

АНАЛИЗ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ОСНОВНОГО ХАРАКТЕРА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Хомов Ю. А.¹, Фомин А. Н.²

1. ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия (614000, г. Пермь, ул. Полевая, 2), homov@pfa.ru

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

Капиллярный электрофорез (КЭ) как современный и быстроразвивающийся метод широко применяется особенно за рубежом в аналитической практике лекарственных азотсодержащих веществ основного характера (АССОХ), в том числе и в биологических средах. В статье на основе литературных данных выделены и систематизированы варианты и направления использования КЭ, дается оценка метода и область применения, прежде всего, в анализе фармацевтических препаратов, а также лекарственных АССОХ для определения и количественной оценки нативного вещества и его метаболитов в биологических жидкостях, определения нелетучих примесей, энантиомеров, проведения скрининга. При сравнении результатов исследования (с методом жидкостной хроматографии) КЭ признан авторами более перспективным для АССОХ. Многочисленная зарубежная литература и увеличение количества публикаций отечественных авторов в научных журналах служит подтверждением актуальности и значимости метода КЭ в анализе АССОХ.

Ключевые слова: азотсодержащие соединения основного характера (АССОХ), капиллярный электрофорез (КЭ), варианты, направления использования.

THE ANALYSIS OF NITROGEN CONTAINING FORMATIONS WITH BASIC PROPERTIES BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Khomov Y. A.¹, Fomin A. N.²

1. Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614081, Polevaya st 2), homov@pfa.ru

2. Jaroslavl State Medical Academy, Jaroslavl, Russia (150000, Jaroslavl, Revolyutsionnaya st. 5)

The capillary electrophoresis (CE) is the modern and high-growth method which is widely applied especially abroad in analytical practice of medicinal nitrogen containing formations with basic properties (NCFBP) including in biological samples. The variants and directions of the usage of CE are selected and systematized in the article based on literary data. Also the estimation of the method and its scope are described first of all in analysis of pharmaceutical preparations and also of the medicinal NCFBP for determination and quantitative estimation of the native substance and its metabolites in biological fluids, for determination of nonvolatile impurities, enantiomers and for carrying out of screening. CE is recognized by authors as the more perspective for NCFBP at comparison of the results of research (with method of liquid chromatography). Numerous foreign literature and increase in number of publications of domestic authors in scientific magazines serve as urgency confirmation and importance of the method of CE in analysis of NCFBP.

Key words: nitrogen containing formations with basic properties (NCFBP), capillary electrophoresis (CE), variants, directions of the usage.

В анализе азотсодержащих соединений основного характера (АССОХ), в том числе лекарственных средств, находит всё более широкое применение, особенно в зарубежной аналитической практике, метод капиллярного электрофореза (КЭ). Принципы, терминология и оценка метода КЭ были показаны нами ранее [7]. Наряду с известными способами **детектирования** в последнее время получают широкое распространение современные варианты. Описан новый и простой способ определения норфлоксацина, ципрофлоксина и офлакссацина КЭ с хемилюменисцентным детектированием. Методика нашла применение

для определения офлоксацина в глазных каплях, норфлоксацина в образцах мочи человека для изучения фармакокинетики препарата [9].

Капиллярный электрофорез – масс-спектрометрия (КЭ/МС) – рекомендована для фармацевтических и биотехнологических исследований [52], использована для разработки методики определения карнитина и ацилкарнитинов (его эфиров), играющих важную роль в метаболизме жирных кислот. По уровню этих компонентов в биологических жидкостях можно судить о нарушении метаболизма при проведении мониторинга. Изолирование из плазмы и мочи проводилось ТФЭ или ЖЖХ.

Лазерный флуорометрический детектор в КЭ, используемый для анализа трамадола [10], морфина [21], был применён и для быстрого анализа фуросемида в моче человека после ТФЭ. Высокая чувствительность методики позволяет определять терапевтические дозы и предложена для контроля мочи спортсменов [14].

Всё более широко применяется электроспрей ионизация масс-спектрометрия. Так, этот способ использован для количественного определения 20 натуральных аминокислот в стандартных микстурах и в детской плазме крови без дериватизации. Предел определения 3 – 20 мМ/л [42].

Метод успешно применён для совместного анализа катехоламинов (допамин, норэпинефрин, эпинефрин) и их О-метокси метаболитов (3-метокситирамин, норметанефрин и метанефрин) в образцах мочи здоровых волонтеров. Для пробоподготовки и концентрирования использованы катионообменные сорбенты [18].

Разработаны и предложены практические рекомендации по увеличению чувствительности скрещено-лучевого термолинзового детектирования в капиллярных электромиграционных методах [2], которые включают использование водно-органических растворов фонового электролита вместо водной среды.

Диодно-матричное детектирование описано для КЭ 2 местных анестетиков (лидокаин и бупивакаин) и 2 опийных алкалоидов носкапин и папаверин в образах мочи [41]; десяти амфетаминов в цельной человеческой крови [65].

Неводный КЭ. Кроме водного КЭ, всё более широко развивается направление неводного или безводного КЭ. Применение этого варианта помогает решить проблему КЭ анализа для лекарственных веществ, нерастворимых или труднорастворимых в воде. Использование органических растворителей и их смесей в КЭ заслуживает большого внимания и может широко использоваться в анализе фармацевтических препаратов, стереоизомеров, а также в биологических анализах; имеет преимущества по сравнению с водным КЭ и будущие перспективы [59, 70].

Способ неводного КЭ был применён для анализа энантимеров салбутанола в моче, после изолирования ТФЭ [48]; катехоламинов после их дериватизации [47]; для алкалоидов: берберина и ятрептизина с использованием приёма стекинга [43] и др.

Метод неводного КЭ с УФ- и электроспреей масс-спектрометрией предложен для одновременного анализа экстази и других производных амфетамина. Наилучшие результаты были получены в смеси ацетонитрил - метанол (80:20) с добавлением 25 мМ аммония формиата, 1М раствора муравьиной кислоты, при 30 кВ и 15 °С. Метод успешно применён для анализа амфетаминов в моче после ЖЖЭ [33].

Описана и валидирована методика определения флуоксетина и его главного метаболита норфлуоксетина неводным КЭ в системе метанол – ацетонитрил, содержащей 15 мМ аммония ацетата при 25° С и 25 кВ. Внутренний стандарт – проксетин. Методика использована для клинических целей при определении уровня концентрации флуоксетина и его метаболита в моче, после ТФЭ, с последующим элюированием веществ метанолом [24].

Быстрый вариант определения 3,4-метилендиоксиметамфетамина неводным КЭ и флуоресцентным детектированием в сочетании с ГХ/МС анализом в моче, после ЖЖЭ полезен и пригоден для использования в судебно-химическом анализе [57].

Возможности неводного КЭ были использованы для разделения смеси тамоксифена, имипрамина и их главных метаболитов (4-гидрокситамоксифен и дезимипрамин) в 17 мМ аммония ацетата и 1,25 % раствора уксусной кислоты (80:20), метанол и ацетонитрил; 15 кВ. Внутренний стандарт – пароксетин. Метод использован в клинической практике для определения их уровня в моче, после изолирования и очистки ТФЭ [46].

Прямое введение без пробоподготовки. Развивается направление прямого исследования пробы КЭ без предварительной экстракции и концентрирования биологических объектов. Прямое определение диуретических лекарств в моче КЭ при флуоресцентном детектировании описано для амилорида, триамтерена, бендрофлуметиазида и буметанида [34]. Методика прямого определения разработана для анализа новых цефалоспориновых антибиотиков (цефалексин, цефсулодин, цефотаксим, цефамандол, цефуроксим, цефодизим) в моче и желчи [19]. КЭ с высокочувствительным Z капилляром предложен для анализа тиамин в биологических средах (плазма, моча, слюна). Образцы мочи разбавляли водой 1:1 и напрямую вводили в прибор. Образцы плазмы предварительно обрабатывали ацетонитрилом (1:3) для осаждения белков [45].

Приём стекинга. Чувствительность метода КЭ может быть существенно повышена за счёт концентрирования образца непосредственно в капилляре. Одним из наиболее общих подходов к увеличению концентрационной чувствительности в КЭ является приём стекинга.

Стекинг был применён для анализа амитриптилина и его метаболита нортриптилина КЭ в плазме человека. Буфер – Tris (1,4 М рН 4,5), содержащий β- циклодекстрин 1 мМ и 50 % (v/v)этиленгликоля. Методика использована для анализа реальных образцов крови пациента и для изучения фармакокинетики амитриптилина [49]. Комбинация КЭ и масс-спектрометрии в сочетании с ТФЭ использована для идентификации никотина и его метаболитов в моче. Приём стекинга позволил определить никотин и котинин по этой технике в моче курильщиков 0,55 и 11,25 нг/мл соответственно [22]. КЭ с использованием стекинга был применён для определения метформина в плазме. Внутренним стандартом служил фенформин. Буфер – 0,1 М фосфатный рН 2,5, 20 кВ. УФ-детектирование при 195 нм. Предел определения 0,25 мкг/мл. Концентрация метформина в плазме была исследована у 8 волонтеров после приёма препарата в капсулах или таблетках [20].

КЭ с приёмом стекинга описан для совместного определения клозапина и его метаболитов клозапин N-оксида и дезметилклозапина в плазме больных шизофренией. 0,2 мл плазмы экстрагировали смесью этилацетата – н-гексана – изопропанола 8:1:1. После центрифугирования аликвоту упаривали и реконструировали водой для КЭ анализа. Буфер фосфатный рН 3,0, содержащий 50 % этиленгликоля; 25 кВ, детекция при 214 нм. После длительного применения клозапина таблеток образцы крови больных анализировали. Определяемый уровень клозапина и его метаболитов позволяет рекомендовать метод в клинической практике [31]. В развитие идеи стекинга предложен новый метод on-line концентрирования при капиллярно-электрофоретическом определении аминов и аминокислот [6].

Фармпрепараты. КЭ имеет первостепенное значение для разработки методик разделения, идентификации и количественного определения лекарственных АССОХ в фармацевтических препаратах и был применён для определения леводопы и карбидола в сложных таблетках [61]; цефалоспоринов в растворе для инъекций [51]; энантиомеров трамадола [68]; для разделения энантиомеров атропина [29]; хиральных композиций в таблетках пенициллина [67]; при определении субстанций, относящихся к героину [74]. Методика качественного и количественного определения водорастворимых витаминов в витаминно-минеральных комплексах методом КЭ разработана Богачук М. Н. с соавторами [3].

КЗЭ использован для разделения 6 антидепрессантов (кломипрамин, пароксетин, флуоксенин, цитолопрам, флуоксетин, и тразадон). Оптимальные условия: раствор электролита, содержащий 50мМ фосфатного буфера при рН 2,0; 25кВ. Предел обнаружения в интервале 0,03 до 11 мг/л. Методика валидирована по основным показателям и проверена в условиях анализа фармацевтических препаратов [25]. Для анализа и определения стабильности 14 цефалоспориновых антибиотиков в воде при различных температурах (+25°,

+4 ° и -18 °) применяли КЭ. Установлено, что деградация большинства цефалоспоринов не выше 20 % при комнатной температуре в течение 4 часов [32].

Suntornsuk L. [69] высказывает мнение о значении КЭ для развития производства лекарств и потенциально большом будущем этого метода в связи с высокой чувствительностью и эффективностью. Демонстрируется применение КЭ в фармацевтическом анализе, включая принципы, приборы и направления использования. Предложен новый подход к классификации вариантов КЭ.

Примеси. Капиллярный электрофорез применяется при определении нелетучих примесей в лекарственных АССОХ и фармацевтических препаратах. Рекомендована методика капиллярного электрофореза для определения N-метилпирролидина в качестве примеси и продукта деградации в цефепине гидрохлориде – субстанции для инъекций. Использован УФ-фотометрический вариант определения аналита при 240 нм, кварцевый капилляр, электролит – 5 мМ имидазола рН 5,1 с 3 М раствором уксусной кислоты, 25 кВ при температуре 25 °С [76]. МС детектор использован при определении D-карнитина в качестве энантиопримеси левокарнитина в фармацевтических препаратах [60]. Для отделения кислотных и основных примесей успешно использован безводный КЭ с масс-спектрометрическим детектированием [71].

Подходы к определению качества и безопасности лекарственных средств на основе методов низкомолекулярного гепарина, а также его примесей рассмотрены Ариановой Е. А. с соавторами [1].

Биологические жидкости. Из объектов анализа КЭ на АССОХ чаще используются биологические жидкости и прежде всего моча: для определения триамтерена, метотрексата и креатинина [13]; диуретиков – индапамида, гидрохлоротиазида и буметамида без преконцентрации проб с приёмом стекинга [8, 69]; катехоламинов и метанефринов [18]; хинолон-антибиотиков [40]; психотропных лекарств [39].

Важным направлением является определение КЭ метаболитов в моче: бупивакаина и его метаболитов [17]; омепразола и его метаболита 5-гидроксиомепразола [27]; совместный анализ кокаина и его метаболитов [62, 63]; антипсихотических лекарств (клозепин, локсапин) и их метаболитов [55]; офлоксацина и его метаболитов дезметилофлоксацина и офлоксацина N-оксида после прямого введения пробы в капилляр [36].

Тандем КЭ/электроспрей ионизации масс-спектрометрии применён для изучения процессов метаболизма нейрорептика галопиридола и может быть использован как инструмент аналитической диагностики [37].

КЭ при анализе плазмы был применён для определения: морфина без предварительной пробоподготовки [50]; сульфаметаксазола и триметоприн [64]; в сыворотке был анализирован ламивудин [30] и трициклические антидепрессанты [26].

Для определения лидокаина и его метаболитов в плазме применён неводный КЭ, УФ- и МС-детектирование [75]. Проведено определение метаболитов кокаина в пятнах крови, в следах пота и волосах [66].

Количественный биоанализ лекарственных энантиомеров проведён в плазме в тандеме КЭ и МС. Оптимизированы условия для фармакологического исследования [56]. Проведён терапевтический мониторинг антидепрессантов КЭ в биологических жидкостях с целью выяснения влияния веществ и их метаболитов на лечение депрессивных состояний [53]. Использование тандема КЭ/масс-спектрометрия и КЭ/электроспрей ионизация масс-спектрометрия позволяет определять морфин и опиоиды, их глюкурониды с целью мониторинга и токсикологического контроля мочи [78]. Образцы крови и мочи пациентов с различными метаболическими нарушениями анализировали КЭ. Наиболее высокую чувствительность показал вариант КЭ-МС-МС и рекомендован для проведения мониторинга как инструмент аналитической диагностики [54].

Энантиомеры. Hempel G., Blaschke G. [35] предложена методика стереоселективного определения зопиклона и его главных метаболитов в моче. После добавления внутреннего стандарта (золпидем) образцы мочи экстрагировали при рН 8 смесью хлороформ – изопропанол и аналиты анализировали КЭ с β -циклодекстрином в качестве хирального селектора, используя УФ-лазерно-флуоресцентное детектирование при 325 нм. Исследованы образцы мочи двух волонтеров после перорального применения 7,5 мг зопиклона. Энантиомеры зопиклона были количественно определены в слюне.

КЭ с УФ-детектированием был использован для изучения миграционного поведения и разделения трамадола, его 5 изомеров и 3 метаболитов – глюкуронидов. Разделение трамадола и всех аналитов проведено с использованием 65 мМ тетрабората при рН 10,65 в качестве электролита. Проведён скрининг реальных образцов мочи (после приёма разовой дозы 50 мг трамадола). После ТФЭ трамадол и его метаболиты были детектированы на электрофореграмме в сравнении со стандартами. Диастерометрическое разделение глюкуронидов трамадола в образцах *in vitro* было достигнуто в растворе электролита 10 мМ аммония ацетата – 100 мМ муравьиной кислоты рН 2,75 и 25 мМ тетрабората – 70 мМ раствора натрия додецил сульфата рН 10,45. Оба разделения показали наличие различных количеств продуктов глюкуронизации диастеромеров. Но в реальных образцах мочи, после приёма трамадола глюкурониды диастеромеры обнаружены не были [44].

КЭ с кондуктометрическим детектированием использован для разделения энантиомеров стимуляторов: амфетамина, метамфетамина, эфедрина, псевдоэфедрина, норэфедрина и норпсевдоэфедрина. Оптимальным электролитом для этих целей признана уксусная кислота (рН 2,5 и 2,8) [28]. Признаётся пригодным для хирального разделения энантиомеров и вариант безводного капиллярного электрофореза [38].

Будановой Н. Ю. впервые проведено одновременное разделение энантиомеров 7 карбоксибензильных производных аминокислот. Показано, что метод КЭ позволяет быстро и экономично оценивать энантиораспознавательную способность новых хиральных селекторов и рекомендовать их для создания хиральных неподвижных фаз в ВЭЖХ. Определён энантиомерный состав лекарственных препаратов «Флуксетин» и «Вискен» [4].

Скрининг. Применение КЭ для одновременного скрининга и определения шести производных бензодиазепамина в биологических жидкостях представлено Tomita M. с соавт. [73]. Наилучшие электрофореграммы были получены в 5 мМ фосфатном буфере рН 8,5, содержащем 50 мМ натрия додецилсульфата и 15 % метанола. Отмечена высокая чувствительность метода, хорошая воспроизводимость результатов. Методика пригодна для фармацевтического и токсикологического анализа нитрозепама, диазепама, эстазолама и бромазепама, но триазолам и флурозепам могут быть анализированы в биологических жидкостях только на токсическом уровне. Авторы утверждают, что предлагаемая техника может быть полезна для анализа и многих других лекарственных АССОХ в биологических жидкостях. Скрининг кодеина, дигидрокодеина и их глюкуронидов в моче человека проведён с использованием капиллярной сепарационной техники с иммуноанализом флюоресцентной поляризацией и КЭ с масс-спектрометрией. Исследовалась моча после принятия 7 мг кодеина и 25 мг дигидрокодеина. Присутствие свободных и конъюгированных кодеинов в моче проводилось после ТФЭ. Показана возможность идентификации кодеинов в моче при концентрации 100 – 200 нг/мл [77].

Для скрининга лекарств в сыворотке и моче современные сепарационные техники КЭ имеют преимущества для использования в токсикологическом анализе. Смеси веществ основного и кислотного характера были анализированы 5 вариантами КЭ [58]. Наиболее эффективными авторы считают КЗЭ, мицеллярную электрокинетическую хроматографию и неводный капиллярный электрофорез. Для экстракции аналитов из сыворотки и мочи для веществ основного характера проводили ТФЭ, ЖЖЭ, а для веществ кислотного характера предпочтительнее ТФЭ.

При **сравнении методов исследования** Torres-Cartas S. с соавт. [16] считают, что определение сильногидрофобных веществ основного характера методом ВЭЖХ имеет некоторые недостатки, а методы мицеллярной жидкостной хроматографии и капиллярного

электрофореза могут составить альтернативу ОФ ВЭЖХ. Предметом исследования явилось сравнение методов для определения антипсихотических лекарств (амитриптилин, галопиридол, перфеназин и тиоридазин) в фармацевтических препаратах. Хроматографическое определение проведено на аналитической колонке KromasilC₁₈; 0,04 М цетилтриметиламмония бромида при рН 3,0, содержащий 5 % 1-бутанола, скорость потока 1 мл/мин. КЭ разделение осуществлялось на кварцевом капилляре с буфером 50 мМ tris-(гидроксиметил)-аминометан рН 7,0, 20 кВ, барбитал в качестве внутреннего стандарта. Методы были использованы для определения названных веществ в таблетках и каплях. При сравнении результатов исследования капиллярный электрофорез признан более перспективным для определения сильногидрофобных веществ основного характера.

Приводится сравнительное определение ВЭЖХ и КЭ энантиоразделения цис-дилтиазема гидрохлорида и его метаболита цис-дезацетилдилтиазема. Признавая альтернативность обоих методов, авторы указывают на предпочтение КЭ при определении энантиопримесей в метаболите [15].

Проведена сравнительная оценка различных вариантов КЭ при определении полифенольных антиоксидантов и алкалоидов в чёрном и зелёном чае. Показано, что для одновременного экспрессного определения катехинов и кофеина вариант мицеллярной электрокинетической хроматографии с обращённой полярностью наиболее предпочтительный [5].

Оптимизация условий КЭ с использованием программного обеспечения применена для разделения и определения антигистаминов в фармацевтических препаратах, в образцах сыворотки и мочи [11]. КЭ, применённый для анализа в волосах запрещённых лекарств, рассматривается как новый инструмент в аналитической токсикологии [12].

Применение метода капиллярного электрофореза может явиться эффективным инструментом для перевода на качественно новый уровень исследований лекарственных АССОХ при фармацевтических, клинико-диагностических и химико-токсикологических анализах.

Список литературы

1. Арианова Е. А. Подходы к определению качества и безопасности лекарственных средств на основе низкомолекулярных гепаринов / Е. А. Арианова, М. Н. Богачук, О. И. Передеряев // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 2. – С. 3-8.
2. Бендрышева С. Н. Возможности термолинзового детектирования в капиллярном электрофорезе: Автореф. дис... канд. хим. наук. – М., 2007. – 26 с.

3. Богачук М. Н. Определение водорастворимых витаминов в поливитаминных препаратах методом капиллярного зонального электрофореза / М. Н. Богачук, О. И. Передеряев, Г. В. Раменская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – № 9. – С. 14-22.
4. Буданова Н. Ю. Капиллярное электрофоретическое разделение энантиомеров при использовании олиго- и полисахаридных хиральных селекторов: Автореф. дис... канд. хим. наук. – М., 2005. – 26 с.
5. Карцова Л. А. Возможности и ограничения различных режимов капиллярного электрофореза для количественного определения катехинов и кофеина в чёрном и зелёном чае / Л. А. Карцова, О. В. Ганжа, А. В. Алексеева // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65, № 2. – С. 212-217.
6. Карцова Л. А. Различные варианты on-line концентрирования при электрофоретическом определении аминов, аминокислот и стероидных гормонов / Л. А. Карцова, А. А. Сидорова, Е. А. Бессонова // Журнал аналитической химии. – 2012. – Т. 67, № 7. – С. 715-720.
7. Хомов Ю. А. Капиллярный электрофорез как высокоэффективный аналитический метод (обзор литературы) / Ю. А. Хомов, А. Н. Фомин // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5; URL: [www.science-education.ru / 105-6775](http://www.science-education.ru/105-6775) (дата обращения: 31.07.2012).
8. An online field-amplification sample stacking method for the determination of diuretics in urine by capillary electrophoresis-amperometric detection / X. Zheng [et al.] // Talanta. – 2008. – Vol. 76, № 1. – P. 15-20.
9. Application of high performance capillary electrophoresis on toxic alkaloids analysis / L. Zhang [et al.] // J. Separation Science. – 2007. – Vol. 30, № 9. – P. 1357-1363.
10. Assay of tramadol in urine by capillary electrophoresis using laser-induced native fluorescence detection / U.B. Soetebeer [et al.] // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2000. - Vol. 745, № 2. – P. 271-278.
11. Capella-Peiró M. E. Optimization by factorial design of a capillary zone electrophoresis method for the simultaneous separation of antihistamines / M. E. Capella-Peiró, A. Bossi, J. Esteve-Romero // Analytical Biochemistry. – 2006. – Vol. 352, № 1. – P. 41-49.
12. Capillary electrophoresis: a new tool in forensic toxicology. Applications and prospects in hair analysis for illicit drugs / F. Tagliaro [et al.] // Forensic Science International. – 1995. – Vol. 70, № 1-3. – P. 93-104.
13. Capillary electrophoretic determination of triamterene, methotrexate, and creatinine in human urine / J. R. Flores [et al.] // J. Separation Science. – 2005. – Vol. 28, № 7. – P. 658-664.

14. Caslavská J. Rapid analysis of furosemide in human urine by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence and electrospray ionization-ion trap mass spectrometric detection / J. Caslavská, W. Thormann // *Journal of Chromatography B*. – 2002. – Vol. 770, № 1–2. – P. 207–216.
15. Chankvetadze B. Simultaneous enantioseparation of cis-diltiazem hydrochloride and its metabolite cis-desacetyldiltiazem using high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis / B. Chankvetadze, I. Kartoziya, G. Blaschke // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2002. – Vol. 27, № 1–2. – P. 161–166.
16. Comparison between micellar liquid chromatography and capillary zone electrophoresis for the determination of hydrophobic basic drugs in pharmaceutical preparations / S. Torres-Cartas [et al.] // *Biomedical Chromatography*. – 2007. – Vol. 21, № 1. – P. 21–28.
17. Determination of bupivacaine and metabolites in rat urine using capillary electrophoresis with mass spectrometry detection / R. M. Krisko [et al.] // *Electrophoresis*. – 2003. – Vol. 24, № 14. – P. 2340–2347.
18. Determination of catecholamines and metanephrines in urine by capillary electrophoresis–electrospray ionization–time-of-flight mass spectrometry / Z. D. Peterson [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2002. – Vol. 776, № 2. – P. 221–229.
19. Determination of cephalosporins in urine and bile by capillary zone electrophoresis / Y. Mrestani [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 1997. – Vol. 349, № 1–3. – P. 207–213.
20. Determination of metformin in plasma by capillary electrophoresis using field-amplified sample stacking technique / J. Song [et al.] // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. – 1998. – Vol. 708, № 1–2. – P. 277–283.
21. Determination of morphine by capillary electrophoresis immunoassay in thermally reversible hydrogel-modified buffer and laser-induced fluorescence detection / X. Zhang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2000. – Vol. 895, № 1–2. – P. 1–7.
22. Determination of nicotine and its metabolites in urine by solid-phase extraction and sample stacking capillary electrophoresis-mass spectrometry / K. P. Edward [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2003. – Vol. 796, № 2. – P. 303–313.
23. Determination of phenothiazines in pharmaceutical formulations and human urine using capillary electrophoresis with chemiluminescence detection / F. J. Lara [et al.] // *Electrophoresis*. – 2006. – Vol. 27, № 12. – P. 2348–2359.
24. Development and validation method for determination of fluoxetine and its main metabolite norfluoxetine by nonaqueous capillary electrophoresis in human urine / J. R. Flores [et al.] // *Talanta*. – 2005. – Vol. 65, № 1. – P. 163–171.

25. Development of a Capillary Zone Electrophoretic method to determine six antidepressants in their pharmaceutical preparations. Experimental design for evaluating the ruggedness of method / J.R.Flores [et al.] // *J. Separation Science*. – 2004. – Vol.27, №1-2. – P. 33–40.
26. Development of a non-aqueous electrophoresis method for the simultaneous determination of tricyclic antidepressants in human serum / M. Valenzuela [et al.] // *Electrophoresis*. – 2009. – Vol. 30, № 6. – P. 1052-1058.
27. Enantiomeric separation of omeprazole and its metabolite 5-hydroxyomeprazole using non-aqueous capillary electrophoresis / J.Olsson[et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2006. – Vol. 1129, № 2. – P. 291-295.
28. Enantiomeric separation of some common controlled stimulants by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection / T. Mantim[et al.] // *Electrophoresis*. 2012. – Vol.33, №2. – P. 388-394.
29. Enantioseparation of atropine by capillary electrophoresis using sulfated β -cyclodextrin: application to a plant extract / L.Mateus[et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2000. – Vol. 868, № 2. – P. 285-294.
30. Fan B. Determination of lamivudine (didanosine)saquinavir in human serum using capillary zone electrophoresis // *J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol.* – 2002. – № 2. – P. 241-249.
31. Field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for the determination of clozapine, clozapine N-oxide, and desmethylclozapine in schizophrenics' plasma / Y.Ho[et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2004. – Vol. 809, № 1. – P. 111-116.
32. Gáspár A. Application of capillary zone electrophoresis to the analysis and to a stability study of cephalosporins / A. Gáspár, M. Andrási, S. Kardos // *Journal of Chromatography B*. – 2002. – Vol. 775, № 2. – P. 239-246.
33. Geiser L. Simultaneous analysis of some amphetamine derivatives in urine by nonaqueous capillary electrophoresis coupled to electrospray ionization mass spectrometry / L.Geiser, S.Cherkaoui, J.Veuthey // *Journal of Chromatography A*. – 2000. – Vol. 895, № 1–2. – P. 111-121.
34. González E. Direct determination of diuretic drugs in urine by capillary zone electrophoresis using fluorescence detection / E. González, A. Becerra, J. Laserna // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. – 1996. – Vol. 687, № 1. – P. 145-150.
35. Hempel G. Enantioselective determination of zopiclone and its metabolites in urine by capillary electrophoresis / G. Hempel, G. Blaschke // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. – 1996. – Vol. 675, № 1. – P. 139-146.
36. Horstkötter C. Stereoselective determination of ofloxacin and its metabolites in human urine by capillary electrophoresis using laser-induced fluorescence detection / C. Horstkötter, G. Blaschke //

Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2001. – Vol. 754, № 1. – P. 169-178.

37. Investigation of the metabolic fate of the neuroleptic drug haloperidol by capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry / A. J. Tomlinson[et al.] // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 1993. – Vol. 621, № 2. – P. 239-248.

38. Lämmerhofer M. Chiral separations by capillary electromigration techniques in nonaqueous media: I. Enantioselective nonaqueous capillary electrophoresis. // Journal of Chromatography A. – 2005. – Vol. 1068, № 1. – P. 3-30.

39. Li J. Simultaneous determination of psychotropic drugs in human urine by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection / J. Li, F. Zhao, H. Ju // Analytica Chimica Acta. – 2006. – Vol. 575, № 1. – P. 57-61.

40. Liu Y. Determination of quinolone antibiotics in urine by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection / Y. Liu, Y. Jia, W. Tian // J. Separation Science. – 2008. – Vol. 31, № 21. – P. 3765-3771.

41. Lombardo-Agüí M. Capillary zone electrophoresis with diode-array detection for analysis of local anaesthetics and opium alkaloids in urine samples / M. Lombardo-Agüí, C. Cruces-Blanco, A. M. García-Campaña // Journal of Chromatography B. – 2009. – Vol. 877, № 8-9. – P. 833-836.

42. Martin-Girardeau A. Optimization of a capillary electrophoresis–electrospray mass spectrometry method for the quantitation of the 20 natural amino acids in childrens blood / A. Martin-Girardeau, M. Renou-Gonnord // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2000. – Vol. 742, № 1. – P. 163-171.

43. Micelle to solvent stacking of two alkaloids in nonaqueous capillary electrophoresis / H. Zhu [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2011. – Vol. 1218, № 34. – P. 5867-5871.

44. Migration behaviour and separation of tramadol metabolites and diastereomeric separation of tramadol glucuronides by capillary electrophoresis/ P. Lehtonen [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2004. – Vol. 1041, № 1-2. – P. 227-234.

45. Mrestani Y. Thiamine analysis in biological media by capillary zone electrophoresis with a high-sensitivity cell / Y. Mrestani, R. H. Neubert // Journal of Chromatography A. – 2000. – Vol. 871, № 1-2. – P. 351-356.

46. Nonaqueous capillary electrophoresis method for the analysis of tamoxifen, imipramine and their main metabolites in urine / J.R. Flores [et al.] // Talanta. – 2005. – Vol. 65, № 1. – P. 155-162.

47. Nonaqueous capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection: A case study of comparison with aqueous media/ L. Zhou [et al.] // Analytica Chimica Acta. – 2008. – Vol. 611, № 2. – P. 212-219.

48. On-line coupling of cyclodextrin mediated nonaqueous capillary electrophoresis to mass spectrometry for the determination of salbutamol enantiomers in urine / A. Servais [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2006. – Vol. 40, № 3. – P. 752-757.
49. On-line field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for analysis of amitriptyline and its metabolite nortriptyline in plasma / C. Chen [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2004. – Vol. 517, № 1-2. – P. 103-110.
50. On the perspectives of capillary electrophoresis modes for the determination of morphine in human plasma without sample pretreatment / S. Emara [et al.] // *Biomedical Chromatography*. – 2004. – Vol. 18, № 1. – P. 21–27.
51. Pajchel G. Adaptation of capillary electrophoresis to the determination of selected cephalosporins for injection / G. Pajchel, S. Tyski // *Journal of Chromatography A*. – 2000. – Vol. 895, № 1–2. – P. 27-31.
52. Pioch M. Capillary electrophoresis/mass spectrometry relevant to pharmaceutical and biotechnological applications /M. Pioch, S. Bunz, C. Neusüß // *Electrophoresis*. 2012. – Vol. 33, № 11. – P. 1517-1530.
53. Plenis A. Modern chromatographic and electrophoretic measurements of antidepressants and their metabolites in biofluids / A. Plenis, T. Bączek // *Biomedical Chromatography*. – 2011. – Vol. 25, № 1-2. – P. 164–198.
54. Potential of capillary electrophoresis, tandem mass spectrometry and coupled capillary electrophoresis–tandem mass spectrometry as diagnostic tools / K. P. Elgstoen [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – Vol. 914, № 1–2. – P. 265-275.
55. Pucci V. Separation of antipsychotic drugs (clozapine, loxapine) and their metabolites by capillary zone electrophoresis / V. Pucci, M. Raggi, E. Kenndler // *Journal of Chromatography A*. – 1999. – Vol. 853, № 1–2. – P. 461-468.
56. Quantitative bioanalysis of enantiomeric drugs using capillary electrophoresis and electrospray mass spectrometry / E. K. Kindt[et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2003. – Vol. 31, № 5. – P. 893-904.
57. Rapid analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine: a comparison of nonaqueous capillary electrophoresis/fluorescence detection with GC/MS / C. Fang[et al.] // *Forensic Science International*. – 2002. – Vol. 125, № 2–3. – P. 142-148.
58. Screening for the presence of drugs in serum and urine using different separation modes of capillary electrophoresis / C. M. Boone[et al.] // *Forensic Science International*. – 2001. – Vol. 121, № 1–2. – P. 89-96.
59. Scriba G. Nonaqueous capillary electrophoresis–mass spectrometry. // *Journal of Chromatography A*. – 2007. – Vol. 1159, № 1-2. – P. 28-41.

60. Sensitive determination of d-carnitine as enantiomeric impurity of levo-carnitine in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis–tandem mass spectrometry / L. Sánchez-Hernández [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2010. – Vol. 53, № 5. – P. 1217-1223.
61. Separation and determination of levodopa and carbidopa in composite tablets by capillary zone electrophoresis with amperometric detection / L. Zhang [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2001. – Vol. 431, № 2. – P. 287-292.
62. Simple method for determination of cocaine and main metabolites in urine by CE coupled to MS / Costa J. [et al.] // *Electrophoresis*. – 2009. – Vol.30, №12. – P. 2238-2244.
63. Simultaneous analysis of cocaine and its metabolites in urine by capillary electrophoresis–electrospray mass spectrometry using a pressurized liquid junction nanoflow interface / V.Hezinová[et al.] // *Electrophoresis*. – 2012. – Vol.33, №4. – P. 653-660.
64. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human plasma by capillary zone electrophoresis / D.Teshima [et al.] // *Biomedical Chromatography*. – 2004. – Vol. 18, № 1. – P. 51–54.
65. Simultaneous determination of ten amphetamine designer drugs in human whole blood by capillary electrophoresis with diode array detection / Maria Nieddu [et al.] // *Biomedical Chromatography*. – 2005. – Vol. 19, № 10. – P. 737–742.
66. Smith F. P. Detection of cocaine metabolite in blood – stain, perspiration stain and hair / F. P. Smith. R. H. Lui // *J. Forens. Sci.* – 1986. – Vol.31, № 4. – P. 1269-1273.
67. Song L. Separation and determination of chiral composition in penicillamine tablets by capillary electrophoresis in a broad pH range / L. Song, Z. Guo, Y. Chen // *Electrophoresis*. – 2012. – Vol. 33, №13. – P. 2056-2063.
68. Stability evaluation of tramadol enantiomers using a chiral stability-indicating capillary electrophoresis method and its application to pharmaceutical analysis / A. Mohammadi [et al.] // *J. Separation Science*. – 2011. – Vol. 34, №13. – P. 1613-1620.
69. Suntornsuk L. Capillary Electrophoresis in Pharmaceutical Analysis: A Survey on Recent Applications // *J. Chromatogr. Sci.* – 2007. – Vol. 45, № 9. – P. 559-576.
70. Teng H. Recent Advances in Application of Nonaqueous Capillary Electrophoresis / H. Teng, B. Yuan, T. You // *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. – 2010. – Vol. 38, № 11. – P 1670-1677.
71. The analysis of basic and acidic compounds using non-aqueous CE and non-aqueous CE-MS / J.Senior [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2000. – Vol. 22, № 3. – P. 413-421.

72. The use of CE ECL with ionic liquid for the determination of drug alkaloids and applications in human urine/ Y. Liu [et al.] // *Electrophoresis*. – 2009. – Vol. 30, № 8. – P. 1406-1411.
73. Tomita M. Application of capillary electrophoresis to the simultaneous screening and quantitation of benzodiazepines / M. Tomita, T. Okuyama // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. – 1996. – Vol. 678, № 2. – P. 331-337.
74. Use of Capillary Electrophoresis and Poly(ethylene Oxide) as the Coating Agent for the Determination of Substances Related to Heroin Addiction and Treatment /N. D. Pietro [et al.] // *J. Anal. Toxicol.* – 2006. – Vol. 30, № 9. – P. 679–682.
75. Utility of nonaqueous capillary electrophoresis for the determination of lidocaine and its metabolites in human plasma: a comparison of UV and MS detection / M. S. Anderson [et al.] // *Rapid commun. mass spectrum*. – 2004. – №18. – P. 2612-2618.
76. Validation of Capillary Electrophoresis Method for Determination of *N*-Methylpyrrolidine in Cefepime for Injection / S. J. Prasanna [et al.] // *J. Chromatogr. Sci.* – 2010. – Vol. 48, № 10. – P. 830-834.
77. Wey A. B. Analysis of codeine, dihydrocodeine and their glucuronides in human urine by electrokinetic capillary immunoassays and capillary electrophoresis–ion trap mass spectrometry / A.B.Wey, J.Caslavska, W.Thormann // *Journal of Chromatography A*. – 2000. –Vol. 895, № 1–2. – P. 133-146.
78. Wey A.B. Capillary electrophoresis–electrospray ionization ion trap mass spectrometry for analysis and confirmation testing of morphine and related compounds in urine / A. B. Wey, W. Thormann // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – Vol. – 916, № 1–2. – P. 225-238.

Рецензенты:

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

Михайловский А. Г., д. фарм. н., зав.кафедрой неорганической химии ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития РФ, г. Пермь.