

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА РИФАБУТИНА В ОБЪЕКТАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

© Коновалова С.С., Илларионова Е.А.

Иркутский государственный медицинский университет (ИГМУ)

Россия, 664003, Иркутская область, г. Иркутск, ул. Красного восстания, д. 1

Цель: разработка методики изолирования и идентификации рифабутин для химико-токсикологического анализа из биологического материала.

Материалы и методы. Для анализа использовали субстанцию рифабутин, капсулы «Фарбутин», содержащие рифабутин 150 мг, спирт этиловый 95%, хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, натрия гидроксида раствор 0,1 М, воду очищенную, аммиака раствор 10%, растворы аммония сульфата 20%, аммония сульфата насыщенный, натрия сульфата 5%, натрия сульфата насыщенный, натрия хлорида 20%, натрия хлорида насыщенный. Органические растворители: бензол, дихлорметан, диэтиловый эфир, толуол, хлороформ, этилацетат. Определение pH проводили с помощью универсального ионметра Ит-1101. Изолирование проводили методом жидкость-жидкостной экстракции, обнаружение и количественное определение – спектрофотометрическим методом в ультрафиолетовой области. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-2000 в кюветах с толщиной слоя 1 см.

Результаты. В ходе исследования были изучены оптические свойства рифабутин, спектры поглощения, характеризующиеся двумя полосами поглощения при 231 ± 2 нм и 279 ± 2 нм, определены оптимальные растворители спирт этиловый 95% и хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, концентрация 0,002%. Экспериментально изучено влияние различных факторов на экстракцию рифабутин из водных растворов. Наибольшая степень извлечения достигается дихлорметаном при pH 2, в присутствии натрия хлорида насыщенного раствора, однократно в течение 3 минут.

Заключение. Разработаны методики изолирования и количественного определения рифабутин методом УФ-спектрофотометрии в извлечениях из биологических жидкостей и органов.

Ключевые слова: рифабутин; жидкость-жидкостная экстракция; биологические объекты.

Коновалова Светлана Сергеевна – соискатель кафедры фармацевтической и токсикологической химии, ИГМУ, г. Иркутск. ORCID iD: 0000-0001-8195-2852. E-mail: svetlanakonvalova987@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Илларионова Елена Анатольевна – д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, ИГМУ, г. Иркутск. ORCID iD: 0000-0002-3281-9489. E-mail: llelena24@mail.ru

Терапия туберкулеза с каждым годом усложняется. Возникает множество штаммов, обладающих резистентностью к тем или иным противотуберкулезным препаратам. Введение в схему лечения резервных препаратов увеличивает частоту возникновения серьезных нежелательных побочных реакций в виду их большей токсичности по сравнению со средствами основного ряда. К ним относится объект настоящего исследования полусинтетический антибиотик группы ансамицинов – рифабутин. По структуре он представляет собой спиропиперидильное производное рифамицина S. Это красно-фиолетовый порошок, растворим в хлороформе и метиловом спирте, плохо растворим в этиловом спирте, практически нерастворим в воде. Структурная формула представлена на рисунке 1.

Рифабутин широко применяется в качестве альтернативы рифампицину, а также предпочтителен для лечения туберкулеза у ВИЧ-инфицированных, как наиболее совместимый с антиретровирусной терапией [3, 5, 6].

Противотуберкулезные препараты обладают высокой токсичностью, и длительный прием зачастую неблагоприятно сказывается на состоянии печени и почек. В случае рифабутин, который метаболизируется и выводится преимущественно в виде метаболитов почками, это значительно повышает риск случайных отравлений. Случаи острого отравления встречаются при нарушении режима дозирования или умышленного приема завышенной дозы с суицидальной целью [4-8, 11, 12].

Для диагностики острого отравления чаще всего используются биологические жидкости – моча, слюна, плазма крови. Применение в качестве объектов для химико-токсикологического анализа легких и печени при летальном исходе обусловлено распределением и метаболизмом исследуемого препарата. Проведенный анализ литературы показал, что методики химико-токсикологического анализа отсутствуют, что делает разработку методик извлечения, качественного и количественного определения рифабутин в объектах биологического происхождения актуальной задачей.

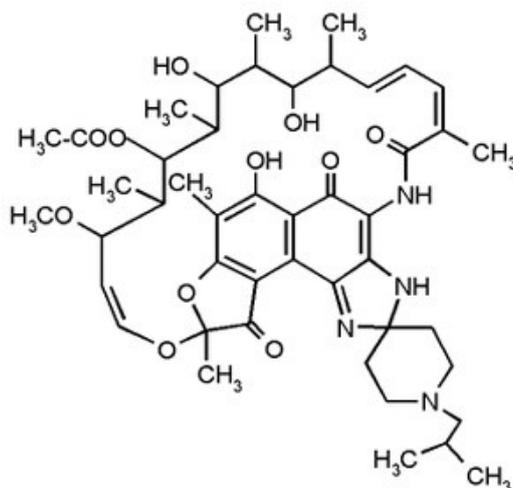


Рис. 1. Структурная формула рифабутина.

Fig. 1. Structural formula of Rifabutin.

Цель исследования – разработать методику изолирования, идентификации и количественного определения рифабутина из биологического материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования – субстанция рифабутин и капсулы «Фарбутин» 150 мг, отвечающие требованиям нормативной документации (ФСП № 42-13146-04 и ФСП № 42-12153-02). Используемые реактивы: вода очищенная, спирт этиловый 95%, набор органических растворителей (бензол, дихлорметан, толуол, хлороформ, диэтиловый эфир, этилацетат), хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М (приготовлен из фиксанала), аммония гидроксида раствор 10%, набор электролитов (растворы аммония сульфата 20%, натрия сульфата 5%, натрия хлорида 20%, аммония сульфата насыщенный, натрия сульфата насыщенный, натрия хлорида насыщенный). Контроль величины pH осуществляли с помощью универсального иономера ИТ-1101 (ООО «Измерительная техника», г. Москва).

Основной метод извлечения – жидкостно-жидкостная экстракция (ЖЖЭ). Идентификацию и количественное определение осуществляли с применением хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) и спектрофотометрии в УФ области [2].

Подбор оптимальных условий изолирования производили на этанольном растворе, содержащем 0,01 г/мл рифабутин, варьируя значениями pH от 2 до 12 путем добавления хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и аммония гидроксида раствора 10%. Экстрагировали порциями различных органических растворителей и испаряли при комнатной температуре досуха.

Для идентификации аналита методом тонкослойной хроматографии наносили извлечение на пластинки Сорбфил, высушивали. Хроматографировали восходящим методом, используя систему толуол-ацетон-аммиака раствор концентрированный 25% (5:10:0,2). Способ проявления – облучение в УФ свете (254 нм).

Обнаружение рифабутин осуществляли методом УФ-спектрофотометрии в растворах сухих остатков, приготовленных по следующей методике: к сухому остатку добавляли в 10 мл 95% спирта этилового, 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и объем раствора доводили до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М. Снимали УФ-спектры на приборе СФ-2000 в кювете с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 200-400 нм. Раствором сравнения выступал хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

Количественное содержание рифабутин определяли по стандартному образцу, измеряя оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца (РСО) рифабутин в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 279 нм.

В качестве стандартного использовали раствор 0,002% рифабутин. Около 0,05 г (точная навеска) субстанции рифабутин растворяли в спирте этиловом 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл. Переносили 1 мл приготовленного раствора в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М.

Для приготовления модельных смесей биологических объектов использовали спиртовой раствор, содержащий 0,02 г/мл; 0,04 г/мл или 0,06 г/мл рифабутин соответственно. Модельные образцы биожидкостей готовили, добавляя к 15 мл или 10 мл спиртового раствора рифабу-

тина в различных концентрациях 0,06 г/мл; 0,04 г/мл или 0,02 г/мл соответственно 5 мл предварительно замороженной на 24 часа слюны, 15 мл плазмы или 35 мл мочи. Смеси выдерживали в течение суток при комнатной температуре. Затем в модельных смесях слюны осаждали белки раствором 50% трихлоруксусной кислоты, центрифугировали и отделяли от осадка, модельные смеси плазмы крови центрифугировали и далее использовали надосадочную жидкость, модельные смеси мочи фильтровали.

Модельные смеси легких и печени готовили, прибавляя к 25 г органа 15 мл спиртового раствора препарата в вышеописанных концентрациях, и оставляли на сутки при комнатной температуре. Последующую пробоподготовку осуществляли согласно методикам А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и Стаса-Отто.

Далее применяли разработанную методику: 1 мл извлечения из модельной смеси переносили в пробирку, доводили рН до 2 мл хлористоводородной кислоты раствором 0,1М, добавляли 1 мл натрия хлорида раствора насыщенного и экстрагировали дихлорметаном однократно в течение 3 минут.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакета программ для Windows XP (Microsoft Excel) и с применением t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификацию рифабутина методом тонкослойной хроматографии проводили в системе толуол-ацетон-аммиак раствор концентрированный 25% (5:10:0,2) восходящим методом. Зна-

чение Rf пятна стандартного образца свидетеля рифабутина соответствовало $0,61 \pm 0,01$.

Идентификацию и количественное определение осуществляли методом УФ-спектрофотометрии. УФ-спектр поглощения рифабутина (рис. 2) характеризуется несколькими полосами поглощения, максимумы отмечаются при длинах волн: 210 ± 1 нм, 231 ± 1 нм и 279 ± 1 нм (рН 1,7); 233 ± 1 нм и 277 ± 1 нм (рН 3,4); 212 ± 1 нм, 231 ± 1 нм и 277 ± 1 нм (рН 4,5) и 218 ± 1 нм, 231 ± 1 нм и 283 ± 1 нм (рН 12,6). В качестве оптимальных растворителей выбраны спирт этиловый 95% и хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, обеспечивающие оптимальную растворимость препарата и стабильность раствора. По калибровочному графику определена оптимальная концентрация раствора – 0,002%. Экспериментально подобрана аналитическая длины волны – 279 ± 1 нм.

С целью разработки методики изолирования рифабутина из биологических объектов было изучено влияние различных факторов на извлечение препарата методом жидкость-жидкостной экстракции из водных растворов. На первом этапе экстракцию рифабутина проводили с использованием бензола, дихлорметана, диэтилового эфира, толуола, хлороформа и этилацетата при значениях рН в диапазоне 2-12. Графически результаты влияния органических растворителей и рН среды на полноту экстракции рифабутина представлены на рисунке 3. Наибольший выход достигается при экстракции дихлорметаном при рН 2.

Следующий фактор, способный увеличить переход рифабутина в органическую фазу, высаливающее действие электролитов. Было изучено влияние шести растворов: аммония сульфата 20%, натрия сульфата 5%, натрия хлорида 20%, аммония сульфата насыщенный, натрия сульфата насыщенный и натрия хлорида насыщенный.

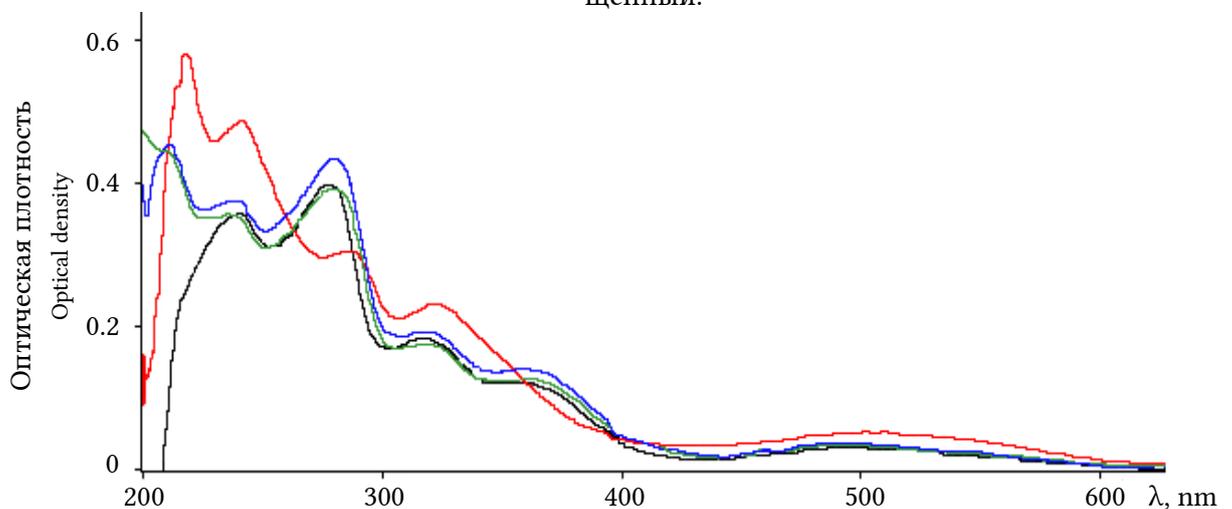


Рис. 2. УФ-спектр поглощения 0,002% раствора рифабутина в различных растворителях.

Fig. 2. UV absorption spectrum of 0.002% rifabutin solution in various solvents.

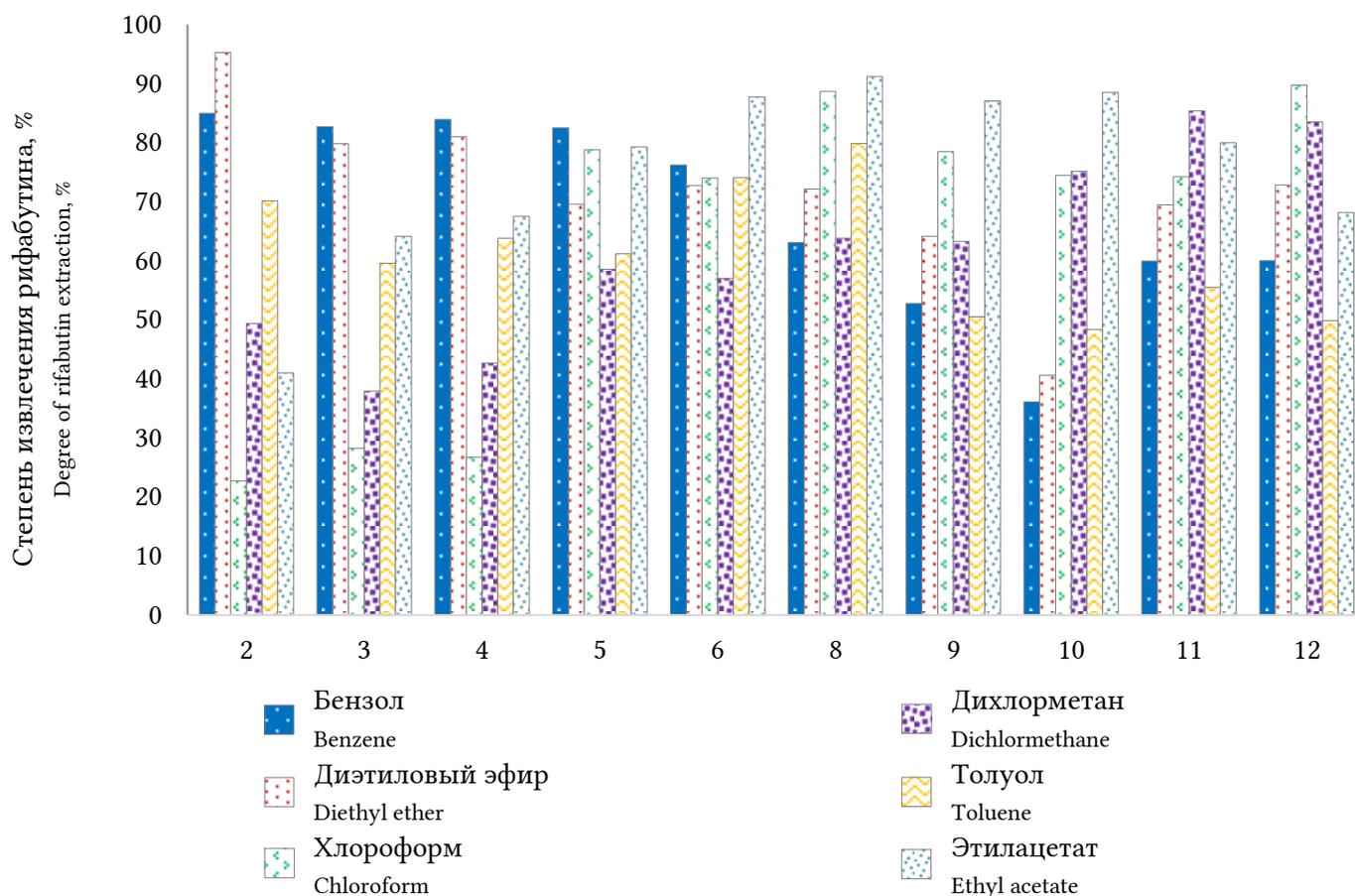


Рис. 3. Влияние органического растворителя и pH среды на экстракцию рифабутина.

Fig. 3. The effect of an organic solvent and the medium pH on rifabutin extraction.

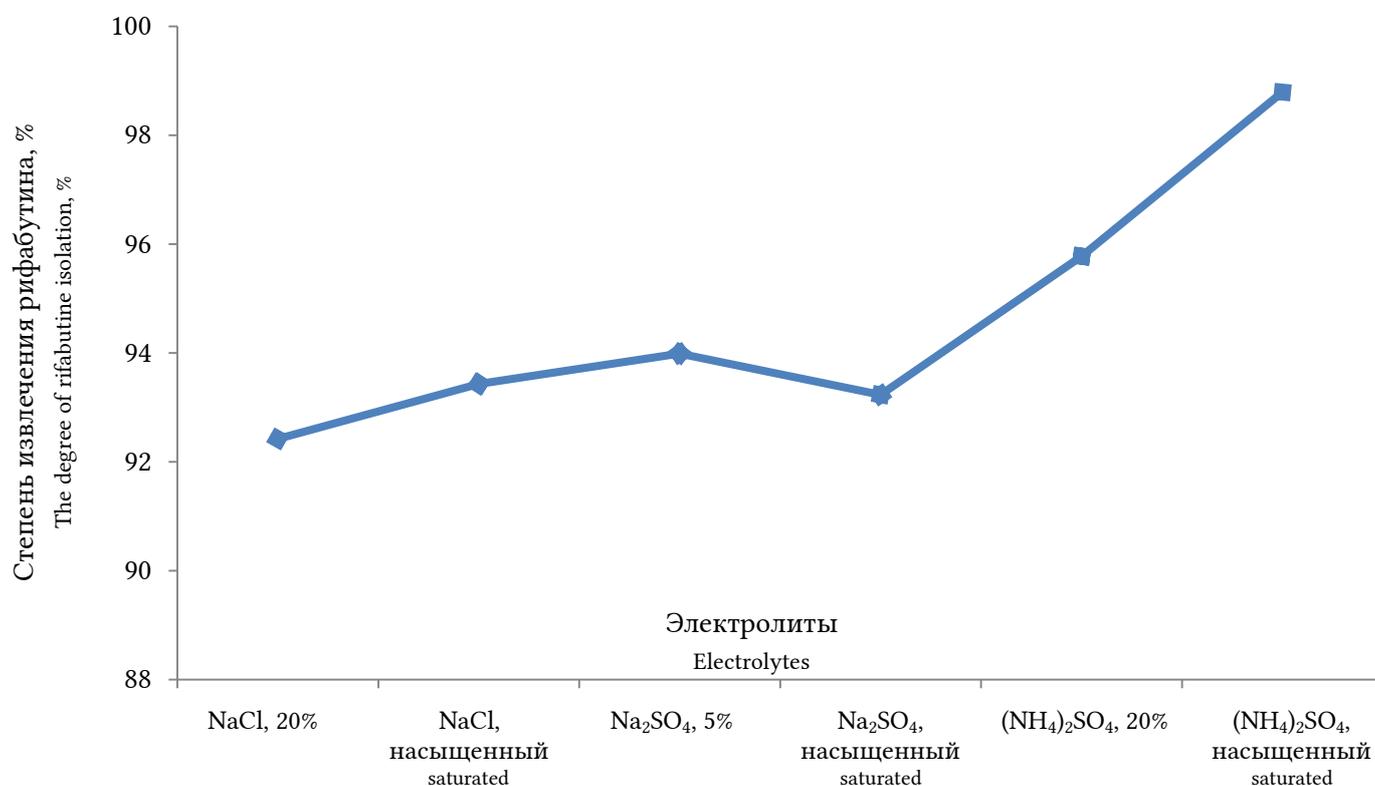


Рис. 4. Влияние электролита на экстракцию рифабутина из водных растворов.

Fig. 4. The effect of the electrolyte on rifabutin extraction from aqueous solutions.

Таблица 1

Table 1

Результаты влияния времени экстракции на изолирование рифабутина

Results of the effect of extraction time on rifabutin isolation

Время, мин Time, min	3	5	7
Степень извлечения, % Degree of extraction, %	98.86±2.7	98.47±2.1	98.45±2.4

Таблица 2

Table 2

Результаты влияния кратности на изолирование рифабутина

Results of the effect of multiplicity on the isolation of rifabutin

Кратность Multiplicity	Однократно Once	Двакратно Twice	Трехкратно Triple
Степень извлечения, % Degree of extraction, %	98.80±1.9	98.64±2.3	98.70±2.5

Таблица 3

Table 3

Результаты изолирования рифабутина из модельных образцов биологических жидкостей методом УФ-спектрофотометрии

Results of rifabutin isolation from model samples of biological fluids by UV spectrophotometry

Объект Object	Внесено, г Entered, g	n	f	\bar{X}	S ²	S	Sx	ΔX	E, %	CV
Моча Urine	0.3	6	5	82.10	1.02	1.01	0.41	1.06	1.29	0.01
	0.6	6	5	83.02	1.79	1.34	0.55	1.41	1.69	0.02
	0.9	6	5	84.45	0.88	0.94	0.38	0.99	1.17	0.01
Слюна Saliva	0.3	6	5	78.28	3.79	1.95	0.79	2.04	2.61	0.02
	0.6	6	5	81.68	2.34	1.53	0.63	1.61	1.97	0.02
	0.9	6	5	78.82	1.89	1.37	0.56	1.44	1.83	0.02
Плазма крови Blood plasma	0.3	6	5	73.07	2.11	1.45	0.59	1.52	2.08	0.02
	0.6	6	5	80.11	1.30	1.14	0.47	1.19	1.51	0.01
	0.9	6	5	78.98	1.74	1.32	0.54	1.38	1.75	0.02

Наибольший высаливающий эффект оказывало добавление насыщенного раствора натрия хлорида, что увеличивало степень извлечения до 98,7% (рис. 4).

Далее экспериментально изучалось влияние времени и кратности экстракции на степень извлечения вещества. Увеличение длительности и кратности экстракции не приводит к значительному увеличению степени извлечения. Результаты представлены в таблицах 1 и 2 соответственно.

Таким образом, степень изолирования рифабутин из водных растворов составила 98,8% при экстракции дихлорметаном (рН 2) в присутствии натрия хлорида насыщенного раствора в течение 3 минут однократно.

На основании полученных данных была разработана методика изолирования из биологических жидкостей (слюна, плазма крови, моча) и органов животного происхождения (печень, легкие). Степень экстракции оценивали

УФ-спектрофотометрическим методом. Все полученные результаты статистически обрабатывались и представлены в таблицах 3 и 4.

Данные, представленные в таблицах 3 и 4, свидетельствуют о том, что с использованием разработанных условий обнаруживается 82,10-84,45% рифабутин в модельных смесях мочи, 78,28-81,78% – в модельных смесях слюны и 73,07-80,11% – в модельных смесях плазмы крови.

Из модельных смесей печени методом А.А. Васильевой изолируется 65,35-67,88%, методом В.Ф. Крамаренко 62,82-65,98%, методом Стаса-Отто 55,32-58,15% рифабутин.

Из модельных смесей легких методом А.А. Васильевой изолируется 47,92-48,38%, методом В.Ф. Крамаренко 46,83-47,28%, методом Стаса-Отто 57,62-59,55% рифабутин.

Таким образом, была разработана методика идентификации и количественного определе-

ния рифабутина в извлечениях из биологических объектов.

Таблица 4

Table 4

Результаты изолирования рифабутина из модельных образцов органов методом УФ-спектрофотометрии
Results of rifabutin isolation from model organ samples by UV spectrophotometry

Орган Organ	Метод Method	Внесено, г Entered, g	n	f	\bar{X}	S^2	S	Sx	ΔX	E,%	CV
Печень Liver	А.А. Васильева A.A. Vasilyev's	0.3	6	5	66.35	1.65	1.28	0.52	1.35	2.03	0.02
		0.6	6	5	65.35	1.17	1.08	0.44	1.13	1.74	0.02
		0.9	6	5	67.88	0.62	0.77	0.32	0.81	1.20	0.01
	В.Ф. Крамаренко V.F. Kramarenko's	0.3	6	5	62.82	1.39	1.18	0.48	1.24	1.97	0.02
		0.6	6	5	64.68	1.59	1.26	0.52	1.32	2.05	0.02
		0.9	6	5	65.98	5.31	2.30	0.94	2.42	3.66	0.03
	Стаса-Отто Stas-Otto	0.3	6	5	58.15	0.40	0.63	0.26	0.66	1.15	0.01
		0.6	6	5	55.32	1.51	1.23	0.51	1.29	2.33	0.02
		0.9	6	5	56.31	1.03	1.02	0.41	1.06	1.89	0.02
Легкие Lungs	А.А. Васильева A.A. Vasilyev's	0.3	6	5	48.38	2.92	1.71	0.69	1.79	3.70	0.03
		0.6	6	5	48.22	3.07	1.75	0.72	1.84	3.81	0.03
		0.9	6	5	47.92	2.49	1.58	0.64	1.66	3.45	0.03
	В.Ф. Крамаренко V.F. Kramarenko's	0.3	6	5	47.28	2.26	1.50	0.61	1.58	3.33	0.03
		0.6	6	5	46.83	2.11	1.45	0.59	1.52	3.25	0.03
		0.9	6	5	46.90	2.78	1.67	0.68	1.75	3.74	0.03
	Стаса-Отто Stas-Otto	0.3	6	5	58.72	4.56	2.13	0.87	2.24	3.81	0.03
		0.6	6	5	59.55	4.81	2.19	0.89	2.30	3.86	0.03
		0.9	6	5	57.62	3.49	1.87	0.76	1.96	3.40	0.03

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266 и одобрено этическим комитетом ИГМУ. До включения в исследование все здоровые добровольцы подписали информированное согласие установленной формы (протокол № 4 от 19.11.2021 г.).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том I. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Vol. I. Moscow: Federal electronic medical library (in Russ.)]. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
2. Костанян А.Е., Сафиулина А.М., Тананаев И.Г., Мясоедов Б.Ф. Многофазная экстракция. К расче-

ту одно- и многоступенчатых процессов разделения методом жидких псевдомембран. Доклады Академии Наук. 2005;404(6):778-780. [Kostanyan A.E., Safiulina A.M., Tananaev I.G., Myasoevov B.F. Multiphase extraction: design of single- and multistage separation using liquid pseudomembranes. Doklady Chemistry. 2005;404(4-6):203-205]

3. Кривонос П.С., Авдеев Г.С. Повышение эффективности химиотерапии туберкулеза в современных условиях. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2000;(3):97-99 [Krivonos P.S., Avdeev G.S. Improving the effectiveness of tuberculosis chemotherapy in modern conditions. Immunopathology, allergology, infectology. 2000;(3):97-99 (in Russ.)]
4. Кузнецова И.Г. Экспериментальное исследование по распределению в тканях наноразмерной формы рифабутина. Вестник Московского государственного областного гуманитарного института. Серия: медико-биологические науки. 2014;(2):42-45 [Kuznetsova I.G. Experimental study on the distribution of rifabutin in nanoscale tissues. Vestnik Moskovskogo Gosudarstvennogo Oblastnogo Gumanitarnogo Instituta. Seriya: mediko-biologicheskiye nauki. 2014;(2):42-45 (in Russ.)]
5. Нечаева О.Б. Мониторинг туберкулеза и ВИЧ-инфекции в Российской Федерации. Медицинский алфавит. 2017;3(30):24-33 [Nechaeva O.B. Monitoring of tuberculosis and HIV-infection in Russian Federation. Medical alphabet. 2017;3(30):24-33 (in Russ.)]
6. Blaschke T.F., Skinner M.H. The clinical pharmacokinetics of rifabutin. Clin Infect Dis. 1996; 22(Suppl 1):S15-21

7. Jamis-Dow C.A., Katki A.G., Collins J.M., Kleckler R.W. Rifampin and rifabutin and their metabolism by human liver esterases. *Xenobiotica*. 1997;27(10):1015–1024.
DOI: 10.1080/004982597239994
8. Ji B., Truffot-Pernot C., Lacroix C., Raviglione M.C., O'Brien R.J., Olliaro P., Roscigno G., Grosset J. Effectiveness of rifampin, rifabutin, and rifapentine for preventive therapy of tuberculosis in mice. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148(6 Pt 1):1541–1546.
DOI: 10.1164/ajrccm/148.6_Pt_1.1541
9. Lau Y.Y., Hanson G.D., Carel B.J. Determination of rifabutin in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1996;676(1):125–130.
DOI: 10.1016/0378-4347(95)00423-8
10. Lewis R.C., Hatfield N.Z., Narang P.K. A sensitive method for quantitation of rifabutin and its desacetyl metabolite in human biological fluids by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Pharm Res*. 1991;8(11):1434–1440.
DOI: 10.1023/a:1015865526655
11. Li R.C., Narang P.K., Poggesi I., Strolin-Benedetti M. A model based assessment of redistribution dependent elimination and bioavailability of rifabutin. *Biopharm Drug Dispos*. 1996;17(3):223–236.
DOI: 10.1002/(SICI)1099-081X(199604)17:3<223::AID-BDD954>3.0.CO;2-S
12. Skinner M.H., Hsieh M., Torseth J., Pauloin D., Bhatta G., Harkonen S., Merigan T.C., Blaschke T.F. Pharmacokinetics of rifabutin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989;33(8):1237–1241.
DOI: 10.1128/AAC.33.8.1237
13. Utkin I., Koudriakova T., Thompson T., Cottrell C., Iatsimirskaia E., Barry J., Vouros P., Gerber N. Isolation and identification of major urinary metabolites of rifabutin in rats and humans. *Drug Metab Dispos*. 1997;25(8):963–969

Поступила в редакцию 18.01.2022

Подписана в печать 21.03.2022

Для цитирования: Коновалова С.С., Илларионова Е.А. Разработка методики химико-токсикологического анализа рифабутин в объектах биологического происхождения. *Человек и его здоровье*. 2022;25(1):54–61. DOI: 10.21626/vestnik/2022-1/07

DEVELOPMENT OF METHODS OF CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL ANALYSIS OF RIFABUTIN IN OBJECTS OF BIOLOGICAL ORIGIN

© Konovalova S.S., Illarionova E.A.

Irkutsk State Medical University (ISMU)

1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, Irkutsk Region, 664003, Russian Federation

Objective: to develop a technique for isolating and identifying rifabutin for chemical and toxicological analysis from biological material.

Materials and methods. The substance rifabutin, capsules Farbutin containing rifabutin 150 mg, ethyl alcohol 95%, hydrochloric acid solution 0.1 M, sodium hydroxide solution 0.1 M, purified water, ammonia solution 10%, solutions of ammonium sulfate 20%, ammonium sulfate saturated, sodium sulfate 5%, sodium sulfate saturated, sodium chloride 20%, sodium chloride saturated were used for analysis. Organic solvents: benzene, dichloromethane, diethyl ether, toluene, chloroform, ethyl acetate. The pH was determined using a universal ionometer It-1101. Isolation was carried out by liquid-liquid extraction, detection and quantification by spectrophotometric method in the ultraviolet region. The optical density was measured using a SF-2000 spectrophotometer in cuvettes with a layer thickness of 1 cm.

Results. In the course of the study, the optical properties of rifabutin, and absorption spectra characterized by two absorption bands at 231 ± 2 nm and 279 ± 2 nm were studied, ethyl alcohol 95% and hydrochloric acid solution 0.1 M, concentration 0.002% as optimal solvents were determined. The effect of various factors on the extraction of rifabutin from aqueous solutions has been experimentally studied. The highest degree of extraction is achieved by dichloromethane at pH 2, in the presence of sodium chloride saturated solution, once for 3 minutes.

Conclusion. Methods of isolation and quantitative determination of rifabutin by UV spectrophotometry in extracts from biological fluids and organs have been developed.

Keywords: rifabutin; liquid-liquid extraction; biological objects.

Konovalova Svetlana S. – PhD applicant of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, ISMU, Irkutsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8195-2852. E-mail: svetlanakonovalova987@yandex.ru (correspondence author)

Illarionova Elena A. – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, ISMU, Irkutsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3281-9489. E-mail: illelena24@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association and the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation" approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 266 of 06/19/2003 and approved by the IGMU Ethics Committee. Prior to inclusion in the study, all healthy volunteers signed an informed consent (Protocol No. 4 of 19.11.2021).

Received 18.01.2022

Accepted 21.03.2022

For citation: Konovalova S.S., Illarionova E.A. Development of methods of chemical and toxicological analysis of Rifabutin in objects of biological origin. *Humans and their health*. 2022;25(1):54–61. DOI: 10.21626/vestnik/2022-1/07
