

УДК 547.566.3:615.844.6

## К ОБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКЕ УРОВНЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ДОКСИЦИКЛИНА И АРТИКАИНА В КЛИНИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Ларичев А. Б.<sup>2</sup>, Фомин А. Н.<sup>2</sup>, Хомов Ю. А.<sup>1</sup>, Кузьмин В. С.<sup>2</sup>, Джурко Ю. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь  
Пермь, Россия (614000, г. Пермь, ул. Полевая, 2), [homov@pfa.ru](mailto:homov@pfa.ru)

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Ярославская государственная медицинская академия, Ярославль  
Ярославль, Россия (150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5)

---

Показана возможность применения разработанных методик электрофорезо-спектрофотометрического определения доксициклина в моче в условиях клиники для мониторинга реальной экскреции препарата, что позволило подтвердить синергизм взаимодействия антибиотикотерапии с позитивным действием вакуум-терапии на течение локальных воспалительных реакций в комплексном лечении гнойной хирургической инфекции в мягких тканях.

Методики определения артикаина в биологических средах с использованием капиллярного электрофореза «Капель-105» применены в клинике для проведения лабораторных анализов крови и мочи при хирургических вмешательствах под местной (артикаиновой) анестезией. Проведено изучение скорости элиминации артикаина из крови у больных печёночной дисфункцией. Дана сравнительная оценка уровней концентрации артикаина в крови при различных способах введения анестетика. Изучено распределение артикаина в тканях ротовой полости при проведении местной инфильтрационной анестезии.

---

Ключевые слова: доксициклин, артикаин, биологические среды, электрофорез, мониторинг реальной экскреции.

## ADDITION TO AN OBJECTIVE ASSESSMENT OF THE LEVEL OF CONCENTRATION OF DOXYCYCLINE AND ARTICAINE IN CLINICAL OBJECTS BY ELECTROPHORESIS

Larichev A. B.<sup>2</sup>, Fomin A. N.<sup>2</sup>, Khomov Y. A.<sup>1</sup>, Kuzmin V. S.<sup>2</sup>, Dzhurko Y. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614081, Perm, Polevaya st. 2), [homov@pfa.ru](mailto:homov@pfa.ru)

<sup>2</sup> Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, Russia (150000, Yaroslavl, Revolyutsionnaya st. 5)

---

The possibility of usage of developed methods of electrophoretical and spectrophotometric determination of doxycycline in urine at the conditions of clinic is shown for monitoring of its real excretion. It allows to confirm the synergism of interaction of antibiotic therapy with positive action of vacuum therapy on a course of local inflammatory reaction in complex treatment of purulent surgical infection in soft tissues.

The methods of determination of articaïne in biological objects with the help of capillary electrophoresis “Kapel-105” are applied in clinic for laboratory analysis of blood and urine during surgical operation under local anesthesia with articaïne. The studying of the speed of elimination of articaïne from urine of patients with hepatic disturbances is carried out. The comparative assessment of the levels of concentrations of articaïne in blood at various ways of injection of anesthetic is given. The distribution of articaïne in tissues of oral cavity is studied during the local infiltration anesthesia.

---

Key words: doxycycline, articaïne, biological objects, electrophoresis, monitoring of real excretion.

Повышение активности используемого антибиотика непосредственно в очаге инфекции является одной из наиболее актуальных задач лечения хирургических инфекций и химиотерапии в целом. Безусловное влияние на концентрацию антибактериального препарата в тканях патологического очага оказывает величина объёма кровотока через эти ткани. Одним из методов, увеличивающих параметры локальной гемодинамики и стимулирующих ускорение репаративных процессов в ране, является метод вакуум-терапии

[2], поэтому представлялось интересным получить научное обоснование синергизма вакуум- и антибиотикотерапии.

В качестве основного фармакокинетического параметра нами было выбрано значение концентрации препарата в моче, как величина, характеризующая почечный клиренс и скорость элиминации вещества. В исследовании принимали участие 130 пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей, без нарушений функции мочевыводящей системы, желудочно-кишечного тракта и печени. В основную группу вошло 26 пациентов, лечившихся с применением вакуум-терапии, которая проводилась по разработанной схеме (от трёх до пяти сеансов длительностью 1 ч, с интервалом в сутки). 104 человека составили контрольную группу с применением традиционных мероприятий. В обеих группах доксициклин назначался перорально в капсулах по 0,1 г 2 раза в сутки. Длительность курса составляла 7–9 дней. Забор мочи осуществлялся на вторые, пятые и седьмые сутки через три часа после утреннего приёма препарата.

Концентрацию доксициклина определяли электрофорезо-спектрофотометрическим методом по разработанной методике после изолирования его жидкостно-жидкостной экстракцией [3, 5].

Результаты исследований представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Изменения концентрации доксициклина в моче в основной и контрольной группах

№ п/п	Группа	Концентрация доксициклина, мкг/мл		
		2-й день	5-й день	7-й день
1	Основная	114,0±3,5	96,0±4,1	126,0±2,9
2	Контрольная	106,0±3,7	132,5±2,8	146,7±3,1

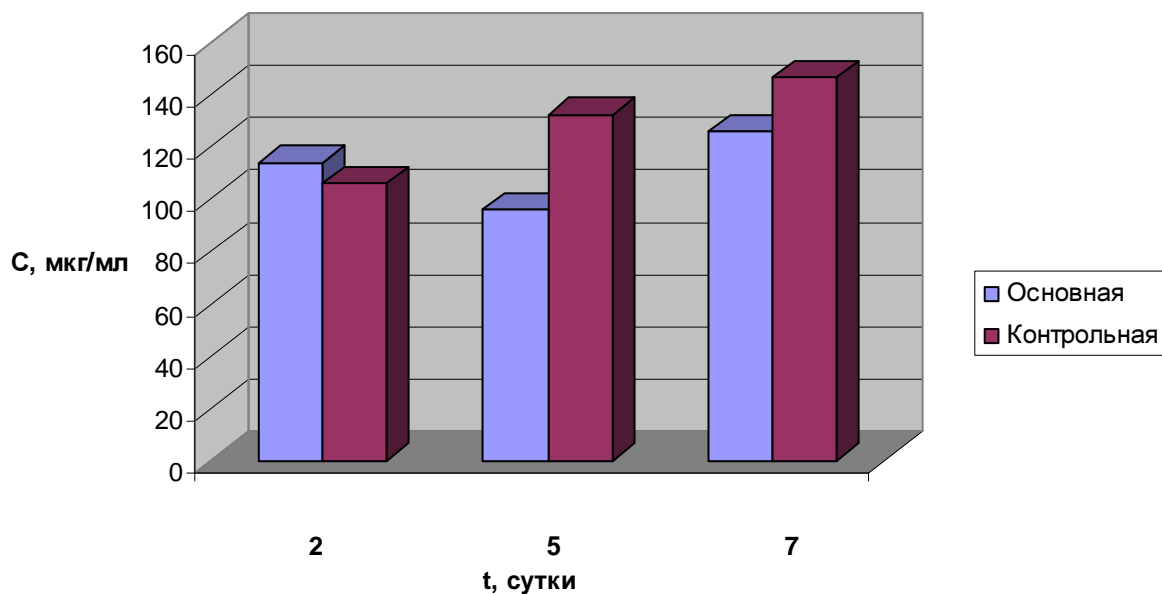


Рисунок 1. Динамика изменения концентрации доксициклина в моче

Таким образом, установлено, что при применении вакуум-терапии, скорость экскреции доксициклина с мочой ниже, чем при традиционном лечении гнойной хирургической инфекции, и её изменения носят волнообразный характер, что, возможно, объясняется повышенным привлечением препарата в ткани очага воспаления, вследствие локального увеличения уровня микроциркуляции и более быстрого роста грануляций.

В свою очередь, клинические данные свидетельствуют, что сочетанное применение вакуум-терапии и доксициклина в лечении острой гнойной хирургической инфекции оказывает выраженное позитивное влияние, наблюдаемое в быстрой ликвидации признаков интоксикации и в оптимизации местных регенеративных реакций.

Таким образом, разработанную электрофорезо-спектрофотометрическую методику определения содержания доксициклина предлагается использовать в качестве объективного критерия, косвенно позволяющего подтвердить синергизм взаимодействия антибиотикотерапии и других средств антисептики, в том числе позитивное действие вакуум-терапии на течение локальных воспалительных реакций в комплексном лечении гнойной хирургической инфекции мягких тканей.

Амидные анестетики, к которым относится и артикаин, метаболизируются более длинным путём, по сравнению со сложноэфирными анестезирующими средствами. Относительно небольшая их часть подвергается биотрансформации в плазме крови. Чрезвычайно важным является то, что больные с заболеваниями печени более чувствительны к повышенным концентрациям амидных анестетиков, что может привести к тяжёлой интоксикации организма [4].

Следует также отметить, что местные анестетики занимают одно из первых мест по частоте развития аллергических реакций. В связи с этим исключительную важность приобретают аналитические критерии на основе лабораторного исследования уровня концентрации анестетика в биологических средах организма с целью оптимизации анестезирующего эффекта.

Разработанные нами методы определения артикаина в биологических объектах с использованием капиллярного электрофореза («Капель-105») были применены в клинике [1, б] при проведении лабораторных анализов биологических жидкостей – мочи и крови, взятых от оперируемых больных под местной (артикаиновой) анестезией; а также – в стоматологической практике при определении артикаина в тканях операционного поля.

Было проведено изучение скорости элиминации артикаина из крови у больных печёночной дисфункцией (механическая желтуха) – уровень билирубина в крови от 200 до 300 мкМ/л. В контрольную группу вошли пациенты с нормальными показателями состояния печени (8–25 мкМ/л).

Исследование проводилось на пациентах, которым была сделана подкожная анестезия (2 мл 4 % раствора ультракаина, т. е. 80 мг артикаина гидрохлорида при введении катетера для внутривенных инфузий в подключичную вену. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Элиминация артикаина из крови пациентов с механической желтухой  
(n=5; p<0,0001, α=0,05)

Кровь	0,5 часа (нг/мл)		1 час (нг/мл)		2 часа (нг/мл)	
	Норма	224,6±9,963	S=22,28 V=9,92%	112,6±9,212	S=20,60 V=18,29	25,2±1,855
Желтуха	227,6±6,185	S=13,83 V=6,08%	188,4±8,801	S=19,68 V=10,45%	126,0±4,889	S=10,93 V=8,67%
t <sub>st</sub>	+1,34%*	0,256*	+67,32%	5,949	+400%	19,281

Примечание: \*-статистически недостоверное измерение

Была проведена сравнительная оценка уровней концентрации артикаина в крови при различных способах введения анестетика.

Полученные данные, представленные в таблице 3, характеризуют динамику выведения исследуемого препарата при внутримышечном и подкожном способах введения.

Таблица 3

Элиминация артикаина из крови при внутримышечном и подкожном способах введения (n=5, p<0,0001, α=0,05)

Кровь	0,5 часа (нг/мл)		1 час (нг/мл)		2 часа (нг/мл)	
п/к	224,6±9,963	S=22,28 V=9,92%	112,6±9,212	S=20,60 V=18,29	25,2±1,855	S=4,147 V=16,46%
в/м	510,2±27,69	S=61,92 V=12,14%	291,6±26,08	S=58,31 V=19,99%	141,0±13,1	S=29,28 V=20,76%
t <sub>s</sub> t	+127,16%	9,705	+158,97%	6,472	+459,52%	8,756

Таким образом, можно сделать вывод, что функциональное состояние печени оказывает существенное влияние на метаболизм артикаина, а применение ряда последовательных местных анестезий, необходимое при некоторых видах хирургических вмешательств, у пациентов с острой дисфункцией печени требует коррекции дозировки препарата. Кроме того, установлено, что концентрация анестетика в системном кровотоке при внутримышечном способе введения выше, чем при подкожном, а кривая элиминации имеет несколько иной характер, что необходимо учитывать при индивидуальном подборе дозы препарата.

Во всех случаях, при анализе мочи был обнаружен артикаин в диапазоне концентраций от 300 до 500 нг/мл, что подтверждает возможность использования данного объекта с целью установления факта приёма исследуемого препарата.

Нами было проведено изучение распределения артикаина в тканях ротовой полости при проведении местной инфильтрационной анестезии. В исследовании участвовали пациенты с двумя типами диагнозов: «хронический одонтогенный гайморит» и «киста челюсти», от которых забирался операционный материал (фрагменты десны, гайморовой пазухи и кисты весом от 0,01 до 0,1 г), через 10 мин после инфильтрационной анестезии 2 мл 4 % раствора ультракаина (80 мг артикаина гидрохлорида).

Образцы тканей подвергались анализу методом капиллярного электрофореза («Капель-105») по разработанной методике, с поправкой на вес объектов. Результаты исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Распределение артикаина в тканях операционного поля (n=5)

Тип ткани	Содержание артикаина (мкг/г ткани)	Метрологические характеристики
Десна	30,58±1,362	S=3,045 CV=9,96%

Гайморова пазуха	13,39±0,776	S=1,735 CV=12,96%
Киста	3,637±0,186	S=0,416 CV=11,43

Электрофореграммы клинических объектов (моча, кровь, ткани) представлены на рисунках 2-4.

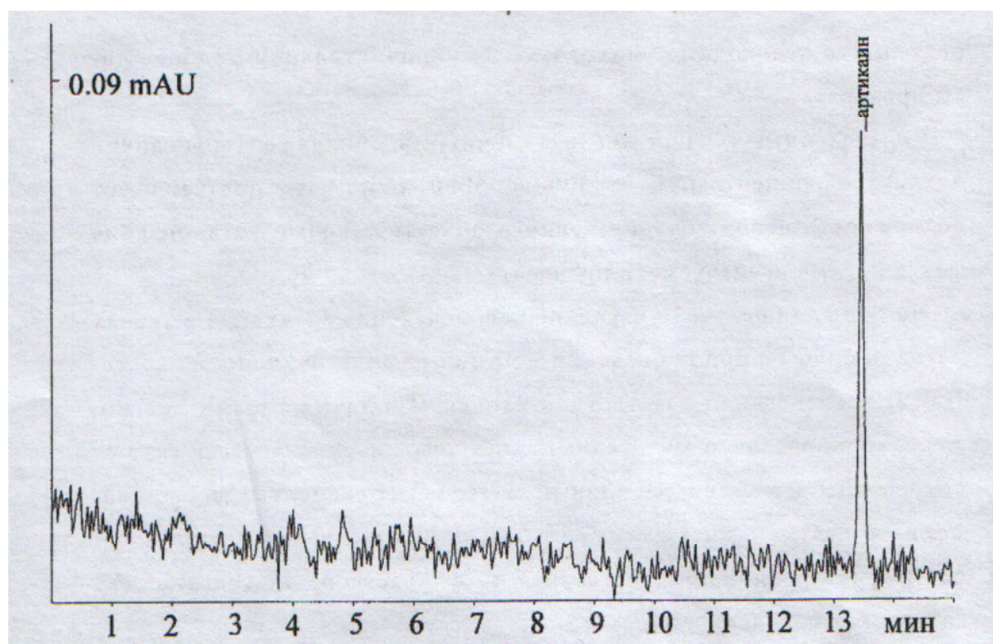


Рисунок 2. Электрофореграмма артикаина (клинический объект – кровь)

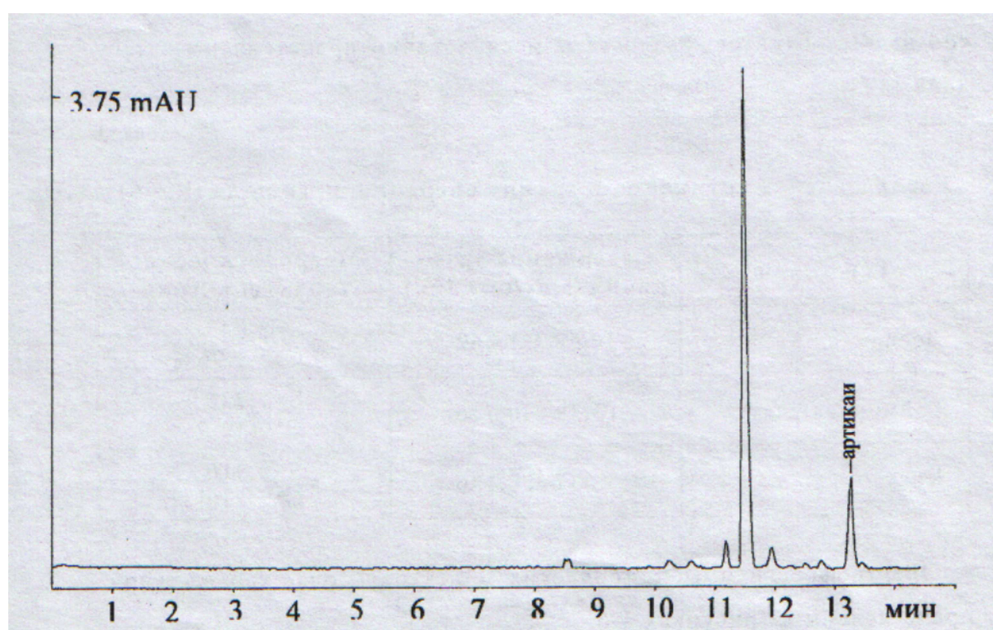


Рисунок 3. Электрофореграмма артикаина (клинический объект – моча)



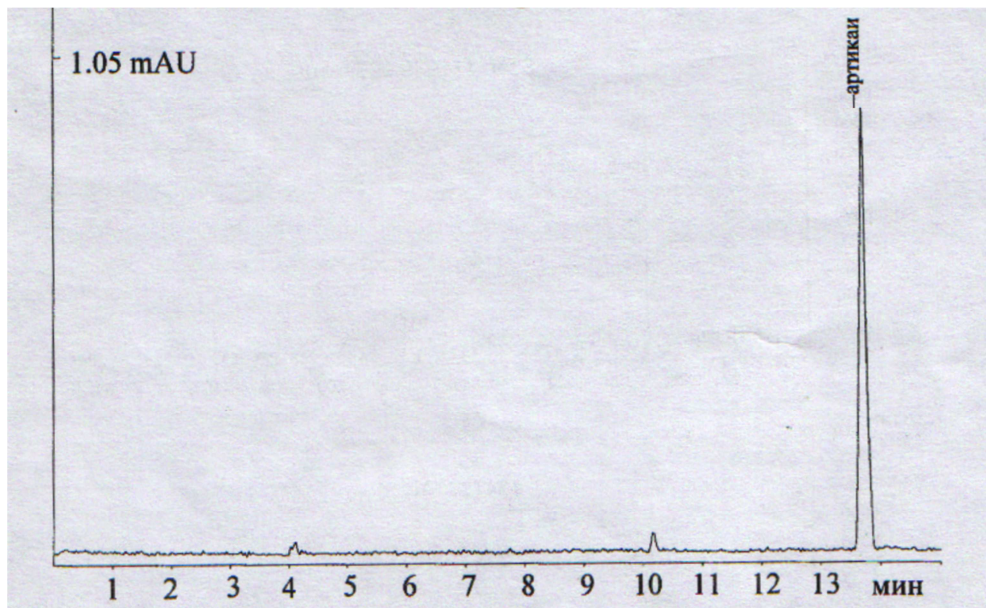


Рисунок 4. Электрофореграмма артикаина (клинический объект – десна)

Для подтверждения объективности разработанных методик определения артикаина методом капиллярного электрофореза в клинических объектах (моча, кровь, ткани) был проведен хроматомасс-спектральный анализ. В результате испытаний было установлено, что предел обнаружения артикаина, с идентификацией по полному масс-спектру (библиотека: NIST 98) на уровне достоверности не менее 72 %, составляет 50 нг/мл, по характерным ионам  $m/z$  86, 171, 44 - 10 нг/мл.

#### Выводы

1. Подтверждена применимость разработанных методик электрофорезо-спектрофотометрического определения доксициклина в моче в условиях клиники для мониторинга реальной экскреции препарата и изучено влияние на этот показатель применения вакуум-терапии.
2. Электрофоретические методики («Капель-105») идентификации и количественного определения артикаина в моче, крови, тканях применены в условиях клиники с целью объективного контроля уровня анестетика в биосредах организма при хирургическом вмешательстве под местной анестезией.
3. Изучено влияние функционального состояния печени на элиминацию артикаина из крови и зависимость концентрации препарата от способа его введения.

#### Список литературы

1. Аналитическая верификация анестетиков у больных сахарным диабетом, оперированных по поводу хирургической инфекции / А. Н.Фомин [и др.] // Морфологические ведомости.

– 2005. – №1–2. – С. 245.

2. Давыдов Ю. А., Ларичев А. Б. Вакуум-терапия ран и раневой процесс. – М.: Медицина, 1999. – 160 с.
3. Идентификация ряда азотсодержащих соединений основного характера в присутствии соэкстрактивных веществ мочи и крови методом капиллярного электрофореза / А. Н.Фомин [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2010. – №9. – С. 46-48.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства: 16-е изд. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.
5. Фомин А. Н. Валидационная оценка методики определения доксициклина в моче спектрофотометрическим методом после электрофоретического выделения / А. Н.Фомин, Ю. А. Хомов // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – №3. – [URL:www.science-education.ru/103-6159](http://www.science-education.ru/103-6159) (дата обращения 18.05.2012).
6. Фомин А. Н. Идентификация артикаина и бупивакаина методом капиллярного электрофореза / А. Н. Фомин, А. В. Шпак, А. В. Смирнова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2010. – №7. – С. 68 – 72.

**Рецензенты:**

Михалев А. И., д. фарм. н., профессор, зав. кафедрой биологической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития, г. Пермь.

Гейн В. Л., д. хим. н., профессор, зав. кафедрой физической и коллоидной химии, ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития, г. Пермь.