

УДК 615.099.07

3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.25 EDN: VVXYHF

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИЗОЛИРОВАНИЯ КАРБАМАЗЕПИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ© Хабиева Н.А.¹, Люст Е.Н.², Тимерзянов М.И.¹¹Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы Министерства Здравоохранения, Россия, Республики Татарстан, 420029, Казань, Сибирский тракт, 31А²Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия, 614990, Пермь, ул. Екатерининская, 101*Резюме*

Цель. Разработать методики изолирования карбамазепина из биологических жидкостей (кровь, моча) и биологических тканей (печень, почка).

Методика. Для изучения экстракции карбамазепина из водных растворов применяли метод жидкость-жидкостной экстракции на стандартных растворах карбамазепина с концентрацией 10 мкг/мл. В качестве экстрагентов использовали органические растворители: гексан, хлороформ, диэтиловый эфир, метилтретбутиловый эфир, этилацетат, смесь хлороформ-пропанол-1 (9:1), экстракцию осуществляли из щелочной среды (рН 9-10). Эксперимент по разработке методики изолирования карбамазепина из крови и мочи проводили с использованием модельных смесей мочи и крови с концентрацией карбамазепина 1, 10, 100 мкг/мл. В качестве экстрагентов были апробированы хлороформ и метилтретбутиловый эфир, рН 9-10. При изучении условий изолирования карбамазепина из тканей внутренних органов для приготовления модельных смесей использовали печень и почки интактных лабораторных животных (крыс). Для приготовления модельных смесей биологический образец гомогенизировали в дистиллированной воде (1:4) с помощью ультразвукового гомогенизатора. К 10 г гомогената ткани добавляли 250, 500, 1000 мкл водного раствора карбамазепина с концентрацией 100 мкг/мл (вносимое количество – 25, 50, 100 мкг). Для извлечения целевого вещества из гомогената ткани апробированы подкисленные до рН 2 вода и ацетонитрил. Далее экстракцию проводили органическим растворителем (хлороформ, метилтретбутиловый эфир). Количественное определение карбамазепина в извлечениях из биологических объектов вели методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Полученные данные показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для разработки методик пробоподготовки биологических объектов на основе жидкость-жидкостной экстракции. Карбамазепин более полно извлекается из биожидкостей хлороформом. В результате изучения условий изолирования карбамазепина из биологических тканей (печени и почки) установлено, что в качестве изолирующих агентов для карбамазепина эффективны подкисленные полярные растворители (вода, ацетонитрил).

Заключение. Установлено, что оптимальным растворителем на стадии выделения карбамазепина из биологических тканей является ацетонитрил, для экстракции вещества из растворов в качестве экстрагента целесообразнее применять хлороформ.

Ключевые слова: судебно-химическая экспертиза, карбамазепин, биологические жидкости, биологические ткани, изолирование, экстракция, хлороформ, ацетонитрил

DEVELOPMENT OF METHODS FOR ISOLATING CARBAMAZEPINE FROM BIOLOGICAL OBJECTSHabieva N.A.¹, Lyust E.N.², Timerzyanov M.I.¹¹Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 31A, Sibirskogo trakta, 420029, Kazan, Russia²Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, Perm, 101. Ekaterininskoy St., 614990, Perm, Russia*Abstract*

Objective. To develop methods for isolating carbamazepine from biological fluids (blood, urine) and biological tissues (liver, kidney).

Methods. To study the extraction of carbamazepine from aqueous solutions, a liquid-liquid extraction method was used on standard carbamazepine solutions with a concentration of 10 mcg/ml. Organic solvents were used as extractants: hexane, chloroform, diethyl ether, methyltretbutyl ether, ethyl acetate, a mixture of chloroform-propanol-1 (9:1), extraction was carried out from an alkaline medium (pH 9-10). An experiment to develop a technique for isolating carbamazepine from blood and urine was carried out using model mixtures of urine and blood with a concentration of carbamazepine of 1, 10, 100 mcg/ml. Chloroform and methyltretbutyl ether were tested as extractants, the pH was 9-10. When studying the conditions for isolating carbamazepine from the tissues of internal organs, the liver and kidneys of intact laboratory animals (rats) were used to prepare model mixtures. To prepare the model mixtures, the biological sample was homogenized in distilled water (1:4) using an ultrasonic homogenizer. 250, 500, 1000 ml of carbamazepine aqueous solution with a concentration of 100 mcg/ml was added to 10 g of tissue homogenate (the introduced amount was 25, 50, 100 mcg). To extract the target substance from the tissue homogenate, water and acetonitrile acidified to pH 2 were tested. Next, the extraction was carried out with an organic solvent (chloroform, methyltretbutyl ether). The quantitative determination of carbamazepine in extracts from biological objects was carried out by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Results. The data obtained showed that chloroform and methyltretbutyl ether are promising for the development of methods for sample preparation of biological objects based on liquid-liquid extraction. Carbamazepine is more fully extracted from biofluids by chloroform. The results of studying the conditions for isolating carbamazepine from biological tissues (liver and kidney) showed that acidified polar solvents (water, acetonitrile) are effective as isolating agents for carbamazepine.

Conclusion. It has been established that acetonitrile is the optimal solvent at the stage of carbamazepine isolation from biological tissues, and it is more expedient to use chloroform as an extractant to extract the substance from solutions.

Keywords: forensic chemical examination, carbamazepine, biological fluids, biological tissues, isolation, extraction, chloroform, acetonitrile

Введение

Эпилепсия является распространенным неврологическим расстройством. Важно отметить, что эпилепсия связана с психическими сопутствующими заболеваниями, включая депрессию, беспокойство и психоз. При эпилепсии распространенность самоубийств вдвое выше, чем среди населения в целом [9].

Терапевтический мониторинг лекарственных средств может внести значительный вклад в область лечения эпилепсии, позволив эффективно оптимизировать терапию, подобрать индивидуальные схемы дозирования, установить оптимальный диапазон концентраций в крови человека и сравнить концентрации при которых судороги сдерживаются или при которых возникают побочные эффекты, специфичные для противоэпилептических препаратов.

Карбамазепин является противоэпилептическим средством и в настоящее время с успехом применяется для лечения генерализованных тонико-клонических судорог, а также простых и сложных парциальных припадков. Не утратило своего значения и направление терапии, по которому применили карбамазепин – лечение нейропатической боли (невралгия тройничного нерва и пр.). Препарат обычно хорошо переносится. Однако имеются данные об аллергических реакциях, лейкопении, тромбоцитопении, агранулоцитозе, кожных реакциях. В процессе лечения карбамазепином необходимо систематически следить за картиной крови. При передозировке карбамазепин может быть опасным для жизни [2, 3, 4]. Поэтому необходим терапевтический мониторинг для помощи в клиническом лечении пациентов с карбамазепиновой токсичностью. В судебно-химической практике карбамазепин изучен недостаточно. При производстве судебно-химических экспертиз для обнаружения препарата предложены реакции окрашивания, хроматография в тонком слое сорбента, флуоресцентно-поляризационный иммуноанализ, спектрофотометрия. Для изолирования использованы методы извлечения подкисленной водой или спиртом. Количественное определение рекомендовано проводить колориметрическим методом по продуктам гидролиза или окисления [1, 5].

В зарубежной литературе опубликованы данные об одновременном определении карбамазепина и его метаболитов в биологических жидкостях и лекарственных препаратах с использованием методов жидкость-жидкостной экстракции, дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракции, твердо-фазной экстракции [8]. Высокоэффективная жидкостная хроматография

была выбрана для определения карбамазепина в пробах воды, в тканях моллюска [7], в плазме кролика [8]. Описан метод определения карбамазепина в сыворотке крови человека на основе метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием метода трехсторонней калибровки [6]. Ряд методик требуют дорогостоящего оборудования, высококвалифицированный персонал, трудоемкий процесс подготовки образцов. Таким образом, единый подход к выделению и определению карбамазепина согласно литературным данным отсутствует, поэтому существует необходимость в разработке методов его изолирования, идентификации и количественного определения.

В данной работе предложены условия для выделения карбамазепина из биологических объектов учитывающие такие факторы как: доступность реагентов, оптимальное время выполнения работ, для количественной оценки использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, характеризующийся высокой чувствительностью, позволяющий работать с низкими концентрациями веществ, специфичностью, экспрессностью.

Цель исследования – провести исследования, направленные на разработку методов изолирования карбамазепина из биологических объектов (кровь, моча, печень, почки).

Методика

Для изучения экстракции карбамазепина из водных растворов методом жидкость-жидкостной экстракции в качестве экстрагентов использовали следующие органические растворители: гексан, хлороформ, диэтиловый эфир, метилтретбутиловый эфир, этилацетат, смесь хлороформ-пропанол-1 (9:1). Исследования проводили на стандартных водных растворах карбамазепина с концентрацией 10 мкг/мл. Учитывая основные свойства карбамазепина, экстракцию осуществляли из щелочной среды (рН 9-10). Методика экстракции: к 500 мкл водного раствора аналита в пробирке типа Эппендорф добавляли 50 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента. Проводили однократную экстракцию путем встряхивания на шейкере в течение 5 минут. Органическую и водную фазы разделяли путем центрифугирования при 5000 об/мин в течение 5 минут, слой экстрагента после отделения упаривали в токе теплого воздуха, затем для дальнейшего исследования сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента (фосфатный буферный раствор (рН 3) – ацетонитрил (60:40)).

В качестве биологических образцов для проведения исследований выбраны: биологические жидкости (кровь, моча) и биологические ткани (печень и почки интактных лабораторных животных (крысы)).

Изолирование карбамазепина из мочи и крови проводили с использованием модельных смесей с концентрацией карбамазепина 1, 10, 100 мкг/мл. В качестве экстрагентов были апробированы хлороформ и метилтретбутиловый эфир, показавшие максимальную эффективность при экстракции соединения из его водных растворов.

Извлечение карбамазепина из модельных образцов мочи осуществляли по следующей методике: к 1000 мкл модельной смеси в пробирке типа Эппендорф добавляли 100 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента, однократно экстрагировали путем встряхивания на шейкере 5 минут. Содержимое пробирки центрифугировали со скоростью 5000 об/мин в течение 5 минут, слой экстрагента после отделения упаривали в токе теплого воздуха, затем сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента.

Изолирование карбамазепина из крови осуществляли следующим образом: к 250 мкл модельной смеси в пробирке типа Эппендорф добавляли 50 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента, однократно экстрагировали путем встряхивания на шейкере 5 минут. Содержимое пробирки встряхивали на лабораторном шейкере в течение 5 минут, затем центрифугировали 5 минут при 10000 об/мин. Слой экстрагента отделяли, упаривали в токе теплого воздуха, сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента.

Изучение условий изолирования карбамазепина из внутренних органов (печени и почки). Для приготовления модельных смесей биологический образец гомогенизировали в дистиллированной воде (1:4) с помощью ультразвукового гомогенизатора. К 10 г гомогената ткани добавляли 250, 500, 1000 мкл водного раствора карбамазепина с концентрацией 100 мкг/мл (вносимое количество – 25, 50, 100 мкг). Методика изолирования: модельную смесь в конической колбе вместимостью 100 мл заливали 10 мл растворителя. Учитывая хорошую растворимость карбамазепина в полярных растворителях, для извлечения апробированы подкисленные до рН 2 вода и ацетонитрил. Содержимое колбы настаивали при постоянном перемешивании в течение 1

часа. Вытяжку центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 минут. Супернатант отделяли, подщелачивали раствором аммония гидроксида 25% до pH 10 и проводили двукратную экстракцию органическим растворителем (хлороформ, метилтретбутиловый эфир) порциями по 5 мл. Время каждой экстракции составляло 5 минут. Объединенные извлечения упаривали в токе теплого воздуха, сухой остаток растворяли в 1 мл элюента. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 5 мкм.

Эффективность экстракции оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в режиме изократического элюирования с использованием диодно-матричного детектора: хроматографическая колонка: ZORBAX SB-C18 (4,6 x 250 мм x 5 мкм); подвижная фаза (А-В): фосфатный буферный раствор (pH 3) – ацетонитрил (60:40); скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин; температура термостата колонки: 40°C.

По результатам эксперимента при выделении карбамазепина из образцов биообъектов проведено валидирование предложенных условий с получением удовлетворительных результатов по показателям специфичность, линейность, повторяемость.

Результаты исследования

В проведенном эксперименте оценивали эффективность извлечения карбамазепина из водных растворов, крови, мочи, гомогенизированной ткани печени и почки в зависимости от следующих условий: природы изолирующего агента на стадии настаивания, природы экстрагента, количества вносимого в модельную смесь вещества. Данные о степени извлечения карбамазепина представлены в таблицах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Таблица 1. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из водных растворов

Растворитель					
Гексан	Хлороформ	Хлороформ-пропанол – 1 (9:1)	Метилтретбутиловый эфир	Диэтиловый эфир	Этилацетат
Степень извлечения, % (n=6)					
15,40	93,26	90,19	92,21	80,17	85,37
16,41	93,32	90,15	92,21	81,07	81,37
16,60	93,58	90,88	92,87	81,51	85,30
16,46	93,94	90,10	91,97	81,71	85,20
16,42	93,89	91,17	92,11	82,05	84,39
15,42	94,38	92,13	92,74	82,27	82,06
Метрологические характеристики					
X _{ср.} = 16,12	X _{ср.} = 93,73	X _{ср.} = 90,77	X _{ср.} = 92,35	X _{ср.} = 81,46	X _{ср.} = 83,95
SD = 0,55	SD = 0,42	SD = 0,79	SD = 0,36	SD = 0,76	SD = 1,78
RSD = 3,43%	RSD = 0,45%	RSD = 0,88%	RSD = 0,39%	RSD = 0,93%	RSD = 2,12%

Таблица 2. Результаты исследований по изучению эффективности извлечения карбамазепина из мочи (модельные смеси, %, n=6)

Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 1 мкг/мл		Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 10 мкг/мл		Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 100 мкг/мл	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
75,08	91,98	70,58	89,28	71,23	91,12
77,15	90,45	72,95	90,10	74,11	91,47
76,77	93,25	76,54	92,13	70,12	92,69
75,35	90,66	70,93	90,22	71,66	88,93
76,52	93,39	74,11	90,44	69,70	90,96
76,24	90,84	75,35	92,94	71,24	91,81
Метрологические характеристики					
X _{ср.} = 76,19	X _{ср.} = 91,76	X _{ср.} = 73,41	X _{ср.} = 90,85	X _{ср.} = 71,34	X _{ср.} = 91,16
SD = 0,8133	SD = 1,319	SD = 2,384	SD = 1,386	SD = 1,548	SD = 1,255
RSD = 1,067%	RSD = 1,437%	RSD = 3,248%	RSD = 1,525%	RSD = 2,169%	RSD = 1,377%

Установлено, что наиболее полно карбамазепин из водных щелочных растворов извлекается хлороформом и метилтретбутиловым эфиром. Введение в хлороформ полярного растворителя пропанола-1 привело к некоторому снижению экстракции карбамазепина.

Таблица 3. Результаты исследований по изучению эффективности извлечения карбамазепина из крови (модельные смеси, %, n=6)

Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 1 мкг/мл		Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 10 мкг/мл		Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 100 мкг/мл	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
68,56	88,92	63,60	89,91	66,75	85,09
69,49	91,81	68,71	86,71	68,86	88,29
67,27	88,97	65,36	90,58	69,75	87,46
70,68	86,89	65,77	92,41	67,81	86,83
69,60	90,49	68,21	91,15	67,74	92,79
68,24	90,73	67,11	92,09	69,85	85,19
Метрологические характеристики					
$X_{cp.} = 68,97$	$X_{cp.} = 89,64$	$X_{cp.} = 66,46$	$X_{cp.} = 90,47$	$X_{cp.} = 68,46$	$X_{cp.} = 87,61$
$SD = 1,199$	$SD = 1,741$	$SD = 1,919$	$SD = 2,065$	$SD = 1,235$	$SD = 2,833$
$RSD = 1,738\%$	$RSD = 1,942\%$	$RSD = 2,887\%$	$RSD = 2,282\%$	$RSD = 1,803\%$	$RSD = 3,234\%$

Полученные данные свидетельствуют о том, что карбамазепин более полно извлекается из биожидкостей хлороформом (88-93 % из мочи; 85-92 % из крови).

Таблица 4. Результаты исследований по изучению степени выделения карбамазепина из ткани печени при использовании на стадии настаивания подкисленной воды (модельные смеси, %, n=6)

Внесено 25 мкг карбамазепина		Внесено 50 мкг карбамазепина		Внесено 100 мкг карбамазепина	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
64,50	69,69	64,42	74,30	60,57	72,47
60,35	72,07	62,83	69,76	61,38	71,42
63,50	74,40	63,48	71,80	64,78	70,14
63,06	73,50	64,62	72,64	63,16	71,24
63,42	67,16	61,17	68,40	59,40	71,07
61,03	68,10	61,44	70,11	61,79	70,54
Метрологические характеристики					
$X_{cp.} = 62,64$	$X_{cp.} = 70,82$	$X_{cp.} = 62,99$	$X_{cp.} = 71,17$	$X_{cp.} = 61,85$	$X_{cp.} = 71,15$
$SD = 1,601$	$SD = 2,954$	$SD = 1,462$	$SD = 2,151$	$SD = 1,906$	$SD = 0,803$
$RSD = 2,556\%$	$RSD = 4,171\%$	$RSD = 2,320\%$	$RSD = 3,023\%$	$RSD = 3,082\%$	$RSD = 1,128\%$

Таблица 5. Результаты исследований по изучению степени выделения карбамазепина из ткани печени при использовании на стадии настаивания подкисленного ацетонитрила (модельные смеси, %, n=6)

Внесено 25 мкг карбамазепина		Внесено 50 мкг карбамазепина		Внесено 100 мкг карбамазепина	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
65,92	84,05	72,98	84,88	72,86	83,83
67,31	78,32	73,80	81,83	71,26	80,41
69,09	78,96	72,62	83,19	70,11	81,14
67,51	82,96	70,45	83,41	69,75	82,38
65,89	85,64	70,61	82,93	69,80	80,12
66,33	83,11	69,25	78,05	70,28	81,15
Метрологические характеристики					
$X_{cp.} = 67,01$	$X_{cp.} = 82,17$	$X_{cp.} = 71,62$	$X_{cp.} = 82,38$	$X_{cp.} = 70,68$	$X_{cp.} = 81,51$
$SD = 1,231$	$SD = 2,905$	$SD = 1,767$	$SD = 2,338$	$SD = 1,201$	$SD = 1,382$
$RSD = 1,836\%$	$RSD = 3,536\%$	$RSD = 2,467\%$	$RSD = 2,837\%$	$RSD = 1,699\%$	$RSD = 1,695\%$

Таблица 6. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из ткани почки при использовании на стадии настаивания подкисленной воды (модельные смеси, %, n=6)

Внесено 25 мкг карбамазепина		Внесено 50 мкг карбамазепина		Внесено 100 мкг карбамазепина	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
60,92	66,63	64,24	71,32	64,79	70,87
57,61	69,49	61,14	70,73	60,09	70,94
66,14	70,21	60,83	70,53	60,59	71,58
62,67	71,29	61,04	70,54	60,49	72,41
62,26	65,89	61,50	70,92	62,68	72,03
64,45	73,69	62,25	72,09	64,96	73,07
Метрологические характеристики					
$X_{cp.} = 62,34$	$X_{cp.} = 69,53$	$X_{cp.} = 61,83$	$X_{cp.} = 71,02$	$X_{cp.} = 62,27$	$X_{cp.} = 71,82$
$SD = 2,946$	$SD = 2,916$	$SD = 1,28$	$SD = 0,599$	$SD = 2,213$	$SD = 0,859$
$RSD = 4,726\%$	$RSD = 4,194\%$	$RSD = 2,070\%$	$RSD = 0,8447\%$	$RSD = 3,555\%$	$RSD = 1,196\%$

Таблица 7. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из ткани почки при использовании на стадии настаивания подкисленного ацетонитрила (модельные смеси, %, n=6)

Внесено 25 мкг карбамазепина		Внесено 50 мкг карбамазепина		Внесено 100 мкг карбамазепина	
Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ	Метилтретбутиловый эфир	Хлороформ
65,02	81,43	70,83	82,19	68,76	83,53
67,06	81,70	70,94	80,77	68,31	81,15
68,95	85,41	71,45	82,98	69,67	81,87
70,50	81,18	71,36	83,17	70,66	83,02
65,64	83,44	68,71	82,51	71,36	79,64
61,84	79,90	69,72	78,65	71,76	80,93
Метрологические характеристики					
$X_{cp.} = 66,5$	$X_{cp.} = 82,18$	$X_{cp.} = 70,5$	$X_{cp.} = 81,71$	$X_{cp.} = 70,09$	$X_{cp.} = 81,69$
$SD = 3,065$	$SD = 1,95$	$SD = 1,073$	$SD = 1,724$	$SD = 1,403$	$SD = 1,432$
$RSD = 4,608\%$	$RSD = 2,373\%$	$RSD = 1,522\%$	$RSD = 2,110\%$	$RSD = 2,002\%$	$RSD = 1,753\%$

Полярные растворители (вода, ацетонитрил) эффективны в качестве изолирующих агентов для карбамазепина из биологических тканей. Степень извлечения карбамазепина хлороформом из биологических тканей при использовании на стадии настаивания подкисленной воды составляет 65-74%, при использовании подкисленного ацетонитрила – 78-85%

Обсуждение результатов исследования

Полученные результаты исследования показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для разработки методик пробоподготовки биологических объектов на основе жидкость-жидкостной экстракции. Для экстрагирования карбамазепина из биологических жидкостей предложено использовать хлороформ. Результаты изучения условий изолирования карбамазепина из биологических тканей (печени и почки) показали, что подкисленные полярные растворители (вода, ацетонитрил) эффективны в качестве изолирующих агентов для карбамазепина. Максимальное извлечение карбамазепина на всех уровнях концентраций достигалось при использовании на стадии экстракции молекулярной формы аналита хлороформа. Несмотря на то, что получены сопоставимые результаты по степени извлечения вещества, как при использовании воды, так и ацетонитрила, в качестве оптимального изолирующего агента рекомендован ацетонитрил. При выборе растворителя руководствовались следующими фактами: ацетонитрильное извлечение визуально более чистое по сравнению с водным, быстро фильтруется, при встряхивании с хлороформом практически не образует эмульсию. В соответствии с разработанной методикой изолирования карбамазепина провели эксперименты с «холостыми» пробами. Установлено, что на хроматограммах всех исследованных образцов отсутствуют интерферирующие пики со временами удерживания, близкими к карбамазепину.

Выводы

1. Изучен процесс экстракции карбамазепина из водных растворов с pH 9-10. Полученные данные показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для экстракционных методик пробоподготовки биологических объектов.

2. На модельных смесях разработаны условия жидкость-жидкостной экстракции карбамазепина из биологических жидкостей. Для биоматериала в качестве оптимального растворителя на стадии настаивания тканей выбран ацетонитрил, в качестве экстрагента – хлороформ.
3. Оценена специфичность хроматографических условий с учетом отсутствия интерферирующих пиков со временами удерживания, близкими к карбамазепину, на хроматограммах всех исследованных образцов.

Литература (refereces)

1. Вергейчик Т.Х., Шабалин С.В. Определение карбамазепина в трупном материале с использованием производной спектрофотометрии // Судебно-медицинская экспертиза. – 1993. – №1. – С. 32-34. [Vergeychik T.H., Shabalin S.V. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza*. Forensic medical examination. – 1993. – N1. – P. 32-34 (in Russian)]
2. Кутлубаев М.А. Суицидальное поведение при неврологических заболеваниях: частота, предрасполагающие факторы, подходы к профилактике // Неврологический журнал. – 2016. – №3. – С. 124-130. [Kutlubaev M.A. *Nevrologicheskij zhurnal*. Neurological Journal. – 2016. – N3. – P. 124-130. (in Russian)]
3. Маслов О.Г., Брусин К.М., Новикова О.В. Особенности клиники и интенсивной терапии при острых отравлениях карбамазепином // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2010. – №1. – С. 31-33. [Maslov O.G., Brusin K.M., Novikova O.V. *Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki*. Bulletin of the Ural Medical Academic Science. – 2010. – N1. – P. 31-33. (in Russian)]
4. Пылаева О.А. Мухин К.Ю., Шатенштейн А.А. Эпилепсия и риск суицида (обзор литературы). Русский журнал детской неврологии. – 2013. – Т.8, №2. – С. 23-40. [Pylaeva O.A. Mukhin K.Yu., Shatenstein A.A. *Russkij zhurnal detskoj nevrologii*. Russian Journal of Pediatric Neurology. – 2013. – V.8, N2. – P. 23-40. (in Russian)]
5. Шабалин С.В., Вергейчик Т.Х. Методика изолирования карбамазепина из трупного материала и определение его методом флюоресцентно-поляризационного иммуноанализа // Судебно-медицинская экспертиза. – 1993. – №4. – С. 29-30. [Shabalin S.V., Vergeychik T.H. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza*. Forensic medical examination. – 1993. – N4. – P. 29-30 (in Russian)]
6. Ghafghazia Sh., Zanjania T.M., Vosough M. and others. Interference-free Determination of Carbamazepine in Human Serum Using High Performance Liquid Chromatography: A Comprehensive Research with Three-way Calibration Methods // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2017. – N16(1). – P. 120-131.
7. Jaouania R., Dellalia M., Mouneyrac C. and others. Assessment of carbamazepine acute toxicity in the cockle *Cerastoderma edule* through chemical, physiological and biochemical tools // Brazilian Journal of Biology. – 2022. – V. 82. – P. 190-193.
8. Mowafy H.A., Alanazi F.K., Maghraby G.M. Development and validation of an HPLC–UV method for the quantification of carbamazepine in rabbit plasma // Saudi Pharmaceutical Journal. – 2012. – N20(1). – P. 29-34.
9. Sirven J.I. Management of epilepsy comorbidities // Continuum (Minneapolis, Minn). – 2016. – N22(1 Epilepsy). – P. 191-203.

Информация об авторах

Хабиева Наталья Александровна – заведующий отделением ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ». E-mail: Habieva.Nataliya@yandex.ru

Люст Елена Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: elenalyust@mail.ru

Тимерзянов Марат Исмаилович – доктор медицинских наук, начальник ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ». E-mail: Marat.Timerzyanov@tatar.ru

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 18.09.2023

Принята к печати 15.10.2023