

В. Ю. Белов<sup>1</sup>, С. В. Курсаков<sup>1</sup>, В. И. Севастьянов<sup>1, 2</sup>, Е. Н. Антонов<sup>3</sup>,  
С. Э. Богородский<sup>3</sup>, В. К. Попов<sup>3</sup>

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ОСНОВНОГО МЕТАБОЛИТА МЕТОДОМ ВЭЖХ С УФ-ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

<sup>1</sup> АНО "Институт медико-биологических исследований и технологий", Россия, Москва

<sup>2</sup> ФГБУ "ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В. И. Шумакова" Минздрава РФ, Россия, Москва

<sup>3</sup> ФГБУН Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, Москва;  
e-mail: popov@laser.ru

Разработана методика определения ацетилсалициловой кислоты и ее основного метаболита — салициловой кислоты в модельном растворе и плазме крови кроликов методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. Пробоподготовку плазмы проводили методом высаливания. Хроматографический анализ осуществляли в изократическом режиме на колонке Hypersil BDS C18 с подвижной фазой ацетонитрил — вода (рН 2,5, 30:70) при длине волны 230 нм. Предел количественного определения ацетилсалициловой и салициловой кислот в модельном растворе составил 0,05 мкг/мл, в плазме крови — 0,2 мкг/мл. Разработанная методика применена для изучения новых форм ацетилсалициловой кислоты на основе биосовместимых полимерных носителей, в том числе для изучения фармакокинетики после внутримышечной имплантации.

**Ключевые слова:** ацетилсалициловая кислота; салициловая кислота; ВЭЖХ; плазма крови; высаливание; биосовместимый полимерный носитель; фармакокинетика.

Ацетилсалициловая кислота (АСК) — лекарственное средство, обладающее противовоспалительным, жаропонижающим и анальгетическим действием [1]. Способность АСК оказывать антиагрегационное действие, ингибировать спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов [2] предопределило её широкое использование для профилактики процесса тромбообразования у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, острым коронарным синдромом и ишемическим инсультом [3, 4]. Однако пероральное введение АСК вызывает местное раздражение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и при длительном приеме может привести к развитию язвы желудка и двенадцатиперстной кишки [5].

В связи с этим в последнее время большое внимание уделяется совершенствованию уже существующих препаратов на основе АСК, а также созданию ее новых лекарственных форм пролонгированного действия [6]. К таким лекарственным средствам можно отнести трансдермальные терапевтические системы [7], а также инъекционные формы, представляющие собой лекарственные субстанции (ЛС), инкапсулированные в биосовместимые полимерные носители [8].

К числу наиболее перспективных способов такой инкапсуляции ЛС относятся технологии, основанные на применении сверхкритического диоксида углерода (ск-СО<sub>2</sub>) в качестве экологически чистого растворителя ЛС, легко пластифицирующего аморфные и частично-кристаллические полимеры [8, 9]. Это позволяет избежать необходимости использования токсичных органических растворителей (ацетона, хлороформа и др.) и высоких (более 100 °С) температур для формирования полимерных микрочастиц различной дисперсности [10]. Кроме того, ск-СО<sub>2</sub> может достаточно эффективно удалять растворимые в нем токсичные

примеси (непрореагировавшие мономеры и низкомолекулярные олигомеры, инициаторы полимеризации, пластификаторы и т.д.), что также способствует повышению биологической безопасности получаемых лекарственных форм [11].

Разработка и изучение новых препаратов и их лекарственных форм предполагает надежный мониторинг концентрации лекарственного средства и его метаболитов в модельных средах и биологических объектах.

На данный момент не существует унифицированного метода количественного определения АСК и ее основного метаболита — салициловой кислоты (СК) в различных объектах. Основными проблемами при подготовке проб и определении АСК и продуктов ее метаболизма является нестабильность АСК, низкая молекулярная масса и высокая полярность определяемых веществ. Для предотвращения гидролиза АСК в образцы добавляют неспецифические ингибиторы холинэстеразы, например, фторид калия [12], снижают рН и температуру проб [13, 14].

Для подготовки проб образцов, содержащих АСК, используют методы осаждения белков [13, 14], жидкостной [15, 16] и твердофазной экстракции [17], а также сочетание этих методов. Методы количественного определения АСК и СК сводятся в большинстве случаев к ВЭЖХ-детектированию в УФ-области спектра [14, 15]. Однако их отличает недостаточная селективность и низкая степень извлечения определяемых веществ. Существующие методы ВЭЖХ-масс-спектрометрического определения АСК и СК [12, 18, 19] не получили широкого распространения ввиду сложности и дороговизны оборудования, особых требований к чистоте анализа и т.д. Выбор того или иного метода анализа зачастую является компромиссом между ско-

ростью и простотой пробоподготовки и требуемой селективностью и чувствительностью определения.

Настоящая работа посвящена разработке методики количественного определения указанных кислот в модельном растворе и плазме крови методом ВЭЖХ, а также в проверке селективности методики при изучении кинетики высвобождения АСК и СК *in vitro* и *in vivo* из биосовместимых полиэфирных носителей.

### Экспериментальная часть

В работе использовали субстанции следующих веществ: ацетилсалициловая кислота (“Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко. Лтд”, Китай); салициловая кислота (“Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко. Лтд”, Китай).

Для подготовки и анализа проб применяли ацетонитрил (для ВЭЖХ), фосфорную кислоту (х.ч.), соляную кислоту (х.ч.), натрия сульфат (х.ч.), натрия хлорид (х.ч.), воду (для хроматографии).

Исходные стандартные растворы АСК и СК готовили растворением навесок субстанций в воде (рН 2,5, регулировали добавлением концентрированной  $H_3PO_4$ ); рабочие стандартные растворы получали разведением исходных стандартных растворов водой (рН 2,5).

Модельный раствор готовили путем растворения натрия хлорида в воде до получения концентрации 0,9 масс. %. Модельный и стандартные растворы хранили в фармацевтическом холодильнике Pozis XF-400 (Россия) при температуре от 2 до 8 °С.

Образцы плазмы крови кроликов хранили в биомедицинском морозильнике Sanyo MDF-U5412 (Япония) при температуре от – 34 до – 38 °С. Перед подготовкой образцы размораживали при комнатной температуре.

Исследование кинетики высвобождения АСК и СК из биосовместимых полимерных носителей в модельный раствор и плазму крови проводили на образцах в виде мелкодисперсных (характерный размер частиц

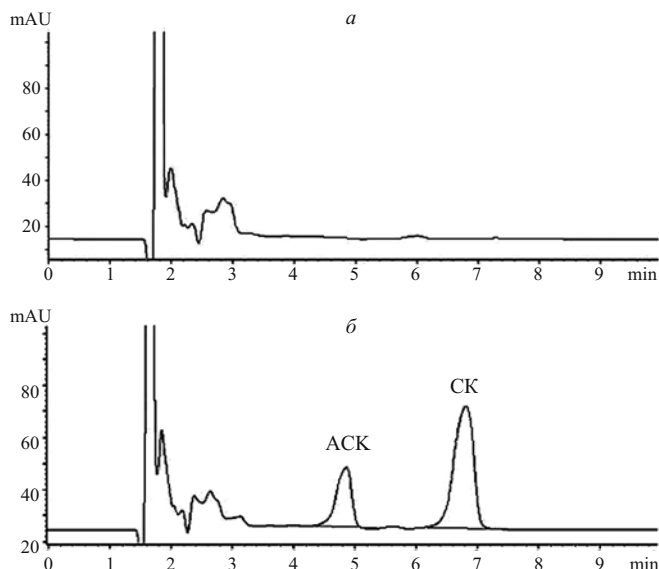


Рис. 1. Хроматограммы чистой плазмы (а) и плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК (20 мкг/мл) (б).

20 – 50 мкм) порошков на основе D, L-полилактида марки PURASORB PDL02 и полилактогликолида марки PURASORB PDLG02 (приведенная вязкость 0,2 дл/г (в системе СГС) производства “PURAC Biochem bv” (Нидерланды), содержащих 10 масс. % АСК и полученных методом PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions [9]). Метод PGSS основан на явлении пластификации (снижения вязкости) полимеров в результате их взаимодействия с  $sc-CO_2$  [10]. Использовали диоксид углерода (о.с.ч., ГОСТ 8050–85) производства Балашихинского кислородного завода (Балашиха, Московская обл.) без какой-либо дополнительной очистки.

Количественное определение проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (США) с УФ-детектором, автосамплером и термостатом колонок. Обработку данных осуществляли при помощи программно-

Таблица 1

### Исследованные способы подготовки проб плазмы крови, содержащих АСК и СК

Метод пробоподготовки	Описание метода	Преимущества и недостатки метода
Осаждение белков	Осаждение белков ацетонитрилом, органическими кислотами, солями натрия, магния, свинца. Варьирование объема и природы осадителя.	Простота и скорость подготовки. Загрязнение анализа эндогенными веществами; недостаточная селективность извлечения АСК и СК.
Вымораживание	Обработка образцов ацетонитрилом с последующим вымораживанием водного слоя.	Простота подготовки. Загрязнение анализа эндогенными веществами; низкие селективность и степень извлечения АСК и СК.
Высаливание	Обработка образцов ацетонитрилом, насыщение раствора неорганической солью. Варьирование количества и природы высаливающего агента.	Простота и скорость подготовки.
Жидкость-жидкостная экстракция	Экстракция определяемых веществ органическими растворителями с последующим концентрированием анализа. Варьирование объема, природы и полярности экстрагентов.	Возможность концентрирования анализа. Большие затраты времени и реактивов; недостаточная селективность метода.
Твердофазная экстракция	Выделение определяемых веществ из плазмы крови в обращенно-фазовом, нормально-фазовом и ионнообменном режимах с использованием картриджей Chromabond $C_{18}$ Hydra, HILIC, CN, SiOH, XTR (Macherey-Nagel, Германия). Варьирование состава и объема растворов на стадиях кондиционирования, промывки и элюирования.	Чистота получаемого анализа. Высокая стоимость расходных материалов; недостаточная степень извлечения АСК и СК.

го обеспечения Chem Station (США). Для пробоподготовки применяли мультитортекс V32 (Латвия), лабораторную центрифугу MPW-250 (Польша), встряхиватель ЛАБ-ПУ-01 (Россия), лабораторные аналитические весы Vibra-AF-R220CE (Япония), дозаторы переменного объема 0,5 – 10, 5 – 50, 20 – 200 и 100 – 1000 мкл (Россия).

В качестве экспериментальных животных использовали кроликов породы “Советская шиншилла” массой тела около 2500 г. Животные получены из питомника ФГУП ОПХ “Манихино”. Количество животных было достаточно для формирования репрезентативных экспериментальных групп и последующей статистической обработки полученных результатов. Также предусмотрена возможность замены и исключения животных из эксперимента в результате форс-мажорных обстоятельств.

Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986).

**Пробоподготовка.** Плазму крови объемом 500 мкл вносили в микроцентрифужную пробирку вместимостью 2 мл, прибавляли 500 мкл ацетонитрила и 500 мг безводного сульфата натрия. Смесь перемешивали на мультитортексе в течение 2 мин и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин. 400 мкл надосадочной жидкости переносили в пробирку для ВЭЖХ. Модельный раствор перед хроматографированием фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

**Хроматографирование.** Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме на колонке Hypersil BDS C18 150 × 3,0 мм, 5 мкм (США) с предколонкой размером 8 × 4 мм, заполненной тем же сорбентом. Подвижная фаза — ацетонитрил : вода (рН 2,5, регулировали добавлением концентрированной H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (30:70). Подвижную фазу предварительно фильтровали и дегазировали на устройстве для фильт-

рования под вакуумом. Скорость потока подвижной фазы — 1 мл/мин. Температура термостата колонки — 25 °С. Детектирование проводили при длине волны 230 нм. Объем вводимой пробы — 20 мкл. Время удерживания АСК — около 4,8 мин, время удерживания СК — около 6,8 мин, продолжительность хроматографирования — 12 мин.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в программе Microsoft Excel.

### Результаты и их обсуждение

Для определения оптимального способа подготовки образцов плазмы крови, содержащих АСК и СК, изучены различные техники пробоподготовки. Полученные результаты представлены в табл. 1.

По совокупности полученных данных сделан выбор в пользу метода высаливания, показавшего оптимальные результаты в селективности, простоте, скорости и стоимости подготовки образцов плазмы. Степень извлечения АСК и СК из плазмы крови составила 95,8 и 98,1 % соответственно.

Изучены обращенно-фазовый, ион-парный и нормально-фазовый режимы хроматографирования проб, содержащих АСК и СК. Сравнение эффективности определения в разных режимах хроматографирования проводилось на колонках с одинаковыми геометрическими параметрами и размерами частиц сорбента.

Проведенные эксперименты позволили установить, что наиболее подходящим режимом хроматографирования АСК и СК является обращенно-фазовый режим на колонке Hypersil BDS C<sub>18</sub>, условия которого приведены выше. На рис. 1 представлены хроматограммы чистой плазмы и плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК.

Основные параметры хроматографического анализа на колонке Hypersil BDS C<sub>18</sub>, характеризующие эффективность и селективность разделения в выбранных условиях, рассчитаны из хроматограмм плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК и представлены в табл. 2.

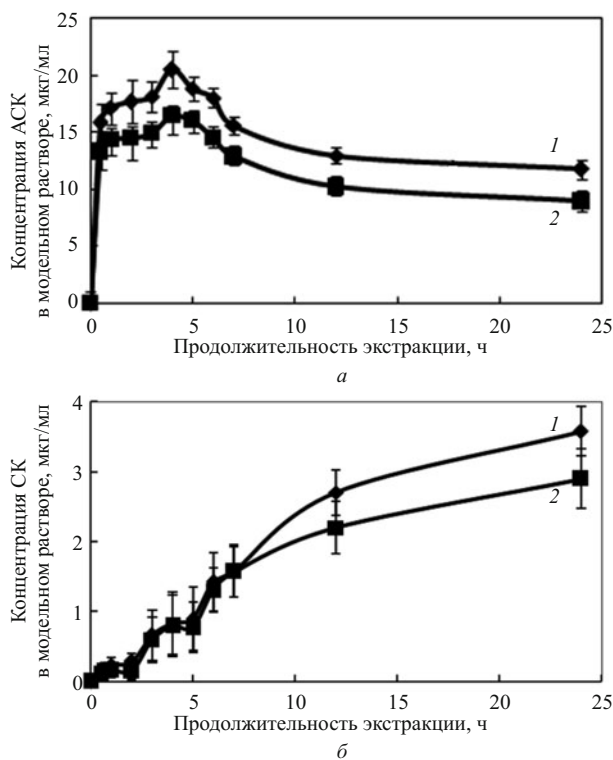
При подборе условий хроматографического разделения основное внимание обращается на селективность хроматографической системы, которая является суммарной характеристикой физико-химических взаимодействий в системе и служит ключевым фактором, влияющим на разрешение [20]. Значение коэффициента разделения предлагаемой хроматографической системы достаточно для полного разделения пиков АСК и СК. Величина разрешения и полученные хроматограммы подтверждают полное разделение пиков АСК и СК до базовой линии.

Разработанная методика применена для изучения новых форм АСК на основе биосовместимых полимерных носителей. Количественное определение АСК и СК в модельном растворе и плазме крови проводили методом абсолютной градуировки по графикам, устанавливающим зависимость между концентрацией и площадью пиков определяемых веществ.

Таблица 2

**Основные параметры хроматографического анализа плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК (C = 20 мкг/мл, n = 6, p = 0,95)**

Параметр	Найденное значение	
	АСК	СК
Время удерживания, мин	4,83	6,78
Коэффициент емкости	2,0	3,2
Ширина пика на половине высоты, мин	0,29	0,36
Число теоретических тарелок, рассчитанное по ширине половины пика	1539	1966
Высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), мкм	97,5	76,3
Коэффициент асимметрии пика	1,7	1,6
Коэффициент разделения (селективность)		1,6
Разрешение		2,3



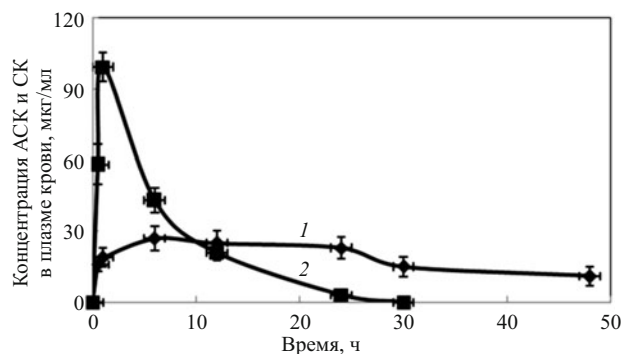
**Рис. 2.** Кинетика высвобождения АСК (а) и образования СК (б) из аморфного D,L-полилактида PURASORB PDL02 (1) и аморфного полилактидогликолида PURASORB PDLG02 (2), содержащих 10 масс. % АСК ( $n = 3$ ).

Градуировочные зависимости АСК и СК строили в области концентраций 0,05 – 5 мкг/мл для модельного раствора и 0,2 – 10 мкг/мл для плазмы крови. Полученные в этих диапазонах концентраций зависимости имеют линейный характер.

Предел количественного определения (ПКО) АСК и СК определяли на основании данных линейности градуировочной зависимости как минимальную концентрацию, для которой величина относительного стандартного отклонения не превышает 20 % [21, 22]. ПКО АСК и СК в модельном растворе составил 0,05 мкг/мл, в плазме крови — 0,2 мкг/мл.

Относительную погрешность и относительное стандартное отклонение определения АСК и СК, характеризующие соответственно точность и воспроизводимость методики, определяли на 2 уровнях — inter-day (в течение 1 рабочего дня) и intra-day (в течение нескольких рабочих дней) [21, 22]. Для этого проводили анализ 4 образцов плазмы, к каждому из которых предварительно прибавляли стандартные растворы АСК и СК до получения концентраций: 0,2, 0,6, 5 и 7,5 мкг/мл.

Полученные величины относительного стандартного отклонения и относительной погрешности соответствовали нормам [21, 22]: не более 20 % для минимальной концентрации, не более 15 % для остальных концентраций.



**Рис. 3.** Усредненные фармакокинетические кривые АСК (1) и СК (2) после однократной внутримышечной имплантации кроликам АСК в аморфном полилактидогликолиде PURASORB PDLG02 в дозе 10 мг/кг ( $n = 3$ ).

### Кинетика высвобождения АСК из биосовместимых полимерных носителей в модельный раствор

На модельном растворе изучена кинетика высвобождения АСК из биосовместимых полимерных частиц с целью выбора оптимального носителя действующего вещества.

Для устранения мешающего влияния АСК, адсорбированной на поверхности частиц носителя, 100 мг полимера, содержащего 10 масс. % инкапсулированной АСК, помещали в 100 мл модельного раствора и встряхивали в течение 5 мин. Затем раствор отстаивали 10 мин, повторно встряхивали в течение 5 мин и фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Промытые частицы препарата вместе с фильтром помещали в емкость с 400 мл модельного раствора, термостатированную при 37 °С. Через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 24 ч отбирали пробы объемом 0,5 мл, которые фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм и хроматографировали.

Результаты изучения кинетики высвобождения АСК из D,L-полилактида PURASORB PDL02 и полилактидогликолида PURASORB PDLG02 представлены на рис. 2.

Высвобождение АСК из частиц полилактида и полилактидогликолида протекает по одному механизму. В течение 4 ч после начала экстракции происходит активное выделение АСК из полимерных микрочастиц, причем наибольшее увеличение концентрации АСК происходит в первые 30 мин. Через 4 ч после начала экстракции начинается постепенное снижение концентрации АСК в модельном растворе, что объясняется гидролизом АСК с образованием СК (рис. 2, б).

Количество АСК, высвободившегося из D,L-полилактида PURASORB PDL02 в течение первых 4 ч, примерно на 25 % превышает массу АСК, выделившегося из полилактидогликолида PURASORB PDLG02, что может служить обоснованием выбора полилактидогликолида PDLG02 в качестве носителя для создания пролонгированной формы АСК. В связи с этим фармакокинетические исследования проведены только для

АСК, инкапсулированной в микрочастицы из полилактоглюколида.

### Фармакокинетика АСК, инкапсулированной в биосовместимый полимерный носитель

Анализ кинетики высвобождения АСК из порошка полилактоглюколида PURASORB PDLG02 в кровь проводили методом ВЭЖХ по следующему алгоритму.

Случайным образом сформирована группа экспериментальных животных в количестве 3 особей. В группу отбирали кроликов без признаков отклонений внешнего вида так, чтобы индивидуальное значение массы тела каждого животного не отличалось от среднего более чем на 10 %.

Аморфный полилактоглюколид PURASORB PDLG02, содержащий 10 масс. % АСК, имплантировали в бедренную мышцу кроликов в дозе 10 мг АСК/кг. Образцы крови отбирали до имплантации препарата, а также через 0,5, 1, 6, 12, 24, 30, 48 ч после имплантации. Объем отбираемых образцов крови достаточен для получения 0,5 мл плазмы. В полученных образцах плазмы определяли содержание АСК и СК.

Результаты изучения фармакокинетики АСК представлены на рис. 3.

Концентрация АСК в плазме крови возрастает в течение первых 6 ч, сохраняется на одном уровне до 24 ч и плавно снижается до незначительных значений. Содержание СК в плазме достигает максимума через 1 ч после введения АСК в мышцу, после чего уменьшается в течение 24 ч до следовых количеств.

Полученные результаты свидетельствуют о постепенном высвобождении АСК в течение 24 ч после внутримышечной имплантации АСК, инкапсулированной в биосовместимый полимерный носитель.

Таким образом, разработана методика количественного определения АСК и СК в модельном растворе и плазме крови методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. Аналитический диапазон методики без учета разбавления составил 0,05 – 5 мкг/мл для модельного раствора и 0,2 – 10 мкг/мл для плазмы крови; степень извлечения АСК и СК из плазмы крови — 95,8 и 98,1 % соответственно. Показана пригодность разработанной методики при разработке новых лекарственных форм АСК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 13-02-12215).

### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Москва (2012), с. 170.
2. Т. А. Broome, М. Р. Brown, R. R. Gronwall, et al., *Can J. Vet. Res.*, **67**(4), 297 – 302 (2003).
3. В. И. Скворцова, И. Е. Чазова, Л. В. Стаховская, *Вторичная профилактика инсульта*, Москва (2006), с. 118.
4. И. Н. Бокарев, В. М. Щепотин, Я. М. Ена, *Внутрисосудистое свертывание крови*, Киев (1989), с. 240.
5. Редакционная статья, *Клин. фармакол. и тер.*, № 11, 11 – 14 (2002).
6. Е. К. Алехин, *Соровский образовательный ж.*, № 10, 3 – 5 (1999).
7. О. С. Полухина, Ю. Б. Басок, Л. А. Саломатина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, № 3, 29 – 32 (2009).
8. *Биосовместимые материалы*, Севастьянов В. И. и Кирпичников М. П. (ред.), МИА, Москва (2011).
9. Е. Н. Антонов, С. Э. Богородский, Б. М. Фельдман и др., *Сверхкритические флюиды: теория и практика*, № 3, 34 – 42 (2008).
10. H. Tai, V. K. Popov, K. M. Shakesheff, S. M. Howdle, *Biochem. Soc. Transactions*, **35**, 516 – 521 (2007).
11. А. И. Воложин, А. Г. Караков, Ю. П. Суханов и др., *Стоматология*, **77**(4), 4 – 8 (1998).
12. X. Xu, L. Koetzner, J. Boulet, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **23**(9), 973 – 979 (2009).
13. J. H. Liu and P. C. Smith, *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, **675**(1), 61 – 70 (1996).
14. F. Kees, D. Jehnich, and H. Grobecker, *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, **677**(1), 172 – 177 (1996).
15. F. Gaspari M. Locatelli, *Ther. Drug. Monit.*, **9**(2), 243 – 247 (1987).
16. D. C. Mays, D. E. Sharp, C. A. Beach, et al., *J. Chromatogr.*, **311**(2), 301 – 309 (1984).
17. G. P. McMahon and M. T. Kelly, *Anal. Chem.*, **70**(2), 409 – 414 (1998).
18. R. Nirogi, V. Kandikere, K. Mudigonda, et al., *Arzneimittelforschung*, **61**(5), 301 – 311 (2011).
19. S. K. Bae, K. A. Seo, E. J. Jung, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **22**(6), 590 – 595 (2008).
20. К. С. Сычев, *Практический курс жидкостной хроматографии*, Казань (2013), с. 21.
21. *Bioanalytical method validation*, Washington (2013).
22. *Guideline on bioanalytical method validation*, London (2011).

Поступила 28.12.15

### DEVELOPMENT OF HPLC-UV METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACETYLSALICYLIC ACID AND ITS MAIN METABOLITE

V. Yu. Belov<sup>1</sup>, S. V. Kursakov<sup>1</sup>, V. I. Sevast'yanov<sup>1,2</sup>, E. N. Antonov<sup>3</sup>, S. E. Bogorodskii<sup>3</sup>, and V. K. Popov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, 123557 Russia

<sup>2</sup> V. I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 123182 Russia

<sup>3</sup> Institute of Laser and Information Technologies, Russian Academy of Sciences, Shatura, Moscow oblast, 140700 Russia

\* e-mail: popov@laser.ru

A method for determination of acetylsalicylic acid and its main metabolite in a model solution and the blood plasma of rabbits by HPLC with UV detection was developed. The samples of plasma were prepared by a salting out procedure. The chromatographic analysis is performed in isocratic mode on Hypersil BDS C18 column using a mobile phase of acetonitrile – water (30 : 70 v/v) pH 2.5 with UV detection at a wavelength of 230 nm. The limit of quantitative determination of acetylsalicylic and salicylic acids is 0.05 mg/mL in model solution, and 0.2 mg/mL in the blood plasma. The proposed method was used for the development of new preparations of acetylsalicylic acid with biocompatible polymeric carriers and for studying their pharmacokinetics after intramuscular introduction.

**Keywords:** acetylsalicylic acid; salicylic acid; HPLC; blood plasma; salting out; biocompatibility polymeric carrier; pharmacokinetics.