

УДК 615.065:54.061/.062:547.712.22:001.8

<https://doi.org/10.24959/cphj.19.1482>*Л. Ю. Томаровська, С. В. Баюрка, С. А. Карпушина*

Національний фармацевтичний університет

РОЗРОБКА УМОВ АНАЛІТИЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ОТРУЄНЬ АТОМОКСЕТИНОМ

Атомоксетин є одним з основних лікарських препаратів для лікування синдрому дефіциту уваги і гіперактивності. Препарат неодноразово був причиною летальних отруєнь. Дані з визначення атомоксетину в біологічному матеріалі в літературі відсутні.

Мета дослідження. Встановлення розрізняльної спроможності відносно атомоксетину загальноприйнятих у хіміко-токсикологічному аналізі методів ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу.

Матеріали та методи. Дослідження проводили з модельними пробами печінки тварини, які містили досліджуваний препарат. Виявлення та кількісне визначення атомоксетину в екстрактах проводили за допомогою методів тонкошарової хроматографії, кольорових реакцій та УФ-спектрофотометрії.

Результати. Ефективність ізолювання препарату за методом А. О. Васильєвої складала $31,6 \pm 3,0$ %, за методом Стаса-Отто – $25,6 \pm 2,9$ %, за методом В. П. Крамаренка – $26,8 \pm 2,8$ %. Встановлені межі виявлення (LOD) та кількісного визначення (LOQ) УФ-спектрофотометричного методу визначення атомоксетину в біологічному матеріалі в залежності від методу прободготовки. Значення LOD та LOQ склали відповідно 5,3 та 16,2 мкг/мл (при використанні методу А. О. Васильєвої) і 2,3 та 7,1 мкг/мл (при використанні методу В. П. Крамаренка), що перевищувало відповідні значення, отримані для стандартних розчинів атомоксетину (1,8 та 5,6 мкг/мл, відповідно). Значення LOD та LOQ, що відповідали ізолюванню за методом Стаса-Отто, становили 1,7 та 5,3 мкг/мл, відповідно.

Висновки. Найвищу селективність УФ-спектрофотометричного методу визначення атомоксетину у біологічному матеріалі по відношенню до матричних компонентів забезпечувало ізолювання за методом Стаса-Отто.

Ключові слова: атомоксетин; загальні методи ізолювання; тонкошарова хроматографія; УФ-спектрофотометрія

*L. Yu. Tomarovska, S. V. Baiurka, S. A. Karpushyna**National University of Pharmacy*

Development of the analytical diagnostics of atomoxetine poisonings

Atomoxetine is one of the main drugs used for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. The drug has repeatedly been the cause of fatal poisonings. Data on atomoxetine determination in the biological material are missing in the literature.

Aim. To determine the recovery of the methods generally accepted in chemico-toxicological analysis for drug isolation from the biological material with regard to atomoxetine.

Materials and methods. The study was performed with the model animal liver samples containing the drug under research. The detection and quantitative determination of the drug in the extracts was performed using thin-layer chromatography, color reactions and UV spectrophotometry.

Results. The recovery of the drug isolation was of 31.6 ± 3.0 % according to A. A. Vasylieva's method, 25.6 ± 2.9 % according to Stas-Otto's method, and 26.8 ± 2.8 % according to V. Ph. Kramarenko's method. The limits of detection (LOD) and quantitative determination (LOQ) of the UV-spectrophotometric method for determination of atomoxetine in the biological material depending on the sample preparation method were determined. The LOD and LOQ values were 5.3 and 16.2 $\mu\text{g/ml}$ (using A. A. Vasylieva's method) and 2.3 and 7.1 $\mu\text{g/ml}$ (using V. Ph. Kramarenko's method), respectively. These values exceeded the corresponding values obtained for the standard solutions of atomoxetine, they were of 1.8 and 5.6 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The LOD and LOQ values corresponding to isolation by Stas-Otto's method were of 1.7 and 5.3 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Conclusions. Isolation according to Stas-Otto's method has provided the highest selectivity of the UV-spectrophotometric method for atomoxetine determination in the biological material with regard to the matrix components.

Key words: atomoxetine; general isolation methods; thin-layer chromatography; UV-spectrophotometry

*Л. Ю. Томаровская, С. В. Баюрка, С. А. Карпушина**Национальный фармацевтический университет*

Разработка условий аналитической диагностики отравлений атомоксетином

Атомоксетин является одним из основных лекарственных препаратов для лечения синдрома дефицита внимания и гиперактивности. Препарат неоднократно был причиной летальных отравлений. Данные по определению атомоксетина в биологическом материале в литературе отсутствуют.

Цель исследования. Установление разрешающей способности относительно атомоксетина общепринятых в химико-токсикологическом анализе методов изолирования лекарственных веществ из биологического материала.

Матеріали і методи. Исследования проводили с модельними пробами печени животного, содержащих исследуемый препарат. Обнаружение и количественное определение атомоксетина в экстрактах проводили с помощью методов тонкослойной хроматографии, цветных реакций и УФ-спектрофотометрии.

Результаты. Эффективность изолирования препарата по методу А. А. Васильевой составила $31,6 \pm 3,0$ %, по методу Стаса-Отто – $25,6 \pm 2,9$ %, по методу В. Ф. Крамаренко – $26,8 \pm 2,8$ %. Установлены пределы обнаружения (LOD) и количественного определения (LOQ) УФ-спектрофотометрического метода определения атомоксетина в биологическом материале в зависимости от метода пробоподготовки. Значения LOD и LOQ составили соответственно 5,3 и 16,2 мкг/мл (при использовании метода А. А. Васильевой) и 2,3 и 7,1 мкг/мл (при использовании метода В. Ф. Крамаренко), что превышало соответствующие значения, полученные для стандартных растворов атомоксетина (1,8 и 5,6 мкг/мл, соответственно). Значения LOD и LOQ, соответствующие изолированию по методу Стаса-Отто, составляли 1,7 и 5,3 мкг/мл, соответственно.

Выводы. Наибольшую селективность УФ-спектрофотометрического метода определения атомоксетина в биологическом материале по отношению к матричным компонентам обеспечивало изолирование по методу Стаса-Отто.

Ключевые слова: атомоксетин; общие методы изолирования; тонкослойная хроматография; УФ-спектрофотометрия

Атомоксетин ((3R)-N-метил-3-(2-метилфенокси)-3-фенилпропан-1-амін) є одним з основних лікарських препаратів для лікування синдрому дефіциту уваги і гіперактивності у дітей та дорослих, який не є психостимулятором [1, 2]. Фармакологічна дія атомоксетину зумовлена високоселективним потужним інгібуванням пресинаптичних переносників норадреналіну. При цьому препарат має мінімальну спорідненість до інших норадренергічних рецепторів, а також до рецепторів інших нейротрансмітерів. Атомоксетин має ряд побічних ефектів [2, 3], з яких найбільш серйозним ускладненням є поява суїцидальних думок [4].

Препарат неодноразово був причиною смертельних отруєнь [4-6]. Летальні концентрації атомоксетину у печінці, зареєстровані у різних випадках отруєнь, знаходились у межах від 0,44 до 29 мг/кг [6]. Оскільки клінічна та патоморфологічна картина отруєння вказаним препаратом є нехарактерною, важливого значення набувають методи аналітичної діагностики таких отруєнь.

Запропоновані біоаналітичні методи визначення атомоксетину в плазмі крові за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з УФ- [7-9], флюорометричним [10], мас-спектрометричним [11, 12] детектуванням, методом капілярного електрофорезу [13]. При дослідженні біологічного матеріалу на присутність лікарських речовин в умовах токсикологічного скринінгу пробопідготовку, зазвичай, проводять за допомогою загальних методів ізолювання (А. О. Васильєвої, Стаса-Отто, В. П. Крамаренка) [14, 15]. Дані з виявлення та визначення атомоксетину в біологічному матеріалі в літературі відсутні.

Метою дослідження було встановлення розривальної спроможності відносно атомоксетину загальноприйнятих у хіміко-токсикологічному аналізі методів ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували субстанцію атомоксетину, яка була виділена з лікарсь-

кого засобу «Страттера» (7 капсул по 60 мг) виробництва «Lilly» (Чехія) за методикою, наведеною в роботі [16].

Дослідження проводили з модельними пробами печінки тварини, які містили досліджуваний препарат. Для цього до 20 г подрібненої печінки додавали по 2 мл водного розчину атомоксетину, що містив 2000 мкг атомоксетину-основи, і залишали на 24 год. Паралельно ставили холості досліді.

Виявлення та кількісне визначення атомоксетину в екстрактах проводили за допомогою методів тонкошарової хроматографії (ТШХ), кольорових реакцій та УФ-спектрофотометрії, умови яких було встановлено у попередніх дослідженнях [16, 17].

Пробопідготовка. Атомоксетин ізолювали з модельних проб печінки екстракцією водою, підкисленою кислотою оксалатною (за методом А. О. Васильєвої), етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (за методом Стаса-Отто), водою, підкисленою кислотою сульфатною (за методом В. П. Крамаренка) згідно з загальноприйнятими методиками [15]. При цьому зменшивши наважку біологічного об'єкта в п'ять разів, об'єми органічних розчинників зменшували вдвічі. Отримані хлороформні екстракти піддавали додатковій екстракційній та ТШХ-очистці. Для цього хлороформні екстракти переносили до фарфорової чашки, випаровували їх на водяній бані при температурі не вище 40 °С. Сухий залишок розчиняли у фарфоровій чашці у 20 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної, вміст чашки ретельно перемішували, переносили до ділильної лійки і кислий розчин двічі (по 10 мл) збовтували з діетиловим етером, відкидаючи фазу органічного розчинника. Після цього кислий водний залишок підлугували 10 % розчином натрію гідроксиду до рН 11-12, насичували водний розчин амонію сульфатом і двічі екстрагували атомоксетин хлороформом по 10 мл кожного разу. Хлороформні витяжки фільтрували через паперовий фільтр з 0,5 г безводного натрію сульфату до мірної колби місткістю 10 мл і доводили до позначки хлороформом.

Відбирали 5 мл хлороформного екстракту, переносили його до фарфорової чашки, випаровували до мінімального об'єму (0,05 мл) і наносили смугою на лінію старту хроматографічної пластини обраного типу. На відстані 2 см від вказаної смуги наносили 10 мкл стандартного розчину атомоксетину в метанолі (2 мг/мл). У третю точку наносили 0,5 мл хлороформного екстракту, випареного до мінімального об'єму (0,05 мл). Аналогічно на пластину наносили 0,5 мл та 5 мл холостого екстракту, відповідно, у точку та смугою. В дослідженні використовували хроматографічні пластини Sorbfil (силікагель СТХ-1 ВЕ, тип підложки – ПЕТФ, зв'язуюча речовина – силіказоль, фракція – $8 \div 12$ мкм, товщина шару – 100 мкм, розмір пластин 10×10 см) або Merck (Silica gel 60 F254, розмір 10×20 см, Німеччина).

Хроматограму розвивали послідовно у двох рухомих фазах: хлороформ і етилацетат – метанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (85:10:5). Хроматограму проявляли послідовно в УФ-світлі, розчином нінгідрину в ацетоні, а потім реактивом Драгендорфа у модифікації за Муньє, залишаючи не проявленими смуги, що відповідали 5 мл екстрактів, які були нанесені смугою. Атомоксетин елюювали 4 мл метанолу з непроявленої смуги хроматограми на рівні, що відповідав плямі стандартного розчину препарату ($R_f = 0,74$ на пластинах Sorbfil або $R_f = 0,49$ на пластинах Merck). Аналогічно одержували холостий елюат.

Виявлення атомоксетину в хлороформних екстрактах за допомогою ТШХ та хромогенних реакцій. На дві хроматографічні пластини обраного типу наносили по 0,5 мл досліджуваного екстракту, випареного до мінімального об'єму (0,05 мл), 0,5 мл холостого екстракту та 10 мкл стандартного розчину атомоксетину в метанолі (2 мг/мл). На одну з пластин всі проби наносили двічі. Хроматограми розвивали у рухомих фазах: циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10), толуен – ацетон – етанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (45:45:7,5:2,5). Хроматограму, що містила по дві проби досліджуваних екстрактів, проявляли реактивами Фреде і Маркі. Другу хроматограму обробляли реактивом Манделіна та парою формальдегіду послідовно (модифікований реактив Манделіна). Відмічали забарвлення та їх переходи.

Виявлення та кількісне визначення атомоксетину в елюатах УФ-спектрофотометричним методом. Метанольний елюат випаровували, сухий залишок розчиняли в 5 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної та знімали УФ-спектр отриманого розчину на спектрофотометрі СФ-46 (ЛОМО), спектральний діапазон вимірювань скла-

дав від 190 до 1100 нм. УФ-спектри знімали у діапазоні довжин хвиль 225-320 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як компенсаційний розчин використовували холостий елюат. Концентрацію препарату в елюатах (x , мкг/мл) розраховували за рівнянням градувального графіка: $y = (0,00455 \pm 4 \cdot 10^{-5})x + (0,016 \pm 0,005)$ (для λ_{\max} 270 нм), який було встановлено у попередньому дослідженні [17].

Результати та їх обговорення

Методика пробопідготовки, розроблена для проведення ТШХ-скринінгу та УФ-спектрофотометричного визначення атомоксетину в біологічному матеріалі, включала екстракцію препарату підкисленою водою або підкисленим етанолом згідно з загальноприйнятими методами ізолювання за А. О. Васильєвою, Стасом-Оттом або В. П. Крамаренком, додаткову екстракційну та ТШХ-очистку. Методика екстракційної очистки була оптимізована на основі отриманих нами даних зі ступеня екстракції атомоксетину з водних розчинів у залежності від рН середовища, природи органічного розчинника та присутності висолувача [18].

Виявлення атомоксетину методом ТШХ проводили в хлороформних екстрактах, які були отримані після додаткової екстракційної очистки, в умовах, рекомендованих Комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів (ТІАФТ) для загального ТШХ-скринінгу [5, 14]. Хроматографічне дослідження проводили з використанням трьох рухомих фаз та хромогенних реактивів у такій послідовності: УФ-світло, розчин нінгідрину, реактив Драгендофа, реактив Фреде, реактив Маркі, модифікований реактив Манделіна, що дозволяло ідентифікувати атомоксетин у присутності ряду його структурних та фармакологічних аналогів [16].

Значення R_f атомоксетину в екстрактах співпадало з величиною хроматографічної рухливості препарату в стандартному розчині та становили в наступних рухомих фазах, відповідно, на пластинах Sorbfil та Merck: етилацетат – метанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (85:10:5) – 0,74 та 0,49, циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10) – 0,30 та 0,23, толуен – ацетон – етанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (45:45:7,5:2,5) – 0,56 та 0,47. При дослідженні холостих екстрактів плям зі вказаними значеннями R_f не спостерігали.

При проявленні атомоксетину на хроматограмах спостерігали (чутливість, мкг у пробі): в УФ-світлі – фіолетову флюоресценцію при 254 нм (0,3) та блідо-жовту флюоресценцію при 365 нм (0,5), при обробці нінгідрином – роже-

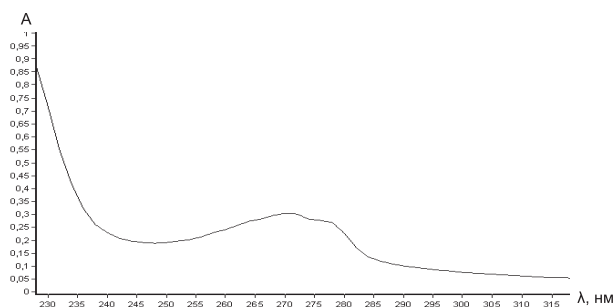


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання атомоксетину (в 0,1 М розчині кислоти хлоридної), виділеного з печінки за методом Васильєвої А. О.

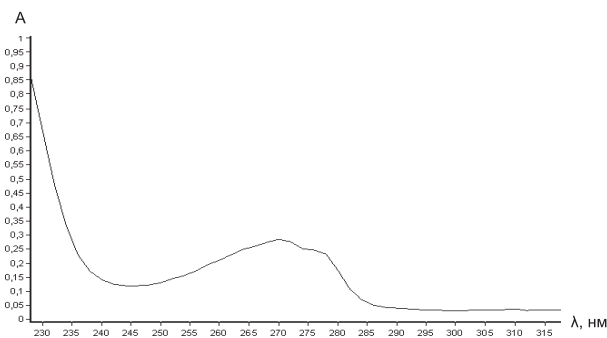


Рис. 2. УФ-спектр світлопоглинання атомоксетину (в 0,1 М розчині кислоти хлоридної), виділеного з печінки за методом Стаса-Отто

во-фіолетове забарвлення (2,0), реактивом Драгендорфа в модифікації за Мунье (може бути використаний після попередньої обробки плями нінгідрином) – оранжеве забарвлення (0,5), реактивом Фреде – синє забарвлення (1,0), реактивом Маркі – рожеве забарвлення (2,0), модифікованим реактивом Манделіна – рожеве забарвлення, що переходило у жовте (5,0). При дослідженні холостих екстрактів вказаних забарвлень не спостерігали.

Ідентифікацію та кількісне визначення препарату УФ-спектрофотометричним методом проводили після додаткової очистки екстрактів методом ТШХ. Ступінь елюювання атомоксетину метанолом складав 99,4 %. УФ-спектр елюатів з хроматограм був аналогічним спектру стандартного розчину атомоксетину в 0,1 М кислоті хлоридній [16] та мав смуги поглинання при 270 ± 2 і 277 ± 2 нм (рис. 1-3). УФ-спектри холостих елюатів максимумів світлопоглинання при вказаних довжинах хвиль не мали.

Концентрацію препарату в елюатах визначали УФ-спектрофотометричним методом за методикою, наведеною в роботі [17]. Кількісне визначення проводили при довжині хвилі 270 нм, яка відповідала вищій інтенсивності. Калібрувальний графік був лінійним у межах концентрацій атомоксетину 15,0-210 мкг/мл; значення межі виявлення (LOD) та межі кількісного визначення та (LOQ) становили, відповідно, 1,8 мкг/мл та 5,6 мкг/мл.

Результати кількісного визначення атомоксетину, виділеного з печінки за методами А. О. Васильєвої, Стаса-Отто і В. П. Крамаренка, наведені в табл. 1. Як видно з даних таблиці, за допомогою запропонованих методик з печінки можна виділити $31,6 \pm 3,0$ %, $25,6 \pm 2,9$ %, $26,8 \pm 2,8$ % атомоксетину, відповідно.

На основі величин світлопоглинання холостих елюатів, отриманих з використанням різних методів прободіготовки, були розраховані LOD та LOQ УФ-спектрофотометричного ме-

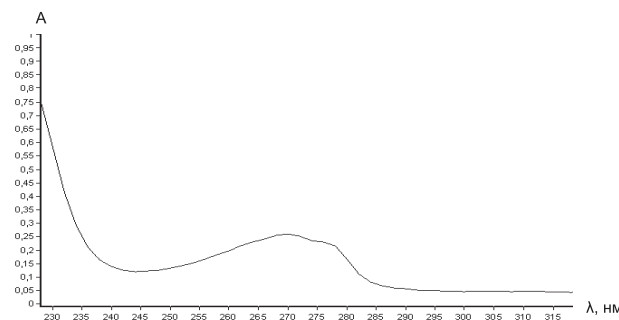


Рис. 3. УФ-спектр світлопоглинання атомоксетину (в 0,1 М розчині кислоти хлоридної), виділеного з печінки за методом Крамаренка В. П.

тоду визначення атомоксетину в біологічному матеріалі (табл. 2) за формулами:

$$\text{LOD} = 3,3 \cdot S/b, \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot S/b, \quad (2)$$

де: S – стандартне відхилення аналітичного сигналу холостого елюату;

b – коефіцієнт інструментальної чутливості методу аналізу, який дорівнює тангенсу кута нахилу прямої ділянки калібрувальної прямої [19, 20].

Як видно з табл. 2, значення LOD та LOQ, що відповідають прободіготовці з використанням методів А. О. Васильєвої та В. П. Крамаренка, перевищують відповідні значення, отримані для стандартного розчину атомоксетину. Останнє обумовлено наявністю впливу співекстрактивних компонентів біологічної матриці на результати УФ-спектрофотометричного визначення атомоксетину. При цьому прободіготовка з використанням методу В. П. Крамаренка забезпечує значно вищу селективність УФ-спектрофотометричного визначення по відношенню до матричних компонентів, ніж ізолювання за методом А. О. Васильєвої. Значення LOD та LOQ, розраховані на основі величин світлопоглинання холостих елюатів, що отримані за методом Стаса-Отто, дещо нижчі, ніж ті, що були визначені для

Таблиця 1

Результати УФ-спектрофотометричного визначення атомоксетину, виділеного з печінки за методами А. О. Васильєвої, Стаса-Отто, В. П. Крамаренка

Метод ізолювання	Додано атомоксетину до 20 г печінки, мкг	Виділено атомоксетину		Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0,95)
		мкг	%	
Настоювання з водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод А. О. Васильєвої)	2000	668 714 633 552 589	33,4 35,7 31,7 27,6 29,5	$\bar{X} = 31,6$ $S = 3,181$ RSD = 10,1 % $S_{\bar{x}} = 1,422$ $\Delta\bar{X} = 3,0$ $\varepsilon = 9,6 \%$
Настоювання з етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса-Отто)	2000	523 596 426 490 525	26,2 29,8 21,3 24,5 26,3	$\bar{X} = 25,6$ $S = 3,090$ RSD = 12,1 % $S_{\bar{x}} = 1,382$ $\Delta\bar{X} = 2,9$ $\varepsilon = 11,5 \%$
Настоювання з водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод В. П. Крамаренка)	2000	481 569 608 473 545	24,1 28,5 30,5 23,7 27,3	$\bar{X} = 26,8$ $S = 2,904$ RSD = 10,8 % $S_{\bar{x}} = 1,299$ $\Delta\bar{X} = 2,8$ $\varepsilon = 10,4 \%$

Таблиця 2

Значення межі виявлення та межі кількісного визначення УФ-спектрофотометричного методу визначення атомоксетину в екстрактах з біологічного матеріалу, розраховані за величинами аналітичного сигналу «холостих» дослідів

Метод ізолювання	Середнє значення A_{blank}	Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0,95)				LOD, мкг/мл	LOQ, мкг/мл
		S	RSD, %	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{X}$		
За А. О. Васильєвою	0,079	0,00737	9,3	0,00330	0,007	5,3	16,2
За Стасом-Отто	0,016	0,00241	14,7	0,00108	0,002	1,7	5,3
За В. П. Крамаренком	0,023	0,00321	13,7	0,00144	0,003	2,3	7,1

стандартного розчину атомоксетину. Останнє свідчить про відсутність впливу співекстрактивних компонентів біологічної матриці на результати УФ-спектрофотометричного визначення атомоксетину в біологічному матеріалі.

ВИСНОВКИ

1. Методика пробопідготовки при проведенні ТШХ-скринінгу та УФ-спектрофотометричного визначення атомоксетину в біологічному матеріалі полягала в екстракції препарату підкисленою водою або підкисленим етанолом згідно з загальноприйнятими методами ізолювання за А. О. Васильєвою, Стасом-Отто або В. П. Кра-

маренком з наступною екстракційною та ТШХ-очисткою в оптимізованих умовах.

2. Ефективність ізолювання препарату за методом А. О. Васильєвої складала $31,6 \pm 3,0 \%$, за методом Стаса-Отто – $25,6 \pm 2,9 \%$, за методом В. П. Крамаренка – $26,8 \pm 2,8 \%$.

3. Найвищу селективність УФ-спектрофотометричного методу визначення атомоксетину в біологічному матеріалі по відношенню до матричних компонентів забезпечувало ізолювання за методом Стаса-Отто, найнижчу – за методом А. О. Васильєвої.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

1. Childress, A. C. A critical appraisal of atomoxetine in the management of ADHD / A. C. Childress // *Ther. Clin. Risk Manag.* – 2015. – Vol. 12. – P. 27 – 39. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s59270>
2. The Safety of Atomoxetine for the Treatment of Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Comprehensive Review of Over a Decade of Research / V. A. Reed, J. K. Buitelaar, E. Anand et al. // *CNS Drugs.* – 2016. – Vol. 30, Issue 7. – P. 603 – 628. <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0349-0>
3. Baselt, C. R. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man: 9th ed.* – Seal Beach, California: Biomedical Publications, 2011. – 1900 p.
4. Paxton, G. A. Acute suicidality after commencing atomoxetine / G. A. Paxton, N. E. Cranswick // *J. Paediatr. Child Health.* – 2008. – Vol. 44, Issue 10. – P. 596 – 598. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2008.01389.x>
5. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th ed. / ed. by A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop. – London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2011. – 2736 p.
6. Garside, D. Postmortem tissue distribution of atomoxetine following fatal and nonfatal doses – three case reports / D. Garside, J. D. Ropero-Miller, E. C. Riemer // *J. Forensic Sci.* – 2006. – Vol. 51 (1). – P. 179 – 182. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2005.00021.x>
7. A new high performance liquid chromatographic method for quantification of atomoxetine in human plasma and its application for pharmacokinetic study / C. Patel, M. Patel, S. Rani et al. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2007. – Vol. 850, Issue 1 – 2. – P. 356 – 360. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.12.011>
8. Determination of atomoxetine in human plasma by a high performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection using liquid-liquid extraction / W. Guo, W. Li, G. Guo et al. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2007. – Vol. 854, Issue 1 – 2. – P. 128 – 134. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.04.007>
9. Relative bioequivalence evaluation of two oral atomoxetine hydrochloride capsules: a single dose, randomized, open-label, 2-period crossover study in healthy Chinese volunteers under fasting conditions / D. W. Shang, W. Guo, F. C. Zhou et al. // *Drug Res. (Stuttg.)*. – 2013. – Vol. 63 (11). – P. 564 – 567. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1349070>
10. Sensitive quantification of atomoxetine in human plasma by HPLC with fluorescence detection using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl) benzoyl chloride derivatization / H. J. Zhu, J. S. Wang, J. L. Donovan et al. // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2007. – Vol. 846, Issue 1 – 2. – P. 351 – 354. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.08.019>
11. Simultaneous quantification of atomoxetine as well as its primary oxidative and O-glucuronide metabolites in human plasma and urine using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) / J. H. Mullen, R. L. Shugert, G. D. Ponsler et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2005. – Vol. 38, Issue 4. – P. 720 – 733. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.007>
12. A liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the analysis of atomoxetine in human plasma and in vitro cellular samples / D. I. Appel, B. Brinda, J. S. Markowitz et al. // *Biomed. Chromatogr.* – 2012. – Vol. 26, Issue 11. – P. 1364 – 1370. <https://doi.org/10.1002/bmc.2706>
13. Capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence for determination of atomoxetine hydrochloride and the study on its interactions with three proteins / H. J. Zeng, R. Yang, Y. Zhang et al. // *Luminescence.* – 2015. – Vol. 30, Issue 2. – P. 124 – 130. <https://doi.org/10.1002/bio.2700>
14. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / С. В. Баюрка, В. С. Бондар, С. І. Мерзлікін та ін. – Х. : НФаУ ; Золоті сторінки, 2017. – 384 с.
15. Крамаренко, В. П. Токсикологічна хімія. – К. : Вища школа, 1995. – 423 с.
16. Tomarova, L. Yu. Development of the methods for atomoxetine identification suitable for the chemical and toxicological analysis / L. Yu. Tomarova, S. V. Baiurka, S. A. Karpushyna // *Вісник фармації.* – 2017. – № 2 (90). – С. 13 – 20. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2154>
17. Tomarova, L. Yu. Development of the UV-spectrophotometric and extraction-spectrophotometric methods of the atomoxetine quantitative determination suitable for the chemical and toxicological analysis / L. Yu. Tomarova, S. V. Baiurka, S. A. Karpushyna // *Вісник фармації.* – 2017. – № 4 (92). – С. 15 – 19. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2191>
18. Baiurka, S. V. Determination of the optimum conditions for solvent extraction of atomoxetine from biological fluids / S. V. Baiurka, S. A. Karpushyna, L. Yu. Tomarova // *New trends in the scientific world: Proceedings of XXVI International scientific conference (Morrisville, September 8, 2018).* – Morrisville : Lulu Press, 2018. – P. 102 – 103.
19. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., доп. 2. – Х. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
20. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). Current Step 4 version [Electronic resource]. – 2005. – P. 13. – Режим доступу : http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/-Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf

References

1. Childress, A. C. (2015). A critical appraisal of atomoxetine in the management of ADHD. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 12, 27 – 39. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s59270>
2. Reed, V. A., Buitelaar, J. K., Anand, E., Day, K. A., Treuer, T., Upadhyaya, H. P., ... Savill, N. C. (2016). The Safety of Atomoxetine for the Treatment of Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Comprehensive Review of Over a Decade of Research. *CNS drugs*, 30 (7), 603 – 628. <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0349-0>
3. Baselt, C. R. (2011). *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man: 9th ed.* Seal Beach, California: Biomedical Publications, 1900.
4. Paxton, G. A., Cranswick, N. E. (2008). Acute suicidality after commencing atomoxetine. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 44 (10), 596 – 598. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2008.01389.x>

5. Moffat, A. C., Osselton, M. D., Widdop B., Clarke, E. G. C. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material, (4-th ed.)*. London, Chicago : Pharmaceutical Press, 2736.
6. Garside, D., Roper-Miller, J. D., Riemer, E. C. (2006). Postmortem tissue distribution of atomoxetine following fatal and nonfatal doses – three case reports. *Journal of Forensic Sciences*, 51 (1), 179 – 182. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2005.00021.x>
7. Patel, C., Patel, M., Rani, S., Nivsarkar, M., Padh, H. (2007). A new high performance liquid chromatographic method for quantification of atomoxetine in human plasma and its application for pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 850 (1 – 2), 356 – 360. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.12.011>
8. Guo, W., Li, W., Guo, G., Zhang, J., Zhou, B., Zhai, Y., Wang, C. (2007). Determination of atomoxetine in human plasma by a high performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection using liquid-liquid extraction. *Journal of Chromatography B*, 854 (1), 128 – 134. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.04.007>
9. Shang, D. W., Guo, W., Zhou, F. C., Wang, X. P., Li, A. N., Zhang, L., Wang, C. Y. (2013). Relative bioequivalence evaluation of two oral atomoxetine hydrochloride capsules: a single dose, randomized, open-label, 2-period crossover study in healthy Chinese volunteers under fasting conditions. *Drug Research*, 63 (11), 564 – 567. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1349070>
10. Zhu, H. J., Wang, J. S., Donovan, J. L., De Vane, C. L., Gibson, B. B., Markowitz, J. S. (2007). Sensitive quantification of atomoxetine in human plasma by HPLC with fluorescence detection using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl) benzoyl chloride derivatization. *Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 846 (1 – 2), 351–354. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.08.019>
11. Mullen, J. H., Shugert, R. L., Ponsler, G. D., Li, Q., Sundaram, B., Coales, H. L., Sauer, J. M. (2005). Simultaneous quantification of atomoxetine as well as its primary oxidative and *O*-glucuronide metabolites in human plasma and urine using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38 (4), 720 – 733. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.007>
12. Appel, D. I., Brinda, B., Markowitz, J. S., Newcorn, J. H., Zhu, H. J. (2012). A liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the analysis of atomoxetine in human plasma and in vitro cellular samples. *Biomedical Chromatography*, 26 (11), 1364 – 1370. <https://doi.org/10.1002/bmc.2706>
13. Zeng, H. J., Yang, R., Zhang, Y., Li, J. J., Qu, L. B. (2015). Capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence for determination of atomoxetine hydrochloride and the study on its interactions with three proteins. *Luminescence*, 30 (2), 124 – 130. <https://doi.org/10.1002/bio.2700>
14. Baiurka, S. V., Bondar, V. S., Merzlikin, S. I., Karpushyna, S. A., Pohosian, O. H., Poluiian, S. M., Stepanenko, V. I., ... Kovalov, V. M. (2017). *Analitichna toksykologhiia*. Kharkiv: NFAU: Zoloti storinky, 384.
15. Kramarenko, V. P. (1995). *Toksykologichna khimiia*. Kyiv: Vyshcha shkola, 423.
16. Tomarovska, L. Yu., Baiurka, S. V., Karpushyna, S. A. (2017). Development of the methods for atomoxetine identification suitable for the chemical and toxicological analysis. *Visnik Farmacii*, 2 (90), 13 – 20. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2154>
17. Tomarovska, L. Yu., Baiurka, S. V., Karpushyna, S. A. (2017). Development of the UV-spectrophotometric and extraction-spectrophotometric methods of the atomoxetine quantitative determination suitable for the chemical and toxicological analysis. *Visnik Farmacii*, 4 (92), 15 – 19. <https://doi.org/10.24959/nphj.17.2191>
18. Baiurka, S. V., Karpushyna, S. A., Tomarovska, L. Yu. (2018). Determination of the optimum conditions for solvent extraction of atomoxetine from biological fluids. *New trends in the scientific world: Proceedings of XXVI International scientific conference (Morrisville, September 8, 2018)*. Morrisville: Lulu Press, 102 – 103.
19. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 1-st ed.* (2008). Kharkiv: "Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr", 620.
20. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). Current Step 4 version.* (2005). Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/-Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf

Відомості про авторів / Information about authors / Сведения об авторах

Томаровська Л. Ю., асистент кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0003-4322-6379>). E-mail: mt191992@gmail.com

Tomarovska L. Yu., teaching assistant of the Physical and Colloid Chemistry Department, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0003-4322-6379>). E-mail: mt191992@gmail.com

Томаровская Л. Ю., ассистент кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0003-4322-6379>). E-mail: mt191992@gmail.com

Баюрка С. В., доктор фармацевтичних наук, доцент, завідувач кафедри лікарської та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет (<http://orcid.org/0000-0001-7505-6322>). E-mail: bayurka.sergii@gmail.com

Baiurka S. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), associate professor, head of the Drug and Analytical Toxicology Department, National University of Pharmacy (<http://orcid.org/0000-0001-7505-6322>). E-mail: bayurka.sergii@gmail.com

Баюрка С. В., доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой лекарственной и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет (<http://orcid.org/0000-0001-7505-6322>). E-mail: bayurka.sergii@gmail.com

Карпушина С. А., кандидат хімічних наук, доцент кафедри лікарської та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет (<http://orcid.org/0000-0001-8834-4286>). E-mail: svitkrp@gmail.com

Karpushyna S. A., Candidate of Chemistry (Ph.D.), associate professor of the Drug and Analytical Toxicology Department, National University of Pharmacy (<http://orcid.org/0000-0001-8834-4286>). E-mail: svitkrp@gmail.com

Карпушина С. А., кандидат химических наук, доцент кафедры лекарственной и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет (<http://orcid.org/0000-0001-8834-4286>). E-mail: svitkrp@gmail.com

Адреса для листування: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4, кафедра лікарської та аналітичної токсикології НФаУ. Тел.: (0572) 679192. E-mail: toxchem@nuph.edu.ua

Mailing address: 4, Valentynivska str., Kharkiv, 61168, Department of the Drug and Analytical Toxicology. Tel.: (0572) 679192. E-mail: toxchem@nuph.edu.ua

Адрес для переписки: 61168, г. Харьков, ул. Валентиновская, 4, кафедра лекарственной и аналитической токсикологии. Тел.: (0572) 679192. E-mail: toxchem@nuph.edu.ua