

## Определение фелодипина в биологических жидкостях

Лексо Лорикович Квачахия, Владимир Камбулатович Шорманов\*,  
Николай Сергеевич Кононенко

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, Россия

### Реферат

**Цель.** Разработка методик определения фелодипина в крови и плазме крови.

**Методы.** Объект исследования — фелодипин [3-этил-5-метил-4-(2,3-дихлорофенил)-2,6-диметил-1,4-дигидропиридина-3,5-дикарбоксилат]. Эксперименты проводили на модельных смесях фелодипина с кровью и плазмой крови человека. В качестве изолирующего агента для извлечения фелодипина из биологических жидкостей предложен ацетон. Для идентификации и количественного определения фелодипина в извлечениях из крови и плазмы крови предложены методы тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и газо-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией.

**Результаты.** Показана возможность применения ацетона в качестве изолирующего агента для извлечения фелодипина из биологических жидкостей. Установлено, что оптимальные условия извлечения фелодипина ацетоном достигаются уже при 2-кратном настаивании биологического объекта с изолирующим агентом, если массовое соотношение изолирующей жидкости и биологического материала на каждом этапе настаивания составляет не менее 2:1, а продолжительность настаивания — минимум 30 мин. Оптимальные условия очистки фелодипина достигались в макроколонке (15×1 см) сорбента «Силасорб С-18» 30 мкм при элюировании вещества полярным элюентом ацетонитрил-вода (7:3). Разработаны методики определения фелодипина в крови и плазме крови. При содержании фелодипина в количестве 25 мг в 25 г биологической жидкости разработанные методики позволяют определять в крови 86,01–87,86%, в плазме крови 95,64–96,18% данного вещества. Значения предела обнаружения фелодипина в крови и плазме крови разработанными методиками составляют 200 мкг/100 г и 150 мкг/100 г соответственно.

**Вывод.** Разработаны методики определения фелодипина в биологических жидкостях на основе изолирования ацетоном и очистки в колонке сорбента «Силасорб С-18»; используя данные методики, удаётся определить до 87,86% аналита в крови и до 96,18% в плазме крови.

**Ключевые слова:** фелодипин, биологические жидкости, идентификация и определение.

**Для цитирования:** Квачахия Л.Л., Шорманов В.К., Кононенко Н.С. Определение фелодипина в биологических жидкостях. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (4): 650–656. DOI: 10.17816/KMJ2019-650.

### Determination of felodipine in biological fluids

L.L. Kvachakhiya, V.K. Shormanov, N.S. Kononenko  
Kursk State Medical University, Kursk, Russia

### Abstract

**Aim.** Development of methods for the determination of felodipine in blood and plasma.

**Methods.** The study object was felodipine [3-ethyl-5-methyl-4-(2,3-dichlorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate]. The experiments were carried out on model mixtures of felodipine with blood and human blood plasma. Acetone was proposed as an isolating agent for the extraction of felodipine from biological fluids. To identify and quantify felodipine in extracts from blood and plasma, the methods of thin-layer chromatography, spectrophotometry and gas-liquid chromatography in combination with mass spectrometry were proposed.

**Results.** The possibility of using acetone as an isolating agent to extract felodipine from biological fluids is demonstrated. The optimal conditions for the extraction of felodipine with acetone were found to be achieved already at 2-fold infusion of a biological object with an isolating agent, if the mass ratio of isolating liquid and biological material at each infusion stage is at least 2:1, and the infusion time is at least 30 minutes. Optimal

felodipine purification conditions were achieved in a macrocolumn (15×1 cm) of Silasorb S-18 sorbent of 30 μm with elution of the substance with the polar eluent acetonitrile-water (7:3). The methods of determining felodipine in the blood and plasma were developed. With the content of felodipine of 25 mg in 25 g of biological fluid, the developed methods allow determining 86.01–87.86% in blood and 95.64–96.18% of the substance in blood plasma. The values of the detection limit of felodipine in the blood and plasma by the developed methods are 200 μg/100 g and 150 μg/100 g, respectively.

**Conclusion.** Methods for the determination of felodipine in biological fluids were developed based on isolating with acetone and purification in the Silasorb S-18 sorbent column; use of these methods allows determining up to 87.86% of the analyte in the blood and up to 96.18% in the blood plasma.

**Keywords:** felodipine, biological fluids, identification and determination.

**For citation:** Kvachakhiya L.L., Shormanov V.K., Kononenko N.S. Determination of felodipine in biological fluids. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (4): 650–656. DOI: 10.17816/KMJ2019-650.

Фелодипин [3-этил-5-метил-4-(2,3-дихлорофенил)-2,6-диметил-1,4-дигидропиридина-3,5-дикарбоксилат (IUPAC); другие названия: 3-этил-5-метил-4-(2,3-дихлорофенил)-2,6-диметил-1,4-дигидро-3,5-пиридиндикарбоксилат, (±)-этилметил-4-(2,3-дихлорофенил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-3,5-пиридиндикарбоксилат, 4-(2,3-дихлорофенил)-1,4-дигидро-2,6-диметил-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты этилметилэфира] — один из представителей группы дигидропиридиновых блокаторов кальциевых каналов II поколения, к которой также относятся нифедипин, амлодипин и исрадипин. Фелодипин применяют в лечебной практике для лечения артериальной гипертензии [1, 2].

В основе действия рассматриваемого соединения лежит блокада притока ионов кальция в гладкие мышцы сосудов и клетки сердечной мышцы во время деполяризации [1, 3].

Фелодипин представляет собой светло-жёлтый кристаллический порошок с температурой плавления 142–145 °C [2], нерастворимый в воде (19,7 мг/л), хорошо растворимый в дихлорметане и этаноле. Определена возможность растворения данного анализа в жидком и сверхкритическом диоксиде углерода при различных температуре и давлении [3, 4]. log P (октанол-вода) фелодипина 3,86 [3]. pK<sub>a</sub> фелодипина, определённое спектрофотометрическим методом, составляет 5,07 [5].

Фелодипин и ряд других блокаторов кальциевых каналов токсичны для теплокровных и могут стать причиной отравлений различной степени тяжести [6]. Описан ряд летальных отравлений людей фелодипином [6–8].

Его полуметаллическая доза (мг/кг) для мышей при пероральном введении — 250, при внутривенном — 3,1, при внутрибрюшинном — 76, при подкожном — 205; для крыс при пероральном введении — 1050, при внутривенном — 5,4, при внутрибрюшинном — 23, при подкожном

— >600; для собак при пероральном введении — 200 [3].

В качестве основного метаболита фелодипина называют дегидрофелодипин. Изолирование фелодипина из плазмы крови человека можно проводить смесью диэтиловый эфир-гексан (1:1 по объёму). Определение данного вещества в извлечении осуществляют методом жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией, используя колонку Hypersil BOS-C18 (150 мм×2,1 мм, 5 мкм), элюент ацетонитрил-0,1% муравьиной кислоты (12:88 по объёму) и принцип распылительной ионизации [9].

Для определения фелодипина в плазме крови человека применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке с привитой фазой C-18 при элюировании мицеллярной подвижной фазой (значение отрицательного логарифма концентрации водородных ионов 7), состоящей из 85 мМ додецилсульфата натрия, 25 мМ фосфатного буфера и 6,5% пентанола при флюориметрическом детектировании [10].

Описана возможность извлечения фелодипина из плазмы крови человека смесью диэтилового эфира и гексана (80:20 по объёму) для дальнейшего определения анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией [11].

Известна методика выделения рассматриваемого соединения из плазмы крови собаки путём обработки биожидкости метанолом, очистки на предколонке и последующего определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией в колонке ZORBAX SB-C<sub>18</sub> [12].

В качестве изолирующих агентов для извлечения блокаторов кальциевых каналов, производных 1,4-дигидропиридина, к которым относится и фелодипин, из крови и тканей трупных органов описаны хлороформ и ацетон [13].

Недостаточно высокая степень извлечения фелодипина из биологического материала и очистки от соэкстрактивных веществ биологических матриц характеризует универсальный метод пробоподготовки QuEChERS [14].

Активное применение фелодипина в отечественной и зарубежной медицине, наличие у него токсических свойств, летальные исходы при отравлениях этим соединением определяют его важное судебно-химическое значение.

Вопросы идентификации и количественного определения фелодипина в биологических жидкостях разработаны недостаточно.

Цель исследования — разработка методик определения фелодипина в крови и плазме крови.

Как объект исследования рассмотрен фелодипин [3-этил-5-метил-4-(2,3-дихлорофенил)-2,6-диметил-1,4-дигидропиридина-3,5-дикарбоксилат], соответствующий требованиям фармакопейной статьи предприятия 42-9597-08.

Для извлечения фелодипина из крови и плазмы крови испытывали вариант настаивания с ацетоном, ранее показавшим хорошие результаты изолирования других производных 1,4-дигидропиридина.

Эксперименты проводили на модельных смесях фелодипина с кровью и плазмой крови человека, которые выдерживали полтора часа при 18–22 °С. Исследовали зависимость степени извлечения фелодипина из биологических жидкостей от кратности и продолжительности настаивания с ацетоном, определяли необходимый избыток изолирующего агента по отношению к биологическому объекту [15].

Часть извлечения хроматографировали на пластинах для высокоэффективной тонкослойной хроматографии с подложкой из алюминиевой фольги «Сорбфил» с люминесцентным индикатором фирмы «Имид» (г. Краснодар); элюент — гексан-ацетон (7:3 по объёму). В свете ультрафиолетового облучателя фелодипин обнаруживался в виде тёмного пятна с величиной абсолютной хроматографической подвижности  $0,45 \pm 0,03$ . Его извлекали из сорбента гидрофильным элюентом и идентифицировали по характеру электронного спектра элюата. По оптической плотности элюата в области 363 нм (спектрофотометр модели 2000 фирмы «Ленинградское оптико-механическое объединение», г. Санкт-Петербург) определяли количество фелодипина, используя уравнение градуировочного графика.

Извлекаемый фелодипин очищали в макролонке сорбента с привитой фазой, используя полярный элюент.

В дальнейшем принимали во внимание, что судебно-химическое исследование обязательно

включает этап предварительных исследований и этап подтверждающих исследований.

Методом предварительной идентификации служила тонкослойная хроматография (пластины «Сорбфил»). Хроматографировали в цилиндрических стеклянных камерах вместимостью около 600 см<sup>3</sup>.

Этап подтверждающих исследований включал применение двух физико-химических методов.

Одним из вариантов подтверждающей идентификации служила электронная спектрофотометрия (спектрофотометр модели 2000, растворяющая среда — этанол, волновой диапазон 200–400 нм, толщина поглощающего слоя 1 см). Этот метод использовали и для количественного определения фелодипина.

Для подтверждающей идентификации применяли также метод газо-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (хроматограф «Agilent Technologies» 6890 Network Gas Chromatography System, США) с масс-селективным детектором 5973 Network (США). Фрагментация молекул проводилась электронным ударом с энергией 70 эВ, сигнал регистрировали по полному ионному току, диапазон сканирования составлял 40–550 m/z.

Установлена целесообразность изолирования фелодипина из биологического материала ацетоном.

Использование ацетона в качестве изолирующего агента имеет преимущество в том, что с его помощью можно достигать более высокой степени извлечения производных 1,4-дигидропиридина (к которым относится, в частности, фелодипин) из биологических жидкостей по сравнению с употребляемыми изолирующими агентами (хлороформом, дихлорметаном, этилацетатом, эфиром), а также ацетонитрилом (рекомендуемым универсальным методом КВЭЧЕРС).

Проведённые нами эксперименты показали, что особенно заметны преимущества ацетона в сравнении с общеупотребительными изолирующими агентами при извлечении производных 1,4-дигидропиридина из биологических матриц с большим содержанием плотного биологического субстрата, таких как ткани органов трупа и кровь.

Ацетон в отличие от гидрофобных и ряда гидролипофильных экстрагентов в процессе инфузии осаждает большую часть эндогенных веществ биоматрицы, обеспечивая достаточно простую и эффективную предварительную очистку анализа от соэкстрагирующихся веществ, и не требует, как ацетонитрил, насыщения системы электролитами для достижения

уровня очистки, сравнимой с той, которая достигается ацетоном. Преимущества ацетона как изолирующего агента ещё и в том, что он способен разрушать оболочки клеток и способствовать извлечению анализа, находящегося не только в плазме, но и в форменных элементах крови или клетках тканей органов трупа.

К тому же ацетон даёт хорошие результаты изолирования не только из «свежего», но и гнило-лостно изменённого биологического (трупного) материала, который отличается высокими значениями водородного показателя (рН) среды.

Изолирование анализа сводилось к тому, что некоторое количество крови или плазмы крови настаивали дважды по полчаса с ацетоном, количество которого в 2 раза превышало по массе количество биологической жидкости. Первое и второе извлечения объединяли в чашке для выпаривания, её помещали в ток воздуха с комнатной температурой и испаряли растворяющую среду.

Эффективная очистка фелодипина достигалась в макроколонке (15×1 см) сорбента «Силасорб С-18» 30 мкм при элюировании вещества смесью ацетонитрил-вода (7:3).

Процесс очистки сводился к тому, что к остатку в выпарительной чашке, полученному после изолирования, приливали 2–2,5 мл смеси ацетонитрил-вода (7:3). Раствор вводили в макроколонку и проводили процесс вымывания (элюирования) фелодипина.

Истекающий из колонки элюат фракциями по 2 мл собирали в отдельные градуированные пробирки. Присутствие фелодипина во фракциях определяли методом тонкослойной хроматографии: пластины «Сорбфил», подвижная фаза гексан-ацетон (7:3), наносимый объём 5–10 мкл, способ детектирования — облучение ультрафиолетовым светом (254 нм).

Обнаружение на хроматограмме пятен с абсолютной хроматографической подвижностью  $0,45 \pm 0,03$  позволяло говорить о присутствии фелодипина в исследованных фракциях элюата.

Группу фракций элюата с 9-й по 11-ю, в которых присутствовал фелодипин, объединяли в выпарительной чашке и удаляли растворитель в токе воздуха комнатной температуры. Остаток растворяли в 5 мл этанола (раствор для анализа).

По 0,5–2,5 мл раствора для анализа вносили в выпарительные чашки №1 и №2, затем испаряли растворитель из чашек в токе воздуха комнатной температуры.

Для идентификации методом тонкослойной хроматографии предложено использование среднеполярной подвижной фазы гексан-ацетон (7:3). Проводя идентификацию, остаток в чашке

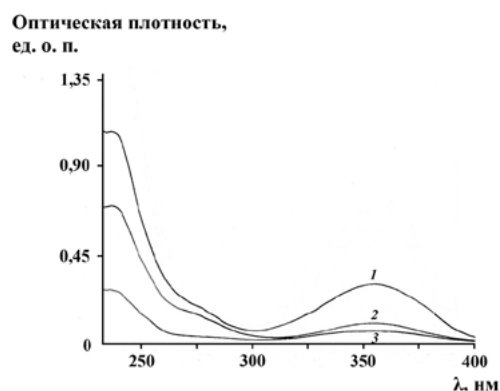


Рис. 1. Спектральные кривые фелодипина в этаноле: 1 — 0,0015% раствор стандартного образца; 2 — раствор вещества, изолированного из плазмы крови; 3 — раствор вещества, изолированного из крови

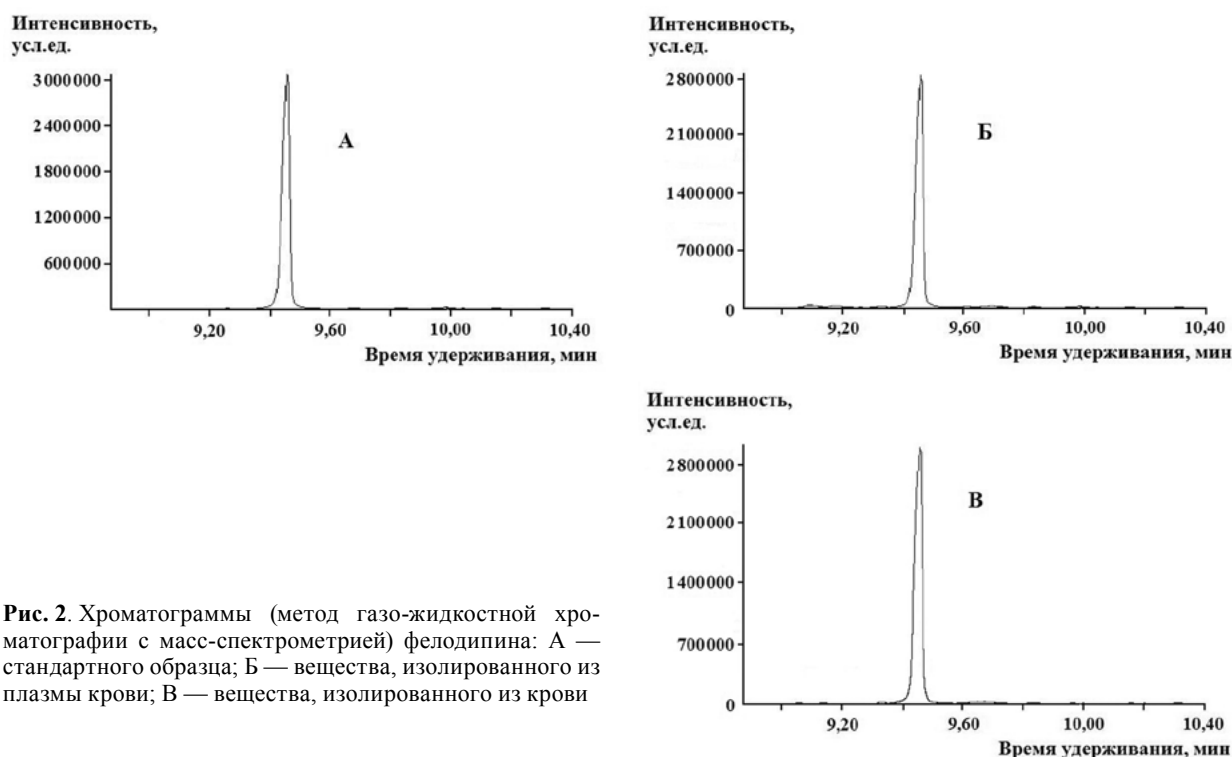
№1 растворяли в 0,5 мл этанола, количественно переносили этот раствор в виде полосы на линию старта хроматографической пластины. Рядом (в одну точку) наносили 5–10 мкл 0,2% этанольного раствора вещества-стандарта.

После окончания хроматографирования получаемые хроматограммы высушивали и облучали ультрафиолетовым светом (длина волны 254 нм). Фелодипин (пятна тёмного цвета) идентифицировали по величине абсолютной хроматографической подвижности ( $0,45 \pm 0,03$ ).

Для идентификации изолированного вещества методом спектрофотометрии участок хроматограммы с пятном вещества вырезали, помещали в пробирку и элюировали вещество 5 или 10 мл этанола в течение 15 мин при эпизодическом встряхивании пробирки. Светопоглощение элюата исследовали в выбранном диапазоне.

Спектральные кривые анализа, извлечённого из биологических жидкостей и очищенного по предлагаемой схеме, по форме и положению точек экстремумов практически совпадали со спектральной кривой фелодипина-стандарта, что можно увидеть на рис. 1.

Экспериментально доказано отсутствие фелодипина в контрольных образцах крови и плазмы крови. Величина фонового поглощения элюатов из контрольных хроматограмм в области аналитической длины волны (363 нм) не превышала 0,14 (обусловлено присутствием в 1 мл фотометрируемого раствора эндогенных веществ из 0,5 г биоматрицы). Таким образом, очистка на колонке позволяет значительно уменьшить уровень фона, обусловливаемого присутствием эндогенных веществ биоматрицы в неочищенных извлечениях. В результате этого удаётся значительно снизить значения



**Рис. 2.** Хроматограммы (метод газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией) фелодипина: А — стандартного образца; Б — вещества, изолированного из плазмы крови; В — вещества, изолированного из крови

пределов обнаружения и определения аналита, обеспечив повышение чувствительности определения.

Идентификацию фелодипина методом газо-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией проводили с использованием колонки DB-1MS [30 м×0,25 мм, толщина слоя неподвижной фазы (диметилполисилоксана) 0,25 мкм]. При проведении определения: температура инжектора составляла 280 °С, интерфейса детектора — 300 °С, начальная температура колонки (80 °С) выдерживалась 2,0 мин, затем увеличивалась со скоростью 40 °С/мин до конечной температуры (250 °С), которую удерживали 6 мин. Подвижной фазой служил гелий, его линейная скорость составляла 0,39 м/с. При идентификации остаток в чашке №2 растворяли в 2 мл дихлорметана и вводили 4 мкл этого раствора в хроматограф без деления потока с задержкой 3 мин.

На рис. 2 и 3 представлены хроматограммы и масс-спектры стандарта фелодипина, а также фелодипина, извлечённого из крови и плазмы крови.

Как видно из представленных рисунков, формы пиков на хроматограммах и масс-спектров свидетельствуют в пользу хорошей очистки аналита в рамках задач предлагаемой методики.

Результаты, полученные при идентификации рассматриваемого вещества методом га-

зо-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией, указывают на то обстоятельство, что значения времени удерживания фелодипина, извлечённого из биологических жидкостей, и фелодипина-стандарта практически совпадали и соответствовали интервалу 9,34–9,58 мин.

На хроматограммах исследуемого соединения в области значений времени удерживания 8,45–10,55 мин не отмечено присутствия (по сравнению с хроматограммой вещества-стандарта) дополнительных пиков и заметного смещения базовой линии.

В масс-спектрах вещества, извлечённого из биологических жидкостей, присутствовали сигналы характерных для структуры фелодипина положительно заряженных частиц с массами ( $m/Z$ ) 42, 67, 106, 150, 178, 210, 238, 280, 310, 338, 354, 383. Среди них основной ион — 238, молекулярный — 338.

По оптической плотности этанольного элюата в области 363 нм определяли количество фелодипина спектрофотометрическим методом.

Разработанные и валидированные методики количественного определения фелодипина в биологических жидкостях (крови и плазме крови) на основе использования спектрофотометрии удовлетворяли критериям линейности, правильности, прецизионности и селективности.

Пределы обнаружения фелодипина в крови и плазме крови составили соответствен-

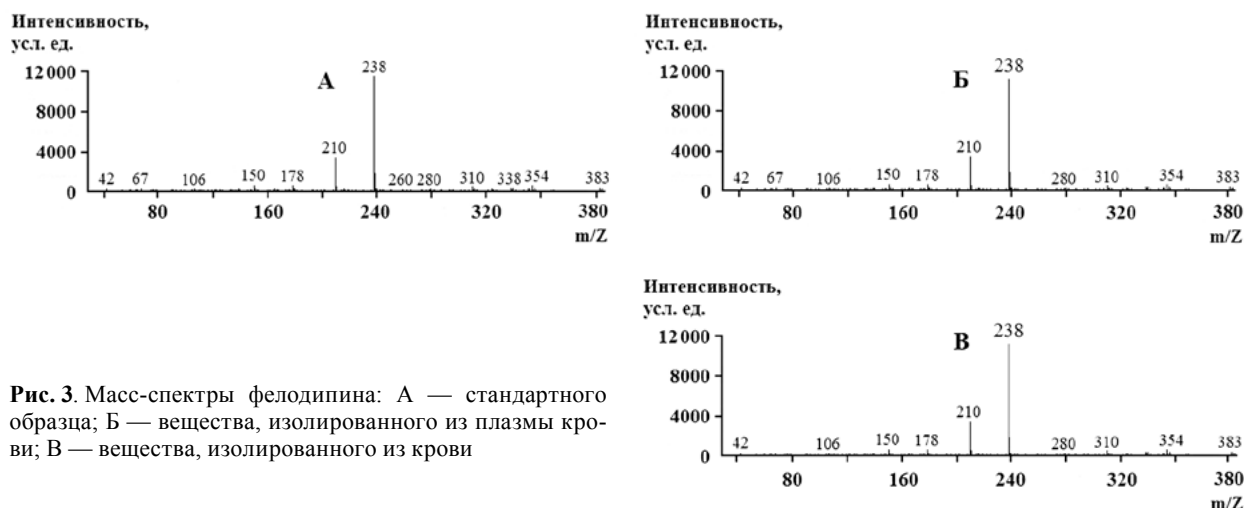


Таблица 1. Результаты количественного определения фелодипина в модельных смесях с биологическими объектами

Внесено фелодипина, мг/25 г биологического объекта	Найдено, % (n=5; p=0,95)			
	$\bar{x}$	S	S <sub>x</sub>	$\Delta\bar{x}$
в крови				
1,25	87,32	3,17	1,42	3,94
2,50	86,93	2,75	1,23	3,42
10,00	87,37	2,40	1,07	2,98
25,00	86,01	2,30	1,03	2,86
50,00	87,86	2,21	0,99	2,75
в плазме крови				
1,25	95,24	2,91	1,30	3,62
2,50	96,12	2,42	1,09	3,02
10,00	95,83	2,08	0,93	2,58
25,00	96,02	1,95	0,87	2,42
50,00	96,18	1,92	0,86	2,39

но 200 мкг/100 г и 150 мкг/100 г, пределы количественного определения — 400 мкг/100 г и 300 мкг/100 г.

Количественная оценка присутствия данного соединения в крови и плазме крови представлена в табл. 1.

Как показывают результаты, изменение содержания фелодипина в модельных смесях от 1,25 до 50,0 мг при постоянных массах навесок биологических жидкостей (25 г) сопровождается изменением среднего значения степени извлечения, не превышающим 1,85% для крови и 0,94% для плазмы крови. При содержании фелодипина в количестве 25 мг в 25 г биожидкости разработанные методики позволяют определить в крови 86,01–87,86%, а в плазме крови 95,64–96,18% данного вещества.

Таким образом, разработанные методики можно применять при исследовании био-

логических жидкостей на присутствие в них фелодипина.

### ВЫВОДЫ

1. В качестве изолирующего агента рассмотрен ацетон. Оптимальными для изолирования фелодипина из биологических жидкостей признаны: настаивание с ацетоном (2 раза по 30 мин) и минимальное массовое отношение «ацетон-биоматериал» 2:1.

2. Эффективность очистки аналита достигнута в колонке сорбента «Силасорб С-18». Идентификацию фелодипина проводили методами тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и газо-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Для оценки количественного содержания исследуемого вещества предложена спектрофотометрия по поглощению в этаноле.

3. Разработанные методики определения фелодипина на основе изолирования ацетоном и очистки в колонке сорбента «Силасорб С-18» позволяют определить в крови до 87,86% и в плазме крови до 96,18% анализируемого соединения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. *Лекарственные средства*. 16-е издание. М.: Новая Волна. 2012; 1216 с. [Mashkovskiy M.D. *Lekarstvennyye sredstva*. (Medicinal agents.) Ed. 16. Moscow: Novaya Volna. 2012; 1216 p. (In Russ.)]
2. *Felodipine*. *Chemical Book*. Available at: [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB4300661.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB4300661.htm) (access date 25.12.2018).
3. *Felodipine*. *ChemIDplus* (A TOXNET DATABASE). Available at: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/72509-76-3> (access date 25.12.2018).
4. Weinstein R.D., Hanlon W.H., Donohue J.P. et al. Solubility of Felodipine and Nitrendipine in liquid and supercritical Carbon Dioxide by cloud point and UV Spectroscopy. *J. Chem. Eng.* 2007; 52 (1): 256–260. DOI: 10.1021/je0603729.
5. Pandey M.M., Jaipal A., Kumar A. et al. Determination of pK(a) of felodipine using UV-Visible spectroscopy. *Spectrochimica Acta. Part A, Mol. Biomolecular Spectroscopy*. 2013; 115: 887–890. DOI: 10.1016/j.saa.2013.07.001.
6. St-Onge M., Dubé P.-A., Gosselin S. et al. Treatment for calcium channel blocker poisoning: A systematic review. *Clin. Toxicol. (Phila.)*. 2014; 52 (9): 926–944. DOI: 10.3109/15563650.2014.965827.
7. Deters M., Friesecke S., Hentschel H. Fatal poisoning caused by felodipine. *Clin. Toxicol.* 2010; 48: 281–285.
8. Lota H., Powell N., Negus R. et al. A case of fatal felodipine overdose. *Acute med.* 2008; 7 (1): 39–42.
9. Yu P., Cheng H., Liu Z. et al. LC-MS/MS determination of felodipine in human plasma. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2012; 32 (1): 35–39.
10. Walsh M., Belal F., El-Enany N., Zayed S. Micellar liquid chromatographic determination of felodipine in tablets and human plasma with fluorescence detection: Application to stability studies and content uniformity testing. *Analytical methods*. 2014; 6 (10): 3401–3409. DOI: 10.1039/c3ay41570h.
11. Migliorança L.H., Barrientos-Astigarraga R.E., Schug B.S. et al. Felodipine quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 814 (2): 217–223. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.10.032.
12. Chen M., Zhou J., Mei L. et al. Simultaneous determination of Felodipine and Metoprolol in beagle dog plasma by online SPE-LC-MS/MS and its application in a pharmacokinetic study. *Analytical Sci.* 2017; 33 (7): 755–759. DOI: 10.2116/analsci.33.755.
13. Квачахия Л.Л., Шорманов В.К. Идентификация нифедипина в биологических жидкостях. *Фармация*. 2013; 62 (8): 16–19. [Kvachahiya L.L., Shormanov V.K. Identification of nifedipine in biological fluids. *Farmatsiya*. 2013; 62 (8): 16–19. (In Russ.)]
14. Sun H., Ai L., Wang F. Quantitative Analysis of Sulfonamide residues in Natural Animal Casings by HPLC. *Chromatographia*. 2007; 66 (5–6): 333–337. DOI: 10.1365/s10337-007-0329-0.
15. Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П. и др. Определение карбофурана при судебно-химическом исследовании биологического материала. *Суд.-мед. экспертиза*. 2013; 56 (4): 30–34. [Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Duritsyn E.P. et al. Determination of carbofuran in the forensic chemical study of biological material. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2013; 56 (4): 30–34. (In Russ.)]