Судебно-медицинская экспертиза
2023, №3, с. 40–45
https://doi.org/10.17116/sudmed20236603140

Sudebno-meditsinskaya ekspertiza
2023, No.3, pp. 40–45
https://doi.org/10.17116/sudmed20236603140

Изучение возможности экстракции эмтрицитабина из биологического материала

© Е.А. ИЛЛАРИОНОВА[1], Н.В. ЧМЕЛЕВСКАЯ[2], Ю.А. ГОНЧИКОВА[1], А.В. ЦЫРЕНЖАПОВ[1]

[1]ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Россия;
[2]ГБУЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», Иркутск, Россия

Резюме

Цель исследования — изучить возможность экстракции эмтрицитабина из биологического материала и разработать методики химико-токсикологического анализа эмтрицитабина при остром отравлении. В работе приведены методики изолирования эмтрицитабина из образцов мочи, плазмы и печени животных (крысы линии Wistar массой 180 г) с помощью жидкость-жидкостной экстракции. Описаны методики идентификации и количественного определения эмтрицитабина в извлечениях методами тонкослойной хроматографии, ультрафиолетовой спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии. Эмтрицитабин обнаружили в извлечении из мочи с терапевтической дозой 6,65±2,21 мкг/мл, с токсической дозой 35,81±1,05 мкг/мл, в извлечении из плазмы с терапевтической дозой 2,91±0,19 мкг/мл, с токсической дозой 16,88±0,90 мкг/мл.

Ключевые слова: *эмтрицитабин, жидкость-жидкостная экстракция, УФ-спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография.*

Информация об авторах:

Илларионова Е.А. — https://orcid.org/0000-0002-3281-9489; e-mail: Illelena24@mail.ru
Чмелевская Н.В. — https://orcid.org/0000-0002-1130-6262; e-mail: nchmel63@mail.ru
Гончикова Ю.А. — https://orcid.org/0000-0002-2964-3830; e-mail: gonchikova1984@mail.ru
Цыренжапов А.В. — https://orcid.org/0000-0002-0278-8343; e-mail: Illelena24@mail.ru
Автор, ответственный за переписку: Гончикова Ю.А. — e-mail: gonchikova1984@mail.ru

Как цитировать:

Илларионова Е.А., Чмелевская Н.В., Гончикова Ю.А., Цыренжапов А.В. Изучение возможности экстракции эмтрицитабина из биологического материала. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2023;66(3):40–45. https://doi.org/10.17116/sudmed20236603140

Study of the possibility of emtricitabine extraction from biomaterial

© E.A. ILLARIONOVA[1], N.V. CHMELEVSKAYA[2], YU.A. GONCHIKOVA[1], A.V. TSYRENZHAPOV[1]

[1]Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia;
[2]Irkutsk Regional Bureau of Forensic Medical Examination, Irkutsk, Russia

Abstract

The aim of the study is to investigate the opportunity of emtricitabine extraction from biomaterial and to develop method of emtricitabine chemicotoxicological analysis while acute poisoning. This research represents the methods of emtricitabine isolation from urine, plasma and liver samples (rats of Wistar line weighing 180 g) using liquid-liquid extraction. The identification and quantitation methods of emtricitabine in extractions by thin-layer chromatography, ultraviolet spectrophotometry and high-performance liquid chromatography methods were described. The emtricitabine was found extracted from urine with a therapeutic dose of 6.65±2.21 μg/ml and a toxic dose 35.81±1.05 μg/ml, from plasma with a therapeutic dose of 2.91±0.19 μg/ml and a toxic dose of 16.88±0.90 μg/ml.

Keywords: *emtricitabine, liquid-liquid extraction, UV spectrophotometry, thin-layer chromatography, high-performance chromatography.*

Information about the authors:

Illarionova E.A. — https://orcid.org/0000-0002-3281-9489; e-mail: Illelena24@mail.ru
Chmelevskaya N.V. — https://orcid.org/0000-0002-1130-6262; e-mail: nchmel63@mail.ru
Gonchikova Yu.A. — https://orcid.org/0000-0002-2964-3830; e-mail: gonchikova1984@mail.ru
Tsyrenzhapov A.V. — https://orcid.org/0000-0002-0278-8343 e-mail: Illelena24@mail.ru
Corresponding author: Gonchikova Yu.A. — e-mail: gonchikova1984@mail.ru

To cite this article:

Illarionova EA, Chmelevskaya NV, Gonchikova YuA, Tsyrenzhapov AV. Study of the possibility of emtricitabine extraction from biomaterial. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2023;66(3):40–45. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/sudmed20236603140

ВИЧ-инфекция продолжает оставаться глобальной проблемой современного общества. К сожалению, лечение этого заболевания не обходится кратковременной терапией, а предполагает ежедневный прием медикаментов. Одним из препаратов, применяемых с целью лечения ВИЧ-инфекции, является эмтрицитабин. Антиретровирусная терапия этим препаратом показана, как правило, в течение всей жизни [1].

При пероральном приеме всасывание эмтрицитабина из желудочно-кишечного тракта происходит достаточно быстро. Эмтрицитабин в большей степени выводится почками в нативном виде (около 86%). Приблизительно 13% введенной дозы лекарственного препарата было обнаружено в виде метаболитов.

Комбинированная антивирусная терапия, включающая эмтрицитабин, может стать причиной серьезного отравления. При этом в источниках литературы отсутствуют данные об условиях изолирования эмтрицитабина с целью дальнейшего химико-токсикологического анализа, в связи с чем изучение данного вопроса является как никогда актуальным.

Цель исследования — изучить возможность экстракции эмтрицитабина из биологического материала и разработать методики химико-токсикологического анализа эмтрицитабина при остром отравлении.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполняли с помощью следующего оборудования: спектрофотометр СФ-2000 (Россия), жидкостной хроматограф «Милихром А-02» с ультрафиолетовым (УФ) детектором (Россия).

Исследование проводили с использованием капсул эмтрицитабина по 0,2 г (АО «Фармасинтез», Россия), воды очищенной, хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М, натрия гидроксида раствор 0,1 М, 25% раствора аммиака, органических растворителей (трихлорметан «х.ч.», дихлорметан «х.ч.», эфир «х.ч.», этилацетат «х.ч.», бензол «х.ч.», изопропанол «х.ч.», гексан «х.ч.»), растворов электролитов (20% раствор NaCl «х.ч.», насыщенный раствор NaCl «х.ч.», 5% раствор Na_2SO_4 «х.ч.», насыщенный раствор Na_2SO_4 «х.ч.», 20% раствор $(NH_4)_2SO_4$ «х.ч.» и насыщенный раствор $(NH_4)_2SO_4$ «х.ч.».

Эмтрицитабин изолировали методом жидкость-жидкостной экстракции (ЖЖЭ): готовили водный раствор эмтрицитабина концентрации 0,05 г/мл, доводили pH от 2,0 до 11,0 с помощью хлористоводородной кислоты раствора 0,1М либо аммония гидроксида раствора 10%. Для получения нужного значения pH требовалось несколько капель соответствующего реактива, увеличение объема учитывали в расчетах. Экстрагирование проводили однократно порциями по 3 мл разными органическими растворителями, которые испаряли при комнатной температуре досуха.

В качестве биообъектов использовали слюну в количестве 5 мл, мочу — 35 мл, плазму — 10 мл, которые отбирали у здоровых добровольцев, не принимавших лекарственные препараты в течение 7 сут.

Для приготовления модельных смесей биологических объектов использовали водный раствор, содержащий 0,02, 0,04 и 0,06 г/мл эмтрицитабина соответственно. Модельные образцы биожидкостей готовили, добавляя к 15 или 10 мл водного раствора эмтрицитабина в разных концентрациях 0,06, 0,04, или 0,02 г/мл соответственно 5 мл предварительно замороженной на 24 ч слюны, 15 мл плазмы или 35 мл мочи. Смеси выдерживали в течение суток при комнатной температуре. Затем в модельных смесях слюны осаждали белки трихлоруксусной кислоты раствором 50%, центрифугировали и отделяли от осадка, модельные смеси плазмы крови центрифугировали и далее использовали надосадочную жидкость, модельные смеси мочи фильтровали.

Модельные смеси печени готовили, прибавляя к 25 г органа, измельченного до размера 0,5×0,5×0,5 $см^3$, 15 мл водного раствора препарата в вышеописанных концентрациях и оставляли на сутки при комнатной температуре. Последующую пробоподготовку осуществляли согласно методикам А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и Стаса—Отто [2].

Далее применяли разработанную методику: 1 мл извлечения из модельной смеси переносили в пробирку, доводили pH до 9 аммония гидроксида раствором 10% и экстрагировали этилацетатом троекратно в течение 7 мин.

Для обнаружения эмтрицитабина в извлечениях использовали хроматографию в тонком слое сорбента (тонкослойная хроматография, ТСХ), УФ-спектрофотометрию и высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ).

Для идентификации аналита методом ТСХ наносили извлечения на хроматографические пластинки «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ 10×15 см, высушивали. Хроматографировали восходящим методом, используя систему этанол-аммиака раствор концентрированный 25% (40:1). В качестве способа проявления применяли облучение в УФ свете (254 нм).

Обнаружение эмтрицитабина выполняли с помощью метода УФ-спектрофотометрии в растворах сухих остатков, приготовленных по следующей методике: к сухому остатку добавляли 10 мл воды очищенной, 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем раствора доводили до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М. Снимали УФ-спектры на приборе СФ-2000 в кювете с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 200—400 нм. Раствором сравнения выступал хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

Обнаружение и количественное определение эмтрицитабина в извлечениях методом ВЭЖХ проводили по следующей методике [6]: обращенная фаза ProntoSIL 120-5C18AQ («Bischoff», Германия), режим элюирования — линейный градиент (3700 мкл 5—70% Б) в системе: элюент А: 0,2 М лития перхлорат — 0,005 М раствор хлорной кислоты (pH 2,8); элюент Б: ацетонитрил. Скорость потока элюента составляла 100 мкл/мин; температура колонки — 40 °С; объем пробы — 2 мкл, длина волны — 280 нм. Количественное содержание эмтрицитабина в извлечениях рассчитывали по стандартному образцу. Линейность метода оценивали, анализируя растворы модельных образцов с разными концентрациями эмтрицитабина. Было установлено, что зависимость площади пика эмтрицитабина от его концентрации линейна и подчиняется уравнению $y=78,59x$, $R^2=0,999$. Аналитическая область методики находится в пределах 0,2—1,0 мкг/мл. Предел обнаружения составляет 2 мкг/мл.

Для проведения апробации методики изолирования на модели острого отравления использовали лабораторных животных (2-месячные крысы линии Wistar массой 180 г, из которых были сформированы 5 опытных групп и одна контрольная, в каждой по 5 особей). Каждой особи, отно-

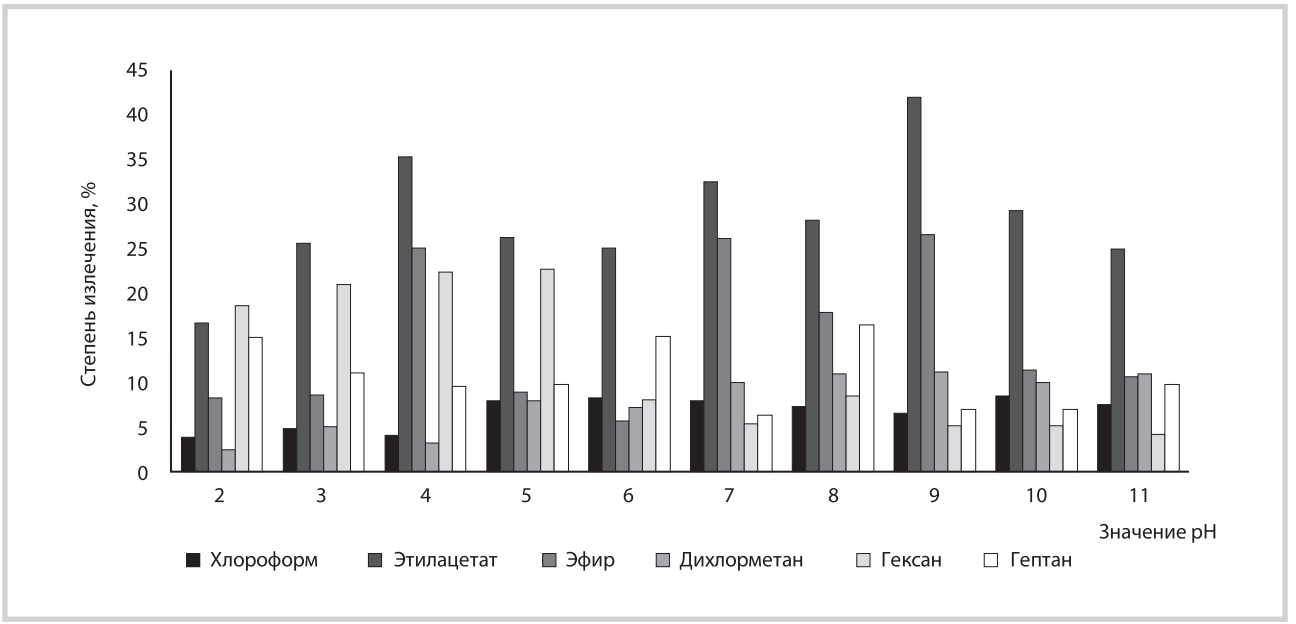


Рис. 1. **Зависимость степени извлечения эмтрицитабина от pH среды и природы органического растворителя.**
Fig. 1. **Rate of emtricitabine extraction depending on pH medium and origin of organic solvent.**

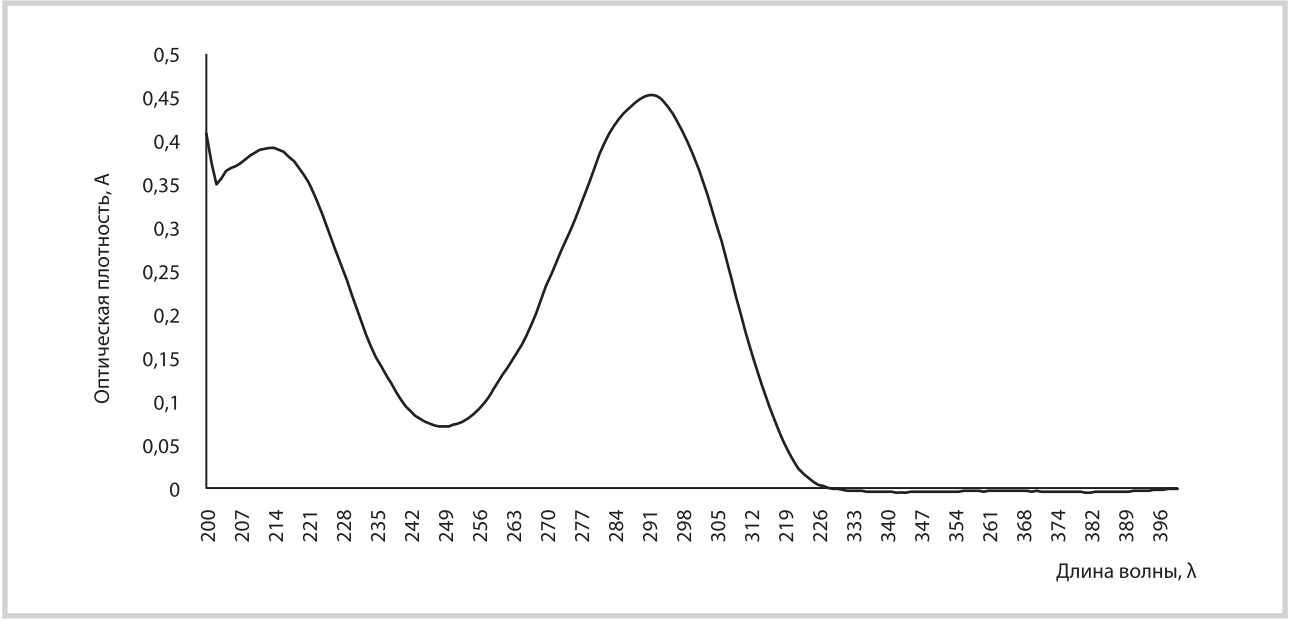


Рис. 2. **Спектр поглощения 0,001% раствора эмтрицитабина в хлористоводородной кислоте растворе 0,1 *М*.**
Fig. 2. **Absorption spectrum of 0.001% emtricitabine solution in hydrochloric acid solution of 0.1 *M*.**

сящейся к опытным группам, вводили в желудок с помощью зонда суспензию эмтрицитабина в терапевтической (2,86 мг/кг) и токсической (17 мг/кг) концентрациях, рассчитываемых для средней массы человека 70 кг и соответствующих $TD_{50.}$ Введение TD_{50} было доказано в эксперименте и гарантированно приводило к проявлению токсического эффекта у особей. Далее животных вводили в наркоз через 5 ч, декапитировали и проводили у них забор плазмы крови и мочи [3—5].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакета программ для Windows XP (Microsoft Excel) и с применением *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

С целью разработки методики изолирования эмтрицитабина использовали метод ЖЖЭ. Изучили влияние нескольких факторов; природы органического растворителя, pH среды, электролита, времени и кратности экстракции на изолирование эмтрицитабина из водных растворов.

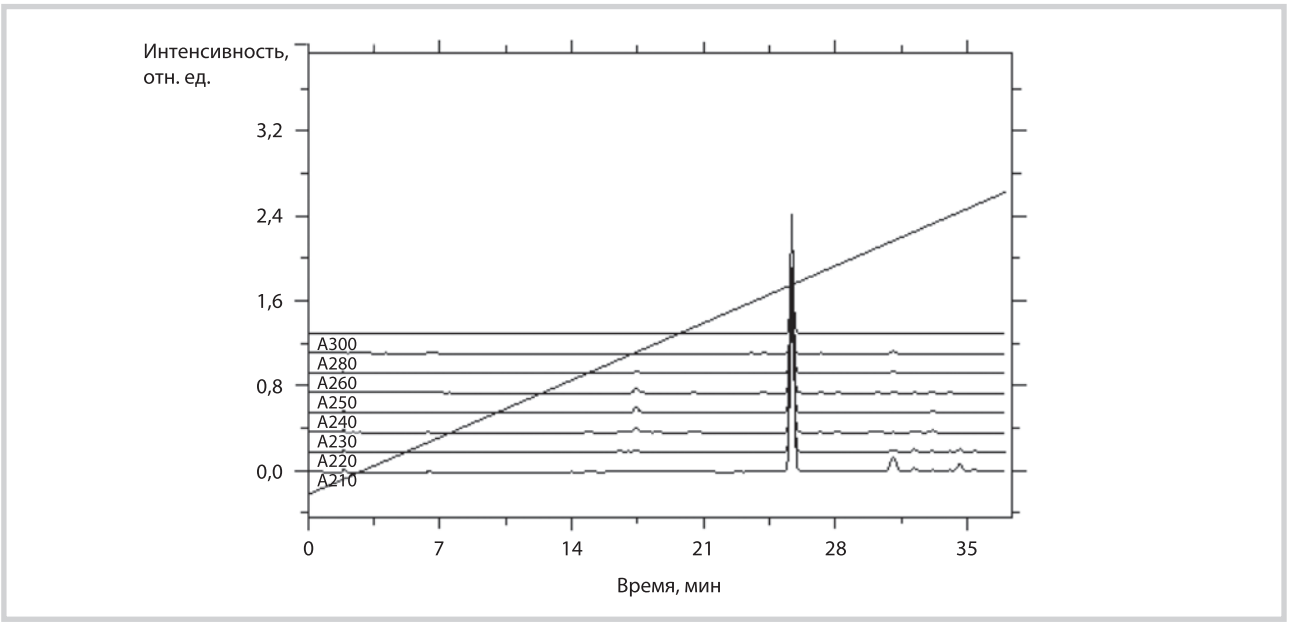


Рис. 3. **Хроматограмма стандартного раствора эмтрицитабина в метаноле с концентрацией 0,5 мг/мл.**
Fig. 3. **Chromatogram of standard solution emtricitabine in methanol at a concentration of 0.5 mg/ml.**

Разработанные на водных растворах условия применили при изолировании препарата из модельных смесей мочи, слюны, плазмы крови, печени [2—4].

На первом этапе исследования изучили влияние pH среды и органического растворителя на степень экстракции.

Наибольшая степень извлечения эмтрицитабина из растворов наблюдалась при экстрагировании его этилацетатом (pH=9) **(рис. 1)**.

Результаты исследования показали, что выбранные электролиты не оказывают влияния на степень экстракции эмтрицитабина; в связи с чем при разработке дальнейших методик анализа эмтрицитабина добавление электролита не проводили.

На следующем этапе экспериментальных исследований было рассмотрено влияние времени и кратности экстрагирования на степень изолирования эмтрицитабина. На основании полученных результатов было установлено, что при двукратной экстракции выход составлял 66%, а наибольший выход эмтрицитабина (80%) был зарегистрирован при троекратной экстракции в течение 7 мин.

Разработанная методика была апробирована на модельных смесях мочи, слюны и плазмы крови, а также на твердых биообъектах (печень).

Идентифицировали эмтрицитабин после изолирования из модельных образцов с использованием методов ТСХ, УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ.

На предварительном этапе исследование проводили с помощью метода ТСХ с использованием системы этанол: 25% раствор аммиака (40:1) восходящим методом. Значение R_f пятна извлечения эмтрицитабина из биологического материала соответствовало значению R_f стандартного образца свидетеля эмтрицитабина (0,53±0,01).

УФ-спектр стандартного образца эмтрицитабина в растворе хлористоводородной кислоты 0,1 М характеризовался максимумом поглощения при длине волны 291±1 нм **(рис. 2)**, что соответствовало максимуму поглощения эмтрицитабина в извлечениях, полученных из биологических объектов.

При обнаружении эмтрицитабина методом ВЭЖХ на хроматограмме стандартного образца наблюдали один пик с временем удерживания 26 мин **(рис. 3)**, что совпадало со временем удерживания эмтрицитабина, полученного после извлечения из биологических объектов.

Степень экстракции эмтрицитабина из мочи, плазмы крови, слюны и печени в терапевтической (0,2 г), токсической (1,2 г) и летальной (9,6 г) дозах оценивали методом

Таблица 1. **Степень извлечения эмтрицитабина из мочи, плазмы крови и слюны**
Table 1. **Rate of emtricitabine extraction from urine, blood plasma and saliva**

Биологический объект	Метрологические характеристики, *n*=6, P=0,95%		
	0,2 г	1,2 г	9,6 г
Моча	$\bar{x}$=55,91%; S$\bar{x}$=1,76; ΔX=3,67; ε=8,53%; CV=2,14%	$\bar{x}$=61,37%; S$\bar{x}$=0,42; ΔX=0,89; ε=1,45%; CV=2,12%	$\bar{x}$=68,83%; S$\bar{x}$=0,46; ΔX=0,97; ε=1,41%; CV=2,14%
Плазма крови	$\bar{x}$=67,80%; S$\bar{x}$=2,76; ΔX=5,79; ε=3,87%; CV=5,76%	$\bar{x}$=74,60%; S$\bar{x}$=0,37; ΔX=0,78; ε=1,04%; CV=2,14%	$\bar{x}$=75,70%; S$\bar{x}$=0,32; ΔX=0,68; ε=0,91%; CV=2,13%
Слюна	$\bar{x}$=43,70%; S$\bar{x}$=0,67; ΔX=1,40; ε=3,22%; CV=2,14%	$\bar{x}$=47,84%; S$\bar{x}$=1,07; ΔX=2,24; ε=4,69%; CV=4,49%	$\bar{x}$=46,36%; S$\bar{x}$=0,46; ΔX=1,11; ε=2,40%; CV=2,14%

Таблица 2. **Степень извлечения эмтрицитабина из печени**
Table 2. **Rate of emtricitabine extraction from liver**

Метод	Метрологические характеристики, *n*=6, P=0,95%		
	0,2 г	1,2 г	9,6 г
Васильевой	$\bar{x}$=44,30%; S$\bar{x}$=0,39; ΔX=0,80; ε=1,83%; CV=3,29%	$\bar{x}$=46,40%; S$\bar{x}$=0,65; ΔX=1,35; ε=2,91%; CV=3,38%	$\bar{x}$=49,96%; S$\bar{x}$=0,46; ΔX=0,35; ε=1,47%; CV=3,64%
Крамаренко	$\bar{x}$=40,20%; S$\bar{x}$=0,33; ΔX=0,70; ε=1,74%; CV=4,13%	$\bar{x}$=46,446,4%; S$\bar{x}$=0,65; ΔX=1,77; ε=3,72%; CV=3,69%	$\bar{x}$=45,80%; S$\bar{x}$=0,45; ΔX=0,94; ε=2,05%; CV=3,67%
Стаса—Отто	$\bar{x}$=31,70%; S$\bar{x}$=1,57; ΔX=3,28; ε=10,34%; CV=2,14%	$\bar{x}$=31,50%; S$\bar{x}$=0,29; ΔX=0,60; ε=1,91%; CV=2,15%	$\bar{x}$=33,00%; S$\bar{x}$=0,45; ΔX=0,94; ε=2,85%; CV=2,14%

Таблица 3. **Содержание эмтрицитабина в организме теплокровных животных (крысы)**
Table 3. **The emtricitabine content in the organism of warm-blooded animals (rats)**

Биологическая жидкость	Найдено эмтрицитабина мкг в 1 мл биологического объекта	Метрологические характеристики
	Терапевтическая концентрация	
Моча	6,85 6,50 6,45 6,73 6,68	X=6,65 S=0,1657 RSD%=2,49 E%=3,10
Кровь	3,15 2,85 2,76 2,84 2,93	X =2,91 S=0,1492 RSD=5,13 E%=6,37
	Токсическая концентрация	
Моча	35,80 34,46 36,45 35,76 36,58	X =35,81 S=0,8408 RSD=2,35 E% =2,92
Кровь	18,12 16,56 16,23 16,69 16,81	X =16,88 S=0,7252 RSD=5,134,30 E%=5,34

ВЭЖХ. Статистически обработанные результаты представлены в **табл. 1**, **2**.

Из **табл. 1** и **2** видно, что с помощью разработанной методики изолирования из модельной смеси плазмы крови удается извлечь 67,8—75,7% эмтрицитабина; из модельной смеси мочи — 55,91—68,83%, из модельной смеси слюны — 43,70—47,84%, из модельной смеси печени — 33,00—49,96%, что достаточно для установления факта отравления. Следует отметить, что были получены сопоставимые результаты при изолировании эмтрицитабина из модельных образцов печени по модифицированным методам А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и Стаса—Отто.

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям «прецизионность» и «правильность» [6]. Относительное стандартное отклонение (RSD,%) при оценке сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости не превышала 3,8% для плазмы крови, 5,7% для мочи, 3,6% для слюны, 5,4% для печени.

Разработанные методики были апробированы на лабораторных животных (крысы линии Wistar массой 180 г) после создания модели острого отравления [7].

Результаты количественного определения эмтрицитабина в моче и крови взятых от отравленных животных приведены в **табл. 3**.

Из **табл. 3** видно, что с помощью разработанной методики удалось обнаружить эмтрицитабин в извлечении из мочи с терапевтической дозой 6,65±2,21 мкг/мл, с токсической дозой 35,81±1,05 мкг/мл, в извлечении из плазмы с терапевтической дозой 2,91±0,19 мкг/мл, с токсической дозой 16,88±0,90 мкг/мл [7].

Выводы

1. Подобраны условия изолирования эмтрицитабина (экстрагент, pH среды, время и кратность экстракции) с помощью ЖЖЭ этилацетатом при pH 9,0 трехкратно в течение 7 мин.

2. Оптимизированы методики изолирования эмтрицитабина из биологических объектов: мочи, слюны и печени — с помощью ЖЖЭ. Валидационная оценка свидетельствует о пригодности предложенных методик. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) при оценке

сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости не превышала 3,8% для модельной смеси плазмы крови, 5,7% для модельной смеси мочи, 3,6% для модельной смеси слюны, 5,4% для модельной смеси печени.

3. Оптимизированы методики идентификации и количественного определения эмтрицитабина в извлечениях из плазмы, мочи, слюны и печени методами УФ-спектрофотометрии с максимумом поглощения при λ=291±1 нм и ВЭЖХ (пик с временем удерживания 26 мин).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Пядушкина Е.А., Игнатьева В.И., Омельяновский В.В. Сравнительный клинико-экономический анализ применения нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы в форме фиксированных комбинаций доз у пациентов без опыта антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции. *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. 2014;2:66.
Pyadushkina YeA, Ignatyeva VI, Omelyanovskiy VV. Compraritive clinical and economic analysis of the use of nucleoside reverse transcriptase inhibitor in the form of fixed dose combination with the patients who have no experience in anti-retroviral therapy of aids. *Meditsinskie tekhnologii. Otsenka i vybor.* 2014;2:66. (In Russ.).
2. Вергейчик Т.Х. *Токсикологическая химия: учебное пособие*. М.: МЕД-Пресс-информ; 2012.
Vergeychik TKh. *Toksikologicheskaya khimiya: uchebnoye posobiye*. M.: MEDPress-inform; 2012. (In Russ.).
3. Шорманов В.К., Цацуа Е.П., Асташкина А.П. Определение 2,4-дитрет-бутилгидроксибензола при химико-токсикологическом исследовании биологического материала. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2017;4:34-39.
Shormanov VK, Tsatsua EP, Astashkina AP. The determination of 2,4-ditret-butyl hydroxybenzene for the purpose of the chemical toxicological study of the biological materials. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza.* 2017;4:34-39. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed201760434-39
4. Ремезова И.П., Лазарян Д.С., Воронков А.В., Авраменко Н.С., Максименко Т.И., Санжиева Д.Ю. Химико-токсикологический анализ сертиндола. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2016;59(1):35-39.
Remezova IP, Lazaryan DS, Voronkov AV, Avramenko NS, Maksimenko TI, Sanzhiyeva DYu. The chemical toxicological analysis of sertindole. *Sudebno-meditsinskaya.* 2016;59(1):35-39. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed201659135-39
5. Шорманов В.К., Щербаков Д.П. Определение 2,4-ди-трет-бутилгидроксибензола при химико-токсикологическом исследовании биологического материала. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2021;3:34-40.
Shormanov VK, Shcherbakov DP. Determination of thiabendazole in the conditions of chemical and toxicological analysis of biomaterial. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza.* 2021;3:34-40. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed20216403134
6. Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетенева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. *Методические рекомендации по валидации аналитических методик, используемых в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе биологического материала: Методические рекомендации*. Под ред. Калекина Р.А. М.: РЦСМЭ; 2014.
Barsegyan SS, Salomatin YeM, Pleteneva TV, Maksimova TV, Dolinkin AO. *Metodicheskiye rekomendatsii po validatsii analiticheskikh metodik, ispolzuyemykh v sudebno-khimicheskom i khimiko-toksikologicheskom analize biologicheskogo materiala: Metodicheskiye rekomendatsii*. Pod red. Kalekina R.A. M.: RTSSME; 2014. (In Russ.).
7. Комаров Т.Н., Белова М.В., Столярова Д.Д., Шохин И.Е., Богданова Д.С., Мискив О.А., Медведев Ю.В., Коренская И.М. Химико-токсикологический анализ антиретровирусных препаратов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(4):53-60.
Komarov TN, Belova MV, Stolyarova DD, Shokhin IYe, Bogdanova DS, Miskiv OA, Medvedev YuV, Korenskaya IM. Chemical and Toxicological Analysis of Antiretroviral Drugs. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2019;8(4):53-60. (In Russ.).
https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-4-53-60

Поступила 14.09.2022
Received 14.09.2022
Принята к печати 13.10.2022
Accepted 13.10.2022