals should estimate adequate the condition of important functional groups and, if it is possible, correlate with antioxidant effect. In this research work methods for quality control of sulfur-containing antioxidant in pharmaceuticals and biosamples are reviewed. For this reason methods for analysis of thioctic acid, probucol, bucillamine and disulfiram, represented in European Pharmacopoeia 8<sup>th</sup> edition, USP 41, British Pharmacopoeia 2016, Japanese Pharmacopoeia 17<sup>th</sup> edition, were analysed. It was estimated, that along with reliable pharmacopoeial quantification methods, such as titrimetry, spectrophotometry, and high-performance liquid chromatography, electrochemical methods are being actively developed for the analysis of antioxidants. These methods can be used definitely or as detection for chromatography. Quantitative de-

termination based on the redox potential of antioxidants can adequately reflect the functional state of such pharmaceuticals and thus guarantee its efficacy. Due to their high sensitivity and relative ease of sample preparation, electrochemical methods can also be used to determine the content of sulfur-containing antioxidants in biological samples. However, most of the considered methods of analyzing drugs in biosamples are chromatographic. This is because HPLC allow to determine at once pharmaceuticals and its metabolites, and HPLC-MS enable to identify the structure of metabolites.

**Key words:** sulfur-containing antioxidants, quality control, pharmaceutical analysis.

**For citation:** Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A. Review of methods for pharmaceutical analysis of sulfur-containing antioxidants. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(5):15–21. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-05-02>

## REFERENCES

1. Tregubova I.A., Kosolapov V.A., Spasov A.A. Antioksidanty: sovremennoe sostojanie i perspektivy. *Uspehi fiziologicheskikh nauk.* 2012; 43(1):75–94.
2. Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Sgherri C. Lipoic acid: A unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *B: Plant Physiology and Biochemistry.* 2002; 40(6-8): 463–470.
3. Wielandt A.M., Vollrath V., Farias M., Chianale J. Bucillamine induces glutathione biosynthesis via activation of the transcription factor Nrf2. *Biochem Pharmacol.* 2006; 72(4): 455–462.
4. Zimetbaum P., Eder H., Frishman W. Probulcol: Pharmacology and clinical application. *Journal of Clinical Pharmacology.* 1990; 30: 3–9.
5. Zolotareva M.S., Tjukova V.S. Validacija metodiki kolichestvennogo opredelenija disulfirama v substancii na osnove kompleksa vkljuchenija gidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina s disulfiramom. *Sovremennaja nauka: issledovanija, tehnologii, proekty. Sbornik V mezhdunar. nauch.-praktich. konf. (Moskva, 8 nojabrja 2015 g.).* 2015; 251–258.
6. Kaul L., Süß R., Zannettino A., Richter K. The revival of dithiocarbamates – from pesticides to innovative medical treatment. *iScience.* 2021; 24(2): 102092.
7. Patent № 2426097 Rossijskaja Federacija, MPK G01N 21/78. Sposob kolichestvennogo opredelenija lekarstvennyh veshhestv v farmakopejnyh preparatah. V.P. Kalashnikov, A.I. Slivkin, L.Ju. Jakovlev; zajavitel' i patentoobladatel' GOU VPO «Voronezhskij gosudarstvennyj universitet». №2010106669/28; zajavl. 24.02.2010; opubl. 10.08.2011; bjul. № 22. 9 s.
8. Bunaciu A.A., Aboul-Enein H.Y., Fleschin Ş. Quantitative analysis of bucillamine and its pharmaceutical formulation using FT-IR spectroscopy. *Farmaco.* 2005; 60(8): 685–688.
9. Walash M.I., Metwally M.E.S., El-Brashy A.M., Abdelal A.A. Kinetic spectrophotometric determination of some sulfur containing compounds in pharmaceutical preparations and human serum. *Farmaco.* 2003; 58(12): 1325–1332.
10. Siangproh W., Rattanarat P., Chailapakul O. Reverse-phase liquid chromatographic determination of  $\alpha$ -lipoic acid in dietary supplements using a boron-doped diamond electrode. *J. Chromatogr. A.* 2010; 1217(49): 7699–7705.
11. Charoenkitamorn K., Chailapakul O., Siangproh W. Development of gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode for the analysis of thiram, disulfiram and their derivative in food using ultra-high performance liquid chromatography. *Talanta.* 2015; 132: 416–423.
12. Nourooz-Zadeh J., Gopaul N.K., Forster L.A., Ferns G.A., Ånggård E.E. Measurement of plasma probucol levels by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1994; 654(1): 55–60.
13. Lee K.C., Chun Y.G., Kim I., Shin B.S., Park E.S., Yoo S.D. Development and validation of a reversed-phase fluorescence HPLC method for determination of bucillamine in human plasma using pre-column derivatization with monobromobimane. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2009; 877(22): 2130–2134.
14. Haj-Yehia A.I., Assaf P., Nassar T., Katzhendler J. Determination of lipoic acid and dihydrolipoic acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Chromatogr. A.* 2000; 870(1–2): 381–388.
15. Khan A., Khan M.I., Iqbal Z., Ahmad L., Shah Y., Watson D.G. Determination of lipoic acid in human plasma by HPLC-ECD using liquid-liquid and solid-phase extraction: Method development, validation and optimization of experimental parameters. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2010; 878(28): 2782–2788.
16. Zhang L., Jiang Y., Jing G., Tang Y., Chen X., Yang D. A novel UPLC-ESI-MS/MS method for the quantitation of disulfiram, its role in stabilized plasma and its application. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2013; 937: 54–59.
17. Chen J., Jiang W., Cai J., Tao W., Gao X., Jiang X. Quantification of lipoic acid in plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 824(1–2):249–257.
18. Charoenkitamorn K., Chaiyo S., Chailapakul O., Siangproh W. Low-cost and disposable sensors for the simultaneous determination of coenzyme Q10 and  $\alpha$ -lipoic acid using manganese (IV) oxide-modified screen-printed graphene electrodes. *Anal. Chim. Acta.* 2018; 1004: 22–31.
19. Smarzewska S., Festinger N., Skowron M., Guziejewski D., Metelka R., Brycht M. Voltammetric analysis of disulfiram in pharmaceuticals with a cyclic renewable silver amalgam film electrode. *Turkish J. Chem.* 2017; 41(1): 116–124.
20. Marin M., Lete C., Manolescu B.N., Lupu S. Electrochemical determination of  $\alpha$ -lipoic acid in human serum at platinum electrode. *J. Electroanal. Chem.* 2014; 729: 128–34.