

Валидирование разработанной методики определения карбамазепина в сыворотке крови и моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием с применением абсолютной градуировки

Хабиева Н. А.^{1,3}

заведующий отделением¹; ассистент, кафедра клинической диагностики с курсом педиатрии³

Люст Е. Н.²

к.ф.н., доцент, кафедра токсикологической химии²

Тимерзянов М. И.^{1,3}

д.м.н., доцент, начальник¹; заведующий, кафедра профилактической медицины³

1 – ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы Министерства Здравоохранения Республики Татарстан», Казань, Российская Федерация

2 – ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, Пермь, Российская Федерация

3 – Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАО ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет», Казань, Российская Федерация

Автор для корреспонденции: Хабиева Наталья Александровна; e-mail:

Habieva.Nataliya@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для пациентов, проходящих лечение карбамазепином, измерение его концентрации в сыворотке крови и в моче может быть целесообразным для руководства при лечении. **Цель.** Валидировать разработанную методику количественного определения карбамазепина в сыворотке крови и моче. **Материалы и методы исследования.** В данной работе в качестве объектов исследования использованы биологические жидкости (сыворотка крови и моча). Количественное определение карбамазепина проводили в диапазоне концентраций от 0,50 до 50,0 мкг/мл на высокоэффективном жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектированием (Agilent Technologies 1200) методом абсолютной калибровки. Для оценки линейности построены градуировочные графики и проведен обратный перерасчет концентраций модельных смесей. На основании данных анализа образцов определена правильность и прецизионность разработанной методики. **Результаты исследования и их обсуждение.** Градуировочные зависимости для сыворотки крови и мочи в диапазоне концентраций карбамазепина 0,5 – 50,0 мкг/мл линейны. Обратный перерасчет концентраций по калибровочному графику показал, что отклонения концентраций карбамазепина от фактических значений не превышали 15%. Предел количественного определения – 0,5 мкг/мл. При валидировании методики рассчитанные величины относительного стандартного отклонения не превышают 6%, относительной погрешности – 10,2%. Специфичность метода в отношении карбамазепина была подтверждена отсутствием мешающих определению пиков на хроматограммах относительно «холостых» проб. **Заключение.** Полученные результаты исследований показали, что методика определения является чувствительной, точной, обеспечивает аналитический диапазон измерений от 0,5 до 50,0 мкг/мл с удовлетворительной экспрессностью работ. Методика обеспечивают практическое решение для терапевтического мониторинга содержания карбамазепина, определения его концентрации в судебно-химической практике.

Ключевые слова: карбамазепин, терапевтический мониторинг, судебно-медицинская токсикология, сыворотка крови, моча, валидация, абсолютная градуировка

doi: 10.29234/2308-9113-2024-12-2-8-17

Для цитирования: Хабиева Н. А., Люст Е. Н., Тимерзянов М. И. Валидирование разработанной методики определения карбамазепина в сыворотке крови и моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием с применением абсолютной градуировки. *Медицина* 2024; 12(2): 8-17

Введение

Карбамазепин – трициклическое липофильное соединение, являющееся противоэпилептическим препаратом первого выбора для лечения простых и сложных парциальных припадков. Сообщалось, что терапевтические концентрации составляют 4-12 мкг/мл, хотя могут возникать значительные колебания [7]. Терапевтический мониторинг карбамазепина в сыворотке крови может быть полезен для корректировки режима лечения, для помощи в диагностике клинической токсичности и для судебно-медицинской токсикологии.

В структуре судебно-химических исследований второе место после наркотических средств занимают лекарственные и психотропные вещества, в том числе и карбамазепин. Для его идентификации рекомендованы реакции окрашивания, хроматография в тонком слое сорбента, флуоресцентно-поляризационный иммуноанализ, спектрофотометрия, хромато-масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), показана возможность применения ВЭЖХ с масс-селективным детектором для подтверждения наличия карбамазепина в биологическом материале [1,2,6].

В литературе предложены стратегии определения карбамазепина в цельной крови, сыворотке крови, плазме крови, моче методами газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией, которые можно использовать без технических изменений для общего скрининга, для терапевтического мониторинга лекарств и для рутинных анализов биологических образцов в клинических лабораториях [3,4]. Представлены методики с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с различными вариантами детектирования, в том числе определение карбамазепина и карбамазепин-10,11-эпоксида при совместном присутствии в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС [4].

В зарубежной литературе приведены различные методики определения карбамазепина, в частности с использованием хроматографии. Опубликованы данные об определении карбамазепина методом ВЭЖХ, спектрофотометрии, газожидкостной хроматографии, планарной хроматографии, совмещение сорбционной экстракции и ВЭЖХ с УФ-детекцией. Кроме того, методы жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии были зарегистрированы для обнаружения карбамазепина и его метаболитов в водной среде и в плазме [7,8,9].

В литературных источниках приведены различные условия определения карбамазепина. Автор Хабиева Н.А. с соавторами разработали условия пробоподготовки и исследования карбамазепина методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием для фармацевтических испытаний, терапевтического мониторинга, химико-токсикологических и судебно-химических исследований, анализа вещественных доказательств [5]. Кроме того, разработанная методика валидационно оценена с получением удовлетворительных результатов.

Материалы и методы исследования

Субстанция карбамазепин предоставлена АО «АЛСИ Фарма».

Работа выполнена на базе судебно-химического отделения ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ».

В исследовании использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф, оснащенный диодно-матричным детектором (Agilent Technologies 1200). Подвижная фаза – фосфатный буферный раствор (рН 3) и ацетонитрил (60:40), скорость потока – 1,0 мл/мин. Разделение осуществляли с использованием колонки ZORBAX SB-C18 (4,6 x 250 мм x 5 мкм), температура термостата колонки: 40°C. Выходящий из колонки поток контролировали при 230 нм. Объем вводимой пробы – 20 мкл.

Первоначально готовили исходный раствор карбамазепина с концентрацией 1000 мкг/мл, из которого получали рабочие растворы с концентрацией карбамазепина 500,0 (А); 250,0 (В); 125,0 (С); 50,0 (D); 25,0 (Е), 12,5 (F), 5,0 (G) мкг/мл.

Для приготовления модельных смесей с целью установления линейности, правильности и прецизионности методики к 100 мкл каждого из рабочих растворов добавляли 900 мкл сыворотки крови, к 0,5 мл каждого из рабочих растворов добавляли 4,5 мл мочи. Концентрации карбамазепина в модельных смесях сыворотки крови и мочи составили 50,0 (А); 25,0 (В); 12,5 (С); 5,0 (D); 2,5 (Е), 1,25 (F), 0,5 (G) мкг/мл.

Готовили по три серии градуировочных растворов карбамазепина с использованием сыворотки крови и мочи.

Пробоподготовка модельных смесей к исследованию:

По 250 мкл каждой модельной смеси сыворотки помещали в центрифужную пробирку типа Эппендорф, добавляли 50 мкл водного раствора гидроксида аммония (10%), 1000 мкл хлороформа. Содержимое пробирки встряхивали на лабораторном шейкере со скоростью 1500 об/мин в течение 5 минут, затем центрифугировали 5 минут при 10 000 об/мин. Отбирали 800 мкл хлороформного экстракта и переносили в хроматографическую виалу. Экстракт выпаривали в токе азота, сухой остаток растворяли в 250 мкл подвижной фазы.

По 1000 мкл каждой модельной смеси мочи помещали в центрифужную пробирку типа Эппендорф, добавляли 100 мкл водного раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл хлороформа. Содержимое пробирки встряхивали на лабораторном шейкере со скоростью 1500 об/мин в течение 5 минут, затем центрифугировали 5 минут при 5000 об/мин. Отбирали 800 мкл хлороформного экстракта и переносили в хроматографическую виалу. Экстракт выпаривали в токе азота, сухой остаток растворяли в 250 мкл подвижной фазы.

Градуировочные графики строили в зависимости площади пика карбамазепина от количества вещества. Специфичность методики оценивали при исследовании извлечений «холостых» образцов человеческой сыворотки, а также сыворотки крови и мочи, полученных от лабораторных животных (крыс). Правильность и прецизионность оценивали на всем диапазоне концентраций. Готовили по три образца проб для каждого уровня концентраций. Определение проводили в течение 6 аналитических циклов (дней).

Результаты и их обсуждение

Метод ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием был выбран в качестве простого, быстрого и эффективного метода разделения для определения карбамазепина. В ходе обширных предварительных экспериментов была протестирована серия водных подвижных фаз с различными значениями pH. Наилучшие результаты получены при использовании фосфатного буферного раствора (pH 3) и ацетонитрила (60:40) [5]. Определяли специфичность метода путем изучения воздействия эндогенных веществ сыворотки крови и мочи при хроматографировании целевого вещества. На хроматограммах отсутствуют посторонние мешающие пики со временами удерживания, соответствующими карбамазепину. Таким образом, методика является специфичной относительно карбамазепина, компоненты биологической матрицы (сыворотка, моча) не мешают его хроматографическому определению. На рис. 1 представлена хроматограмма «холостой» пробы сыворотки крови. На рис. 2 представлена хроматограмма извлечений из сыворотки крови с концентрацией карбамазепина 5,0 мкг/мл.

Рис. 1. Хроматограмма «холостой» пробы сыворотки крови.

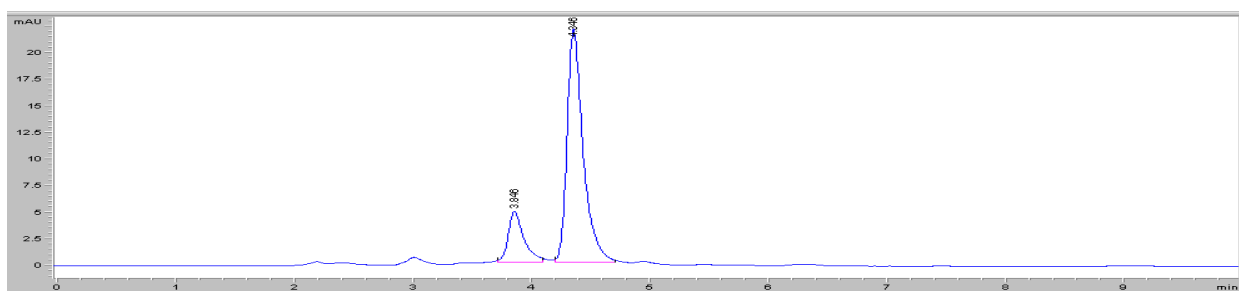
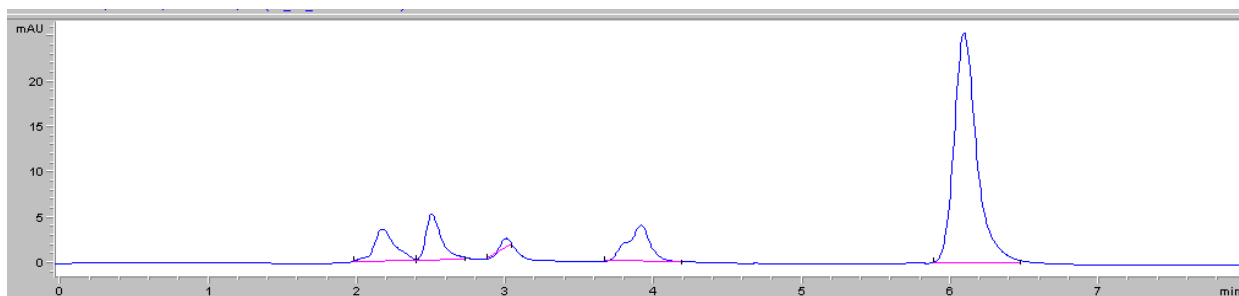


Рис. 2. Хроматограмма извлечения из сыворотки крови с концентрацией карбамазепина 5,0 мкг/мл (время удерживания карбамазепина – 6,1 мин).



Для оценки линейности разработанной методики построены градуировочные графики зависимости площади пика карбамазепина от количества вещества, каждая точка на графиках получена как результат 3-х хроматографических определений.

Градуировочные графики отражали удовлетворительную линейность анализа в диапазоне концентраций 0,5–50 мкг/мл. Градуировочная зависимость для модельных смесей сыворотки крови описывается уравнением $Y = 55,00666 \times X + 2,58652$ (где Y – площадь пика карбамазепина, X – концентрация карбамазепина, мкг/мл). Коэффициент корреляции R^2 составил 0,99979 (рис. 3). Для модельных смесей мочи получено уравнение $Y = 209,76600 \times X + 30,10950$ (где Y – площадь пика карбамазепина, X – концентрация карбамазепина, мкг/мл), коэффициент корреляции R^2 составил 0,99948 (рис. 4).

Рис. 3. Градуировочный график определения карбамазепина в сыворотке крови (модельные смеси; ось X – концентрация карбамазепина, мкг/мл, ось Y – площадь хроматографического пика).

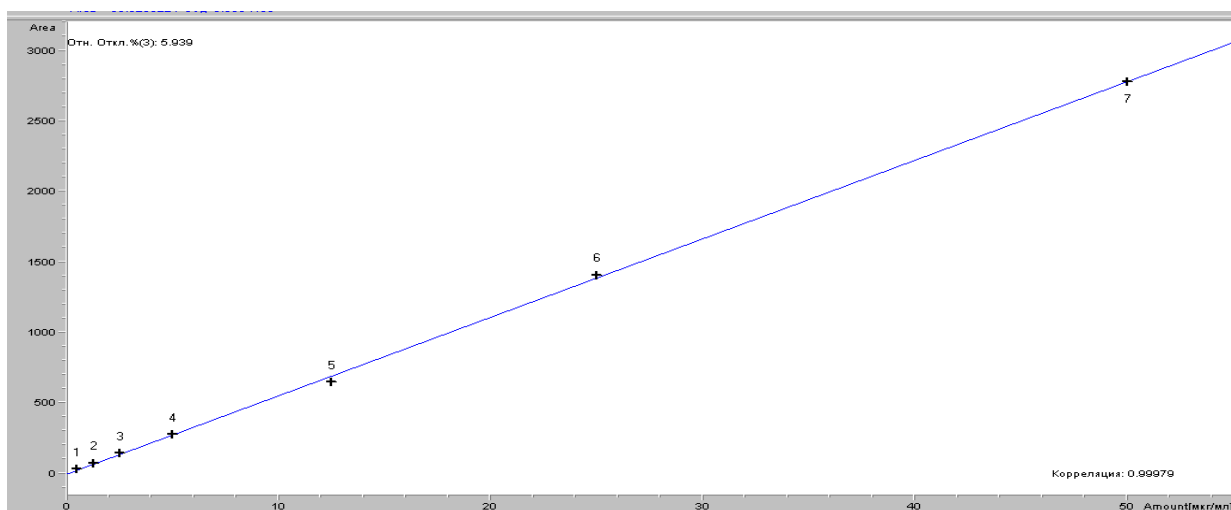
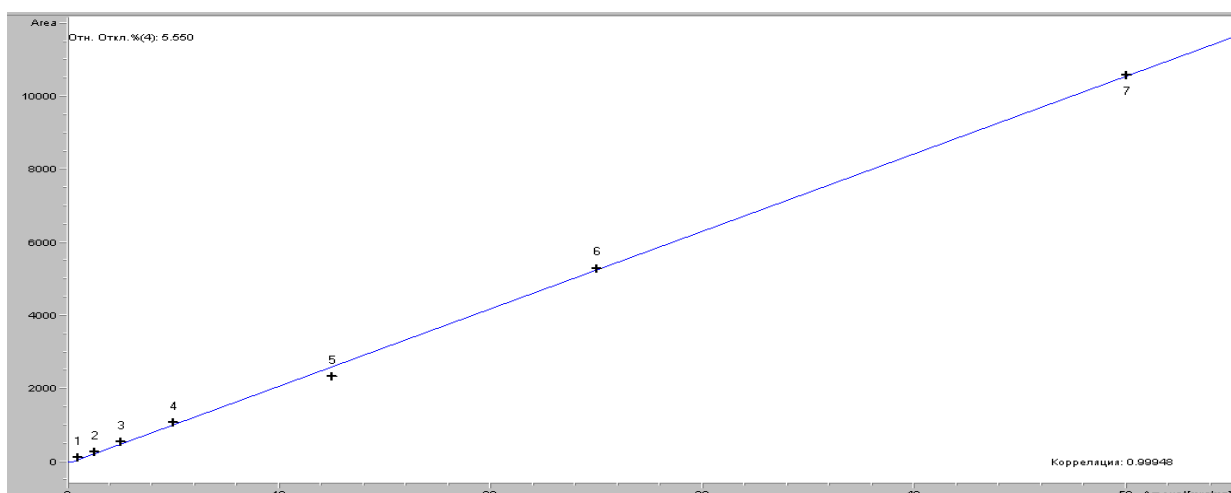


Рис. 4. Градуировочный график определения карбамазепина в моче (модельные смеси; ось X – концентрация карбамазепина, мкг/мл, ось Y – площадь хроматографического пика).



Произведен обратный перерасчет концентраций модельных смесей по калибровочному графику. Отклонения полученных значений концентраций карбамазепина от фактических значений не превышают 15%, что соответствует нормам действующих руководств по валидации биоаналитических методик.

Правильность и прецизионность в условиях повторяемости (сходимость) разработанной методики определяли на основании данных анализа образцов для контроля – модельных смесей карбамазепина в сыворотке крови и моче с концентрацией 0,5 мкг/мл, 1,25 мкг/мл, 2,5 мкг/мл, 5,0 мкг/мл, 12,5 мкг/мл, 25,0 мкг/мл, 50,0 мкг/мл. Пробоподготовка образцов проводилась в строгом соответствии с разработанными методиками. Полученные извлечения хроматографировали не менее 3 раз. Анализ выполняли в течение 6 аналитических циклов. На основании полученных результатов количественного определения образцов для контроля рассчитывали величины относительного стандартного отклонения для оценки прецизионности и относительной величины погрешности для оценки правильности. В таблице 1 и таблице 2 представлены метрологические характеристики методики.

Таблица 1. Правильность и прецизионность в условиях повторяемости методики определения карбамазепина в сыворотке крови методом ВЭЖХ (модельные смеси сыворотки крови (n=6)).

Концентрация карбамазепина в модельной смеси, мкг/мл						
0,50	1,25	2,5	5,0	12,5	25,0	50,0
Рассчитанная концентрация (среднее значение для 6 аналитических циклов), мкг/мл						
0,539	1,31	2,60	5,37	11,27	22,74	51,68
0,548	1,36	2,40	5,01	11,89	23,53	50,77
0,538	1,29	2,66	5,02	12,93	22,53	51,90
0,564	1,36	2,51	5,14	13,14	23,84	53,83
0,517	1,37	2,62	5,18	13,07	23,73	52,86
0,528	1,34	2,57	5,03	12,65	21,99	53,81
Генеральное среднее						
0,539	1,34	2,56	5,13	12,49	23,06	52,48
Стандартное отклонение (SD)						
0,016	0,03	0,09	0,14	0,75	0,75	1,24
Относительное стандартное отклонение RSD (%)						
2,97	2,24	3,51	2,73	6,02	3,25	2,36
Относительная погрешность (%)						
7,80	2,50	3,82	2,84	6,32	7,76	4,96
Доверительный интервал, мкг/мл						
0,539 ± 0,020 (от 0,519 до 0,559)	1,34 ± 0,05 (от 1,29 до 1,39)	2,56 ± 0,10 (от 2,46 до 2,66)	5,13 ± 0,15 (от 4,98 до 5,28)	12,49 ± 0,79 (от 11,70 до 13,28)	23,06 ± 0,79 (от 22,27 до 23,85)	52,48 ± 1,30 (от 51,18 до 53,78)

Таблица 2. Правильность и прецизионность в условиях повторяемости методики определения карбамазепина в моче методом ВЭЖХ (модельные смеси мочи (n=6)).

Концентрация карбамазепина в модельной смеси, мкг/мл						
0,50	1,25	2,5	5,0	12,5	25,0	50,0
Рассчитанная концентрация (среднее значение для 6 аналитических циклов), мкг/мл						
0,562	1,31	2,74	5,22	12,20	23,63	51,76
0,556	1,31	2,53	5,44	12,52	25,60	50,54
0,547	1,30	2,64	4,88	12,69	25,74	51,09
0,534	1,29	2,58	5,02	12,81	25,67	49,17
0,560	1,35	2,67	5,23	13,17	22,93	50,29
0,548	1,32	2,42	4,88	11,82	25,58	49,97
Генеральное среднее						
0,551	1,31	2,60	5,11	12,54	24,86	50,47
Стандартное отклонение (SD)						
0,01	0,02	0,11	0,22	0,47	1,24	0,89
Относительное стандартное отклонение RSD (%)						
1,81	1,53	4,25	4,30	3,75	4,99	1,76
Относительная погрешность (%)						
10,20	4,80	3,60	2,20	3,97	5,25	1,87
Доверительный интервал, мкг/мл						
0,551 ± 0,010 (от 0,541 до 0,561)	1,31 ± 0,02 (от 1,29 до 1,34)	2,60 ± 0,12 (от 2,48 до 2,72)	5,11 ± 0,23 (от 4,88 до 5,34)	12,54 ± 0,50 (от 12,04 до 13,04)	24,86 ± 1,30 (от 23,56 до 26,16)	50,47 ± 0,94 (от 49,53 до 51,41)

Рассчитанные величины относительного стандартного отклонения не превышают 6%, относительной погрешности – не превышают 10,2%, что свидетельствует о соответствии разработанной методики требованиям, которые предъявляются к биоаналитическим методикам и об отсутствии систематических ошибок.

Результаты исследований показали линейность в диапазоне от 0,5 до 50,0 мкг/мл, приемлемые правильность и прецизионность для всех проанализированных концентраций, открываемость в среднем составила для модельных смесей сыворотки крови 102,3%, модельных смесей мочи 103,0%.

Предел количественного определения карбамазепина при использовании разработанных методик для сыворотки крови и мочи составил 0,5 мкг/мл. Специфичность метода в отношении карбамазепина была установлена отсутствием каких-либо соэлюированных веществ на хроматограммах. Методика может быть применена для качественного и количественного определения карбамазепина в биологических жидкостях.

Заключение

Разработанная методика ВЭЖХ-определения карбамазепина является быстрой, чувствительной и специфичной. Правильность и прецизионность методики находятся в пределах допустимого диапазона. Простота метода и высокая чувствительность делают эту технику особенно привлекательной для количественной оценки карбамазепина как в растворе, так и в сыворотке крови и в моче. Метод может быть легко адаптирован к рутинному анализу контроля качества, а также может быть использован при производстве судебно-химических экспертиз в судебно-медицинской практике.

Литература

1. Барсегян С.С., Красицкая Е.Л. Определение карбамазепина при судебно-химическом исследовании с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии. Труды VII Всероссийского съезда судебных медиков (Москва, 21-24 октября 2013 г.). Т. 2. Москва, 2013. С. 122-125.
2. Вергейчик Т.Х., Шабалин С.В. Определение карбамазепина в трупном материале с использованием производной спектрофотометрии. *Судебно-медицинская экспертиза* 1993; 36(1): 32-34.
3. Пирогов А.В., Гандлевский Н.А., Васильева А.А. и др. Высокочувствительное определение карбамазепина, окскарбазепина, идентификация продуктов их деградации в вещественных доказательствах и в трупном материале печени человека методом ГХ-МС. *Журнал аналитической химии* 2023; 78(6): 546-558.
4. Родина Т.А., Мельников Е.С., Соколов А.В. и др. Методика одновременного определения карбамазепина и карбамазепин-10,11-эпоксида методом ВЭЖХ-МС/МС. *Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств* 2015; (4): 20-25.
5. Хабиева Н.А., Люст Е.Н., Тимерзянов М.И. Разработка методики определения карбамазепина на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием. *Судебно-медицинская экспертиза* 2024; 67(1): 25-28, doi: 10.17116/sudmed20246701125
6. Шабалин С.В., Вергейчик Т.Х. Методика изолирования карбамазепина из трупного материала и определение его методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа. *Судебно-медицинская экспертиза* 1993; 36(4): 29-30.
7. Chen R., Ershad M., Cruz M., et al. Carbamazepine Toxicity Masquerading as Complex Febrile Seizures in a Pediatric Patient. *Case Reports in Emergency Medicine* 2020; Article ID 1790310, doi: 10.1155/2020/1790310
8. Ghafghazia Sh., Zanjania T.M., Vosough M., et al. 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; 16(1): 120-131.
9. Jaouania R., Dellalia M., Mouneyracb C., et al. Assessment of carbamazepine acute toxicity in the cockle *Cerastoderma edule* through chemical, physiological and biochemical tools. *Brazilian Journal of Biology* 2022; 82: e247035, doi: 10.1590/1519-6984.247035

Validation of the Developed Method for the Determination of Carbamazepine in Blood Serum and Urine by High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Matrix Detection Using Absolute Calibration

Khabieva N. A.^{1,3}

Department Head¹; Assistant, Chair for Clinical Diagnostics with a course in Pediatrics³

Lyust E. N.²

Ph.D., Associate Professor, Chair for Toxicological Chemistry²

Timerzyanov M. I.^{1,3}

Doctor of Medicine, Associate Professor, Head¹; Head, Chair for Preventive Medicine³

1 – Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation

2 – Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, Perm, Russian Federation

3 – Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russian Federation

Corresponding Author: Khabieva Nataliya; **e-mail:** Khabieva.Nataliya@yandex.ru

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

For patients undergoing carbamazepine treatment, measuring its concentration in serum and urine may be appropriate to guide treatment. **Objective.** To validate the developed technique for the quantitative determination of carbamazepine in blood serum and urine. **Materials and methods.** In the work, biological fluids (blood serum and urine) were used as research objects. Quantitative determination of carbamazepine was carried out in the concentration range from 0,50 to 50,0 mcg/ml on a high-performance liquid chromatograph with diode-matrix detection (Agilent Technologies 1200) by absolute calibration method. To assess linearity, calibration graphs were constructed and the concentrations of the model mixtures were recalculated. The correctness and precision of the developed methodology was determined on the basis of sample analysis data. **Results of the study and their discussion.** The calibration dependences for blood serum and urine in the range of carbamazepine concentrations of 0,5 – 50,0 mcg/ml are linear. Reverse recalculation of concentrations according to the calibration schedule showed that the deviations of carbamazepine concentrations from the actual values did not exceed 15%. The limit of quantification was 0,5 mcg/ml. At validation of the method, the calculated values of the relative standard deviation do not exceed 6%, relative error – 10,2%. Specificity of the method in relation to carbamazepine was confirmed by the absence of peaks interfering with the determination of chromatograms relative to "blank" samples. **Conclusion.** The obtained results showed that the method of determination is sensitive, accurate, provides analytical range of measurement from 0,5 to 50,0 mcg/ml with satisfactory expressiveness of work. The technique provides a practical solution for therapeutic monitoring of carbamazepine content, determination of its concentration in forensic chemical practice.

Keywords: carbamazepine, therapeutic monitoring, forensic toxicology, blood serum, urine, validation, absolute calibration

References

1. Barsegyan S.S., Krasickaya E.L. Opredelenie karbamazepina pri sudebno-himicheskom issledovanii s primeneniem vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii. [Determination of carbamazepine in a forensic chemical study using high-performance liquid chromatography]. Trudy VII Vserossijskogo s«ezda sudebnyh medikov. [Proceedings of the VII All-Russian Congress of Forensic Physicians]. Moscow, 2013. Vol. 2. P. 122-125. (In Russ.)
2. Vergeychik T.H., Shabalin S.V. Opredelenie karbamazepina v trupnom materiale s ispol'zovaniem proizvodnoj spektrofotometrii. [Determination of carbamazepine in cadaveric material using derivative

- spectrophotometry]. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza [Forensic medical examination]* 1993; 36(1); 32-34. (In Russ.)
3. Pirogov A.V., Gandlevskij N.A., Vasil'eva A.A., et al. Vysokochuvstvitel'noe opredelenie karbamazepina, okskarbazepina, identifikaciya produktov ih degradacii v veshchestvennyh dokazatel'stvah i v trupnom materiale pecheni cheloveka metodom GH-MS. [Highly sensitive determination of carbamazepine, oxcarbazepine, identification of their degradation products in physical evidence and in human liver cadaver material by GC-MS method]. *Zhurnal analiticheskoy himii [Journal of Analytical Chemistry]* 2023; 78(6): 546-558. (In Russ.).
4. Rodina T.A., Melnikov E.S., Sokolov A.V., et al. Metodika odnovenennogo opredeleniya karbamazepina i karbamazepin-10,11-epoksida metodom VEZHKH-MS/MS. [The method of simultaneous determination of carbamazepine and carbamazepine-10.11-epoxide by HPLC-MS/MS]. *Vedomosti nauchnogo centra ekspertisy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulatornye issledovaniya i ekspertisa lekarstvennyh sredstv [Bulletins of the Scientific Centre for Expertise of Medicinal Products. Regulatory research and expertise of medicinal products]* 2015; (4): 20-25 (In Russ.)
5. Habieva N.A., Lyust E.N., Timerzyanov M.I. Razrabotka metodiki opredeleniya karbamazepina na osnove vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii s diodno-matrichnym detektirovaniem. [Development of a method for the determination of carbamazepine based on high-performance liquid chromatography with diode-matrix detection]. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza. [Forensic medical examination]* 2024; 67(1); 25-28, doi: 10.17116/sudmed20246701125 (In Russ.)
6. Shabalin S.V., Vergeyichik T.H. Metodika izolirovaniya karbamazepina iz trupnogo materiala i opredelenie ego metodom flyuorescentno-polyarizacionnogo immunoanaliza. [The method of isolating carbamazepine from cadaveric material and determining it by fluorescence-polarization immunoassay.] *Sudebno-medicinskaya ekspertiza [Forensic medical examination]* 1993; 36(4): 29-30. (In Russ.)
7. Chen R., Ershad M., Cruz M., et al. Carbamazepine Toxicity Masquerading as Complex Febrile Seizures in a Pediatric Patient. *Case Reports in Emergency Medicine* 2020; Article ID 1790310, doi: 10.1155/2020/1790310
8. 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; 16(1): 120-131.
9. Jaouania R., Dellalia M., Mouneyracb C., et al. Assessment of carbamazepine acute toxicity in the cockle *Cerastoderma edule* through chemical, physiological and biochemical tools. *Brazilian Journal of Biology* 2022; 82: e247035, doi: 10.1590/1519-6984.247035