

ОБНАРУЖЕНИЕ КЛОБАЗАМА В МОЧЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А. М. Орлова¹, Р. А. Калёкин¹, А. А. Волкова¹, С. Р. Невмятова¹, Н. В. Полушкина²

¹Российский центр судебно-медицинской экспертизы, Москва, Россия

²Научно-практический центр детской психоневрологии, Москва, Россия

Поступила в редакцию 31.03.2021 г.

Аннотация. В настоящее время в медицинской практике широко в оборот вошли агонисты бензодиазепиновых рецепторов. Наименее изученным представителем данных препаратов является клобазам – лекарственное вещество группы бензодиазепинов. Клобазам включен в список психоактивных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен, а его незаконное приобретение, хранение, перевозка, изготовление, переработка без цели сбыта уголовно преследуется по статье 228 Уголовного Кодекса Российской Федерации.

В доступной литературе за последние 20 лет нет данных по исследованию клобазам для целей и задач судебно-химических и химико-токсикологических исследований. Возможно, это было обусловлено попаданием его в Список психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых допускается исключение некоторых мер контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (список III) в 1998 году. Только 20 августа 2020 года было получено регистрационное удостоверение на лекарственный препарат Фризиум (МНН клобазам), которое обусловило наличие данного препарата в гражданском обороте на территории РФ. Согласно вышеизложенному, изучение клобазам со стороны исследования в области химико-токсикологического и судебно-химического исследования является актуальным.

В химико-токсикологическом и судебно-химическом анализе наиболее часто применяется метод хроматографии в тонких слоях сорбентов, особенно, в качестве предварительного метода исследования. В качестве неподвижной фазы использовались хроматографические пластинки «Сорбфил УФ- 254», а подвижной фазой была системы растворителей в двух вариантах. Детектирование проводили при использовании УФ-света при длине волны 254 нм с последующей обработкой парами йода. Обработка пластин УФ-светом велась в закрытой комнате без доступа света с адсорбцией волн длиной 254 нм. Обработка парами йода проводилась через 30 минут после облучения УФ-светом

Разработана методика обнаружения клобазам в извлечении из мочи методом тонкослойной хроматографии с использованием систем растворителей - хлороформ : н-гептан : метанол (85:10:5) и хлороформ : ацетон (90:10) со значениями R_f клобазам 85 и 68 соответственно. Подобранные системы растворителей для проведения ТСХ клобазам в моче показали высокий коэффициент (K_{RF}) разделения (более 3,15) пятен исследуемого вещества с соэкстрактивными веществами из мочи. Данная методика предложена для проведения химико-токсикологического и судебно-химического исследования клобазам в моче.

Ключевые слова: клобазам, тонкослойная хроматография, химико-токсикологическое исследование.

В настоящее время в медицинской практике широко в оборот вошли агонисты бензодиазепиновых рецепторов [1-3]. Наименее изученным представителем данных препаратов является клобазам – лекарственное вещество группы бензодиазепинов (рисунок 1).

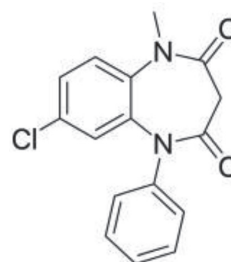


Рис. 1. Структурная формула клобазам.

Клобазам включен в список психоактивных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен [4,5], а его незаконное приобретение, хранение, перевозка, изготовление, переработка без цели сбыта уголовно преследуется по статье 228 Уголовного Кодекса Российской Федерации.

Однако, в связи с потребностью клобазам в российской практической медицине, 26 сентября 2019 года Правительством РФ (Заседание Правительства 2019 года, №32) было принято распоряжение, в соответствии с которым клобазам (в форме «Фризиума») и ряд других запрещенных в РФ препаратов могут быть закуплены Московским эндокринным заводом для нужд медицины [6].

В доступной литературе за последние 20 лет [7-12] нет данных по исследованию клобазам для целей и задач судебно-химических и химико-токсикологических исследований, хотя он широко применяется и имеет положительные медицинские характеристики наряду с токсичностью, позволяющие ему на наш взгляд еще достаточно длительно использоваться в медицинской практике [13-20], что повышает актуальность исследования данного препарата. Возможно, это было обусловлено попаданием его в Список психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации ограничен и в отношении которых допускается исключение некоторых мер контроля в соответствии с законодательством Российской Федерации и международными договорами Российской Федерации (список III) в 1998 году [21]. Только 20 августа 2020 года было получено регистрационное удостоверение ЛП-006422-240820 [22] на лекарственный препарат «Фризиум» (МНН клобазам), которое обусловило наличие данного препарата в гражданском обороте на территории РФ. В организме клобазам метаболизируется и выводится из организма как в нативном виде, так и в виде метаболитов (сопутствующий нативному веществу метаболит норклобазам) путем почечной элиминации [22]. Согласно вышеизложенному, изучение клобазам со стороны исследования в области химико-токсикологического и судебно-химического анализа является актуальным.

Целью работы было - провести разработку методики обнаружения клобазам в извлечении из мочи для химико-токсикологического и судебно-химического исследования с использованием 2-х систем растворителей и разделением исследуемого вещества с соэкстрактивными веществами из биологической жидкости.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В химико-токсикологическом и судебно-химическом анализе наиболее часто применяется метод хроматографии в тонких слоях сорбентов (ТСХ) [23-25], особенно в качестве предварительного метода исследования. Тонкослойная хроматография является базовым методом благодаря своей доступности, простоте выполнения, достаточной чувствительности, избирательности [26-30] и используется в скрининге отдельных групп токсикологически значимых веществ [31]. Использование иммунохроматографического метода несет большую долю ложноположительных реакций и достаточно низкий уровень селективности, а использование инструментальных методов (ГХ-МС, ВЭЖХ и др.) не целесообразно ввиду трудоемкости процесса, а рационально использовать в качестве подтверждающих методов исследования и для количественного определения. Определение клобазам проводилось по нативному соединению, так как токсическая доза позволяет определить клобазам незначительном выделении после метаболизма.

Для определения клобазам методом ТСХ использовался 0.01% спиртовой раствор клобазам, приготовленный из таблеток.

Приготовление испытуемого раствора. Таблетку с действующим веществом клобазам (производитель Санофи Винтроп Индустри, Франция) в количестве 20 мг измельчали в ступке, чтобы получить мелкий порошок. Порошок растворяли в небольшом количестве этанола, фильтровали через фильтровальную бумагу в мерную колбу на 20 мл и трижды фильтр промывали используемым растворителем (этанолом). Доводили этанолом до метки в мерной колбе (до 20 мл). Таким образом получали 0.1% раствор клобазам, который количественно стандартизовали методом УФ-спектрофотометрии. Из мерной колбы отбирали 1мл 0.1% раствора и добавляли 9 мл этанола для получения 0.01% (0.1 мг/мл) раствора клобазам (испытуемый раствор), который количественно стандартизовали методом УФ-спектрофотометрии [32,33].

Методика изолирования клобазам. В данном исследовании пробоподготовка была выполнена при помощи патронов Agilent Bond Elut Certify (Agilent, США), 130 мг, 3 мл. После кондиционирования патрона 2-мя мл метанола (ч.д.а.) и уравнивания 2-мя мл 0.1М KH_2PO_4 (х.ч.) пробу мочи, человека употреблявшего клобазам, объемом 1 мл вводили в патрон. Весь элюат со-

бирали во флакон. Элюент для стадий промывки был разделен на три аликвоты по 1 мл каждая. Первая промывка выполнялась 1 мл 5% уксусной кислоты (ч.д.а.), а остальные две по 1 мл метанола. Каждую фракцию элюата собирали отдельно во флакон. Элюирование выполняли трижды с помощью 1 мл смеси ацетонитрила (ч.д.а.) с 2% NH₄OH (ч.д.а.). Каждую фракцию собирали отдельно и объединяли для дальнейшего исследования.

Методика хроматографирования. На линию старта наносилось по 50 мкл пробы извлечения из мочи и стандартного раствора. В качестве неподвижной фазы использовались хроматографические пластинки «Сорбфил УФ- 254» (ЗАО «Сорбполимер», Россия), а подвижной фазой была система растворителей в двух вариантах, указанных в таблице №1. Высота пробега элюента составляла 10 см. Детектирование проводили при использовании УФ-света при длине волны 254 нм с последующей обработкой параами йода. Обработка пластин УФ-светом велась в закрытой комнате без доступа света с адсорбцией волн длиной 254 нм в течение 3 минут. Обработка параами йода проводилась через 30 минут после облучения УФ-светом в камере с притертой крышкой диаметром 14 см и высотой 12 см объемом 1850 см³. Предварительно на расстоянии 2 см от дна камеры на стеклянную планшетку площадью 9 см² помещали 2.0 г кристаллизованного йода и насыщали камеру в течение часа. По насыщении камеры в неё помещали хроматографическую пластинку на 10 минут, после чего последнюю изымали и фиксировали окрашенные зоны на пластинке.

Предварительно изучались системы растворителей для подвижной фазы, которые широко используются в направленном и ненаправленном анализе на наркотические, сильнодействующие и психотропные вещества. Для дальнейшего исследования были подобраны оптимальные две системы для ТСХ (подвижная фаза):

Хлороформ: н-гептан: метанол (85:10:5) [34];
Хлороформ: ацетон (9:1) [35].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Используемые растворители в подвижной фазе имеют разную полярность (диэлектрическая проницаемость - ε): гептан - 1,9; хлороформ - 4,8; ацетон - 21,0 и метанол - 32,7, что обуславливает эффективность для хроматографической подвижности клобазама. Результаты хроматографической подвижности исследуемых веществ в оптимальных подвижных фазах представлены в нижеприведенной таблице 1.

Представленные данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что в найденных оптимальных условиях хроматографирования в используемых двух системах растворителей значения hR_f клобазама находятся в интервале 68-85. Это позволяет использовать данные системы растворителей для обнаружения клобазама после изолирования его из биологических объектов при проведении химикотоксикологического и судебно-химического анализа.

Для оценки пригодности хроматографической системы использовали коэффициент разделения пятен для установления критерия разделяющей способности хроматографической системы с последующей возможностью ее использования без получения ошибочных результатов.

$$K_{Rf} = \frac{l_2}{l_1}$$

где: K_{Rf} – коэффициент разделения пятен; l₂ – расстояние, пройденное исследуемым веществом (клобазам), мм. l₁ – расстояние, пройденное соэкстрактивным веществом (из мочи), мм.

Оптимальным значением коэффициента разделения предложено считать ≥ 1,2, при котором визуально возможно разделить пятна между собой и также получить достоверные значения hR_f [36].

Таблица 1

Результаты хроматографирования клобазама

Состав подвижной фазы	Соотношение растворителей	Значение hR _f клобазама (n=6)	Значение hR _f пятен соэкстрактивных веществ из мочи (n=6)
Хлороформ - н-гептан - метанол (S ₁)	85:10:5	85	3; 13; 27
Хлороформ: ацетон (S ₂)	90:10	68	0; 7; 15

Таблица 2

Коэффициенты разделения пятен клобазама и соэкстрактивных веществ из мочи

№ системы растворителей	Значение коэффициента разделения клобазама и соэкстрактивных веществ из мочи		
	Пятно №1	Пятно №2	Пятно №3
S ₁	28.33	6.54	3.15
S ₂	-	9.71	4.86

На основании данных, представленных на рисунке 2 видно, что предложенные системы растворителей позволяют визуально и с использованием расчетных значений R_f достоверно использовать их в предварительной идентификации методом тонкослойной хроматографии.

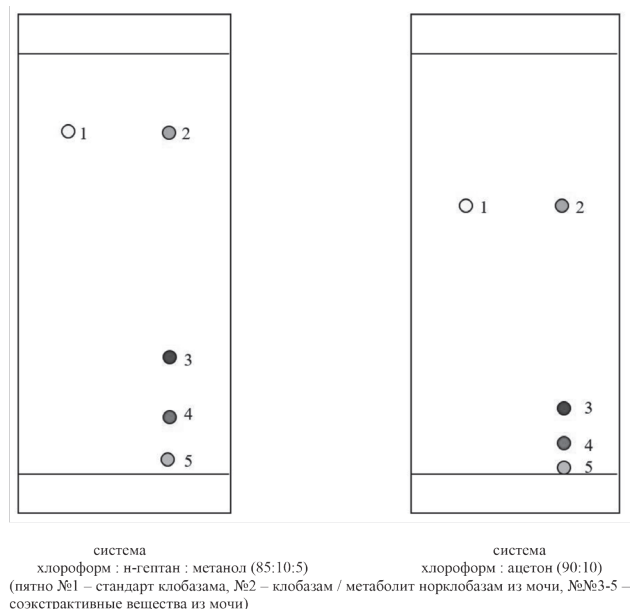


Рис. 2. Результаты хроматографирования клобазама и соэкстрактивных веществ в извлечении из мочи в различных системах растворителей.

ВЫВОДЫ

Разработана и предложена методика обнаружения клобазама в извлечении из мочи с использованием 2-х систем растворителей - хлороформ : н-гептан : метанол (85:10:5) и хлороформ : ацетон (90:10) со значениями R_f клобазама 85 и 68 соответственно.

Подобранные системы растворителей для проведения ТСХ клобазама в моче показали высокий коэффициент (K_{RP}) разделения (более 3,15) пятен исследуемого вещества с соэкстрактивными веществами из мочи. Таким образом разработанная ТСХ методика применима для проведения химико-токсикологического и судебно-химического исследования клобазама в моче.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gauthier A.C., Mattson R.H. Clobazam: A Safe, Efficacious, and Newly Rediscovered Therapeutic for Epilepsy // *CNS Neurosci Ther.* 2015. V. 21(7), pp. 543-548. doi: 10.1111/cns.12399
- Arya R., Giridharan N., Anand V., Garg S.K., Cochrane Epilepsy Group. Clobazam monotherapy for focal or generalized seizures // *Cochrane*

Database Syst Rev. 2018. V. 2018(7), CD009258. doi: 10.1002/14651858.CD009258.pub3

3. Tolbert D., Larsen F. A Comprehensive Overview of the Clinical Pharmacokinetics of Clobazam // *J Clin Pharmacol.* 2019. V. 59(1), pp. 7-19. doi: 10.1002/jcph.1313

4. Постановление Правительства РФ от 01.10.2012 №1002 (ред. от 29.07.2020) «Об утверждении значительного, крупного и особо крупного размеров наркотических средств и психотропных веществ, а также значительного, крупного и особо крупного размеров для растений, содержащих наркотические средства или психотропные вещества, либо их частей, содержащих наркотические средства или психотропные вещества, для целей статей 228, 228.1, 229 и 229.1 Уголовного кодекса Российской Федерации».

5. Шакирова В.И., Акберова. А.Е., Богданова, Е.Н. Проблема доступности незарегистрированных лекарственных препаратов в России для пациентов с тяжёлыми заболеваниями // В сборнике: Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения. Материалы V Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, 90-летию УГМУ и 100-летию медицинского образования на Урале. 2020, С. 1030-1034.

6. Официальный сайт правительства России, Заседания Правительства (2019 год, №32), <http://government.ru/meetings/37944/stenograms/> (дата обращения 12.02.2021).

7. Masoodi K., Lone S.M., Rasool R.S. Thin layer chromatography (TLC) / In book: *Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology.* Jan. 2021. pp.143-146. DOI:10.1016/B978-0-12-824449-4.00025-6

8. Juszczak A.M., Zovko-Končić M., Tomczyk M. Recent Trends in the Application of Chromatographic Techniques in the Analysis of Luteolin and Its Derivatives // *Biomolecules.* 2019. V. 9 (11), p. 731. doi: 10.3390/biom9110731

9. Parys W., Pyka-Pająk A., Dołowy M. Application of Thin-Layer Chromatography in Combination with Densitometry for the Determination of Diclofenac in Enteric Coated Tablets // *Pharmaceuticals (Basel)* 2019. V. 12(4), p. 183. doi: 10.3390/ph12040183

10. Орлова А.М. Анализ публикаций по токсикологической (судебной) химии в журнале "Судебно-медицинская экспертиза" за период 2004-2013 гг. (сообщение 2.). Анализ и оценка

публикаций, особенности развития исследований // Судебно-медицинская экспертиза. 2016. Т.59. №1. С. 52-59.

11. Орлова А.М. Библиографический указатель отечественных публикаций по токсикологической (судебной) химии за 2011-2014 гг; Анализ публикаций по токсикологической (судебной) химии в журнале «Судебно-медицинская экспертиза» за период 2004-2013 гг. (сообщение 1.) Структура и качество публикаций // Судебно-медицинская экспертиза. 2015. Т.58. №5. С. 51-56.

12. Орлова, А.М., Лобачёва, Т.В. Изучение структуры публикаций по токсикологической (судебной) химии в журнале «Проблемы экспертизы в медицине» за 2001-2009 гг. // Судебно-медицинская экспертиза. 2013. Т.56. №5. С. 38-42.

13. Huddart R., Leeder J.S., Altman R.B., Klein T.E. PharmGKB summary: clobazam pathway, pharmacokinetics // Pharmacogenet Genomics. 2018. V. 28(4), pp. 110-115. doi: 10.1097/FPC.0000000000000327

14. Hammer H., Ebert B., Jensen H.S., Jensen A.A. Functional Characterization of the 1,5-Benzodiazepine Clobazam and Its Major Active Metabolite N-Desmethylclobazam at Human GABA_A Receptors Expressed in *Xenopus laevis* Oocytes // PLoS One. 2015. V. 10(3), e0120239. doi: 10.1371/journal.pone.0120239

15. Souri E., Farahani A.D., Ahmadkhaniha R., Amini M. A stability indicating HPLC method for the determination of clobazam and its basic degradation product characterization // Daru. 2014. V. 22(1), 49. doi: 10.1186/2008-2231-22-49

16. Jensen H.S., Nichol K., Lee D., Ebert B. Clobazam and Its Active Metabolite N-desmethylclobazam Display Significantly Greater Affinities for α_2 - versus α_1 -GABA_A-Receptor Complexes // PLoS One. 2014. V. 9(2), e88456. doi: 10.1371/journal.pone.0088456

17. Kheireldin R. A Case Report of Clobazam Toxicity Related to Cannabidiol and Clobazam Drug-drug Interaction // Translation The University of Toledo Journal of Medical Sciences December 2019. V. 6, pp. 35-36. DOI:10.46570/utjms.vol6-2019-339

18. Brigo F., Lattanzi S. Anticonvulsant Agents: Benzodiazepines (Clobazam, Clonazepam, Diazepam, Lorazepam, Midazolam) // In book: NeuroPsychopharmacotherapy January 2021, pp. 1-8. doi:10.1007/978-3-319-56015-1_440-1

19. Kheireldin R. A Case Report and Literature Review of Clobazam Toxicity Related to CBD and Clobazam Drug-Drug Interaction // Journal of Clinical

and Medical Research July. 2019. doi:10.37191/Mapsci-2582-4333-1(2)-012

20. Aung T. Rare but life-threatening aspiration pneumonia related to initiation of clobazam therapy // Epilepsy & Behavior Reports November 2020. V. 14, 100406. DOI:10.1016/j.ebr.2020.100406

21. Постановление Правительства РФ от 30 июня 1998 г. №681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации» (с изменениями и дополнениями).

22. Официальный сайт Государственный реестр лекарственных средств <https://grls.gosminzdrav.ru/> (дата обращения 12.02.2021)

23. Дегтерев Е.В., Гаевский А.В., Зенкова Е.А. Применение тонкослойной хроматографии в анализе наркотических и сильнодействующих веществ (обзор) // Хим.-фармац. журн. 1998. Т. 32. №8. С. 48-54.

24. Калёкин Р.А. Определение нейрорептиков - производных бензамида методом тонкослойной хроматографии // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. №2. С. 19-20.

25. Люст Е.Н., Поспелова А.А., Петухова Н.Н., Карпова Л.Н. Обращенно-фазная тонкослойная хроматография в исследованиях токсикологически важных веществ // Фармация. 2013. №2. С. 8-10.

26. Георгиевский В.П., Шостенко Ю.В. 50-лет тонкослойной хроматографии // Фармация. 1989. Т.38, №3. С. 86-87.

27. ОФС.1.2.1.2.0001.15 Хроматография ГФ 14.

28. Ремезова И.П., Лазарян Д.С., Максименко Т.И., Санжиева Д.Ю., Рыбасова А.С. Обнаружение клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола с помощью метода тонкослойной хроматографии // Научное обозрение. 2014. №12-1. С. 207-209.

29. Скорнякова А.Б., Калёкин Р.А., Лазарян Д.С. Идентификация галоперидола и тиоприда в моче методом тонкослойной хроматографии // Судебно-медицинская экспертиза. 2006. Т. 49. №2. С. 37-39.

30. Калёкин Р.А., Лазарян Д.С., Цыбулина М.Г. Анализ тиоприда в трупном материале // Судебно-медицинская экспертиза. 2007. Т.50. №1. С. 24-26.

31. Раменская Г.В., Родионова Г.М., Кузнецова Н.И., Петухов А.Е. ТСХ-скрининг токсикологически значимых соединений, изолируемых

экстракцией и сорбцией: учебное пособие: ГЭО-ТАР-Медиа, 2010. 240 с.

32. BP507. Clobazam. British Pharmacopoeia 2012.

33. Y0000205. Clobazam. European Pharmacopoeia, 9th Edition.

34. Жебентяев А.И. Токсикологическая химия (в 2 частях). Ч.2: учебное пособие. - Витебск: ВГМУ, 2015. 415 с.

35. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия: учебник; под ред. проф. Е.Н. Вергейчика. - М.: МЕДпресс-информ, 2009. - 400 с.: ил.

36. Калёкин Р.А. Разработка методологии химико-токсикологического и судебно-химического определения нейролептиков производных бензамида // Диссертация ... доктора фармацевтических наук: 14.04.02 / ГОУВПО «Московская медицинская академия». Москва, 2012.

Российский центр судебно-медицинской экспертизы

Орлова А. М., кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник

**Калёкин Р. А., доктор фармацевтических наук, заведующий лабораторией судебно-химических и химико-токсикологических исследований
E-mail: himija@rc-sme.ru*

Волкова А. А., кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник

Невмятова С. Р., соискатель

*Научно-практический центр детской психоневрологии
Полушкина Н. В. логопед*

*Russian Center for Forensic Medical Expertise
Orlova A. M., PhD., Leading Researcher*

**Kalekin R. A., PhD., DSci., Head of the Laboratory of Forensic Chemical and Chemical Toxicological Studies
E-mail: himija@rc-sme.ru*

Volkova A. A., PhD., Leading Researcher

Nevmyatova S. R., applicant

*Scientific and Practical Center for Pediatric Psychoneurology
Polushkina N. V., speech therapist*

DETECTION OF CLOBAZAM IN URINE BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

A. M. Orlova¹, R. A. Kalekin¹, A. A. Volkova¹, S. R. Nevmyatova¹, N. V. Polushkina²

¹*Federal State Budgetary Institution "Russian Center of Forensic Medical Expertise" of the Ministry of Health of the Russian Federation*

²*Scientific and Practical Center for Pediatric Psychoneurology*

Abstract. Currently, benzodiazepine receptor agonists are widely used in medical practice. The least studied representative of these drugs is clobazam—a drug substance of the benzodiazepine group. Clobazam is included in the list of psychoactive substances whose turnover in the Russian Federation is restricted, and its illegal acquisition, storage, transportation, manufacture, processing without the purpose of sale is criminally prosecuted under Article 228 of the Criminal Code of the Russian Federation.

In the available literature for the last 20 years, there is no data on the study of clobazam for the purposes and objectives of forensic chemical and chemical toxicological studies. This may have been due to its inclusion in the List of Psychotropic Substances whose Circulation in the Russian Federation is Restricted and for which certain control measures may be excluded in accordance with the legislation of the Russian Federation and international treaties of the Russian Federation (list III) in 1998. Only on August 20, 2020, a registration certificate for the drug Frizium (INN clobazam) was obtained, which caused the presence of this drug in civil circulation in the territory of the Russian Federation. According to the above, the study

of clobazam by research in the field of chemical-toxicological and forensic-chemical research is relevant.

In chemical-toxicological and forensic-chemical analysis, the method of chromatography in thin layers of sorbents is most often used, especially as a preliminary method of investigation. Chromatographic plates "Sorbfil UV - 254" were used as the stationary phase, and the mobile phase was a solvent system in two versions. Detection was carried out using UV light at a wavelength of 254 nm, followed by treatment with iodine vapor. The plates were treated with UV light in a closed room without access to light with the adsorption of waves with a length of 254 nm. Treatment with iodine vapor was carried out 30 minutes after exposure to UV light

A method for detecting clobazam in urine extraction using thin-layer chromatography using solvent systems-chloroform : n-heptane: methanol (85: 10:5) and chloroform: acetone (90: 10) with clobazam R_f values of 85 and 68, respectively. The selected solvent systems for conducting TLC of clobazam in the urine showed a high coefficient (K_{RF}) of separation (more than 3.15) of the spots of the test substance with co-extractive substances from the urine. This technique is proposed for chemical-toxicological and forensic-chemical studies of clobazam in the urine.

Keywords: clobazam, thin-layer chromatography, chemical-toxicological study.

REFERENCES

1. Gauthier A.C., Mattson R.H. Clobazam: A Safe, Efficacious, and Newly Rediscovered Therapeutic for Epilepsy, *CNS Neurosci Ther*, 2015, V. 21(7), pp. 543-548. doi: 10.1111/cns.12399
2. Arya R., Giridharan N., Anand V., Garg S.K., Cochrane Epilepsy Group. Clobazam monotherapy for focal or generalized seizures, *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, V. 2018(7), CD009258. doi: 10.1002/14651858.CD009258.pub3
3. Tolbert D., Larsen F. A Comprehensive Overview of the Clinical Pharmacokinetics of Clobazam, *J Clin Pharmacol.*, 2019, V. 59(1), pp. 7-19. doi: 10.1002/jcph.1313
4. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 01.10.2012 №1002 (red. ot 29.07.2020) "Ob utverzhdenii znachitel'nogo, krupnogo i osobo krupnogo razmerov narkoticheskix sredstv i psixotropny'x veshhestv, a takzhe znachitel'nogo, krupnogo i osobo krupnogo razmerov dlya rastenij, sodержashhix narkoticheskie sredstva ili psixotropny'e veshhestva, libo ix chastej, sodержashhix narkoticheskie sredstva ili psixotropny'e veshhestva, dlya celej statej 228, 228.1, 229 i 229.1 Ugolovnogo kodeksa Rossijskoj Federacii"
5. Shakirova. V.I., Akberova. A.E., Bogdanova, E.N. Problema dostupnosti nezaregistrovanny'x lekarstvenny'x preparatov v Rossii dlya pacientov s tyazhyoly'mi zabolevaniyami // V sbornike: Aktual'ny'e voprosy` sovremennoj medicinskoj nauki i zdravooxraneniya. Materialy` V Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii molody'x uchyony'x i studentov, posvyashhennoj 75-letiyu Pobedy` v Velikoj Otechestvennoj vojne, 90-letiyu UGMU i 100-letiyu medicinskogo obrazovaniya na Urале, 2020, pp. 1030-1034.
6. <http://government.ru/meetings/37944/stenograms/> (data obrashheniya 12.02.2021).
7. Masoodi K., Lone S.M., Rasool R.S. Thin layer chromatography (TLC) / In book: *Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology*. Jan. 2021, pp.143-146. DOI:10.1016/B978-0-12-824449-4.00025-6
8. Juszczak A.M., Zovko-Končić M., Tomczyk M. Recent Trends in the Application of Chromatographic Techniques in the Analysis of Luteolin and Its Derivatives, *Biomolecules*, 2019, V. 9 (11), p. 731. doi: 10.3390/biom9110731
9. Parys W., Pyka-Pająk A., Dołowy M. Application of Thin-Layer Chromatography in Combination with Densitometry for the Determination of Diclofenac in Enteric Coated Tablets, *Pharmaceuticals (Basel)*, 2019, V. 12(4), p. 183. doi: 10.3390/ph12040183
10. Orlova A.M. Analiz publikacij po toksikologicheskoy (sudebnoj) ximii v zhurnale "Sudebno-medicinskaya e`kspertiza" za period 2004-2013 gg. (soobshhenie 2.). Analiz i ocenka publikacij, osobennosti razvitiya issledovanij // *Sudebno-medicinskaya e`kspertiza*, 2016, V. 59, №1, pp. 52-59.
11. Orlova A.M. Bibliograficheskij ukazatel` otechestvenny'x publikacij po toksikologicheskoy (sudebnoj) ximii za 2011-2014 gg; Analiz publikacij po toksikologicheskoy (sudebnoj) ximii v zhurnale "Sudebno-medicinskaya e`kspertiza" za period 2004-2013 gg. (soobshhenie 1.) Struktura i kachestvo publikacij // *Sudebno-medicinskaya e`kspertiza*. 2015. t. 58. №5. pp. 51-56.
12. Orlova A.M., Lobachyova T.V. Izuchenie struktury` publikacij po toksikologicheskoy (sudebnoj) ximii v zhurnale "Problemy` e`kspertizy` v medicine"

za 2001-2009 gg, Sudebno-medicinskaya e`kspertiza, 2013, T. 56, №5, pp. 38-42.

13. Huddart R., Leeder J.S., Altman R.B., Klein T.E. PharmGKB summary: clobazam pathway, pharmacokinetics, Pharmacogenet Genomics, 2018, V. 28(4), pp. 110-115. doi: 10.1097/FPC.0000000000000327

14. Hammer H., Ebert B., Jensen H.S., Jensen A.A. Functional Characterization of the 1,5-Benzodiazepine Clobazam and Its Major Active Metabolite N-Desmethylclobazam at Human GABAA Receptors Expressed in *Xenopus laevis* Oocytes, PLoS One, 2015, V. 10(3), e0120239. doi: 10.1371/journal.pone.0120239

15. Soury E., Farahani A.D., Ahmadkhaniha R., Amini M. A stability indicating HPLC method for the determination of clobazam and its basic degradation product characterization, Daru, 2014, V. 22(1), 49. doi: 10.1186/2008-2231-22-49

16. Jensen H.S., Nichol K., Lee D., Ebert B. Clobazam and Its Active Metabolite N-desmethylclobazam Display Significantly Greater Affinities for α_2 - versus α_1 -GABAA-Receptor Complexes, PLoS One, 2014, V. 9(2), e88456. doi: 10.1371/journal.pone.0088456

17. Kheireldin R. A Case Report of Clobazam Toxicity Related to Cannabidiol and Clobazam Drug-drug Interaction // Translation The University of Toledo Journal of Medical Sciences December 2019, V. 6, pp. 35-36. DOI:10.46570/utjms.vol6-2019-339

18. Brigo F., Lattanzi S. Anticonvulsant Agents: Benzodiazepines (Clobazam, Clonazepam, Diazepam, Lorazepam, Midazolam) // In book: NeuroPsychopharmacotherapy January 2021, pp. 1-8. doi:10.1007/978-3-319-56015-1_440-1

19. Kheireldin R. A Case Report and Literature Review of Clobazam Toxicity Related to CBD and Clobazam Drug-Drug Interaction, Journal of Clinical and Medical Research July, 2019. doi:10.37191/Mapsci-2582-4333-1(2)-012

20. Aung T. Rare but life-threatening aspiration pneumonia related to initiation of clobazam therapy, Epilepsy & Behavior Reports November 2020, V. 14, 100406. DOI:10.1016/j.ebr.2020.100406

21. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 30 iyunya 1998 g. №681 "Ob utverzhenii perechnya narkoticheskix sredstv, psixotropny`x veshhestv i ix prekursorov, podlezhashhix kontrolyu v Rossijskoj Federacii" (s izmeneniyami i dopolneniyami).

22. <https://grls.rosminzdrav.ru/> (data obrashheniya 12.02.2021)

23. Degterev E.V., Gaevskij A.V., Zenkova E.A. Primenenie tonkoslojnoj xromatografii v analize narkoticheskix i sil`nodejstvuyushhix veshhestv (obzor), Xim.-farmacz. zhurn, 1998, T. 32, №8, pp. 48-54.

24. Kalekin R.A. Opredelenie nejroleptikov - proizvodny`x benzamida metodom tonkoslojnoj xromatografii, Klinicheskaya laboratornaya diagnostika, 2013, №2, pp. 19-20.

25. Lyust E.N., Pospelova A.A., Petuxova N.N., Karpova L.N. Obrashhenno-faznaya tonkoslojnaya xromatografiya v issledovaniyax toksikologicheskix vazhny`x veshhestv, Farmaciya, 2013, №2, pp. 8-10.

26. Georgievskij V.P., Shostenko Yu.V. 50-let tonkoslojnoj xromatografii, Farmaciya, 1989, T. 38, №3, pp. 86-87.

27. OFS.1.2.1.2.0001.15 Xromatografiya GF 13

28. Remezova I.P., Lazaryan D.S., Maksimenko T.I., Sanzhieva D.Yu., Ry`basova A.S. Obnaruzhenie clozapina, risperidona, sertindola, olanzapina, aripiprazola s pomoshh`yu metoda tonkoslojnoj xromatografii, Nauchnoe obozrenie, 2014, №12-1, pp. 207-209.

29. Skornyakova A.B., Kalekin R.A., Lazaryan D.S. Identifikaciya galoperidola i tiaprida v moche metodom tonkoslojnoj xromatografii, Sudebno-medicinskaya e`kspertiza, 2006, T. 49, №2, pp. 37-39.

30. Kalyokin R.A., Lazaryan D.S., Cybulina M.G. Analiz tiaprida v trupnom materiale, Sudebno-medicinskaya e`kspertiza, 2007, T. 50, №1, pp. 24-26.

31. Ramenskaya G.V., Rodionova G.M., Kuznecova N.I., Petuxov, A.E. TSX-skrining toksikologicheskix znachimy`x soedinenij, izoliruemy`x e`kstrakcij i sorbciej: uchebnoe posobie: GE`OTAR-Media, 2010, 240 p.

32. BP507. Clobazam. British Pharmacopoeia 2012.

33. Y0000205. Clobazam. European Pharmacopoeia, 9th Edition.

34. Zhebentyaev A.I. Toksikologicheskaya ximiya (v 2 chastyax). Ch.2: uchebnoe posobie. - Vitebsk: VGMU, 2015, 415 p.

35. Vergejchik, T.X. Toksikologicheskaya ximiya : uchebnik; pod red. prof. E.N. Vergejchika. - M.: MEDpress-inform, 2009, 400 p.

36. Kalekin R.A. Razrabotka metodologii ximiko-toksikologicheskogo i sudebno-ximicheskogo opredeleniya nejroleptikov proizvodny`x benzamida // Diss. doktora pharm. nauk : 14.04.02 / GOUVPO "Moskovskaya medicinskaya akademiya". Moskva, 2012.