

Количественное определение содержания венлафаксина и его активного метаболита в плазме крови человека посредством хроматомасс-спектрометрии

Кузьмин И. И.¹, Платова А. И.¹, Константинова А. С.², Мирошниченко И. И.¹

¹ – ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Российская Федерация

² – ООО «ЛАБИНВЕСТ», Москва, Российская Федерация

Аннотация. Предложен валидированный метод количественного определения венлафаксина и О-десметилвенлафаксина в плазме крови человека посредством жидкостной тандемной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Пробоподготовку проводили жидкофазной экстракцией с поддержкой (SLE, от англ. «supported liquid extraction») с использованием картриджей HyperSEP и промывкой 3-метилбутиловым эфиром. Для измерения содержания целевых веществ использовали тройной квадрупольный масс-спектрометр в режиме детектирования заданных масс (+MRM) в условиях ионизации электрораспылением. Калибровочные кривые носили линейный характер (коэффициент достоверности аппроксимации $r^2 > 0,999$). Валидация метода свидетельствовала о достаточно высокой чувствительности, специфичности, правильности и воспроизводимости, а также стабильности аналитов при замораживании–оттаивании и хранении при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Метод разработан для применения в терапевтическом лекарственном мониторинге (ТЛМ).

Ключевые слова: венлафаксин; о-десметилвенлафаксин; хроматомасс-спектрометрия; жидкофазная экстракция с поддержкой

Для цитирования:

Кузьмин И. И., Платова А. И., Константинова А. С., Мирошниченко И. И. Количественное определение содержания венлафаксина и его активного метаболита в плазме крови человека посредством хроматомасс-спектрометрии. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2022;(4):26–32. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-4-26-32>

Поступила: 21 октября 2022 г. **Принята:** 01 ноября 2022 г. **Опубликована:** 24 декабря 2022 г.

Quantitative determination of the content of venlafaxine and its active metabolite in human plasma using liquid chromatography-mass spectrometry

Kuzmin II¹, Platova AI¹, Konstantinova AS², Miroshnichenko II¹

¹ – FSBSI “Mental Health Research Center”, Moscow, Russian Federation

² – LABINVEST LLC, Moscow, Russian Federation

Abstract. A validated method for the quantitative determination of venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine in human plasma by tandem liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC/MS/MS) has been proposed. Sample preparation was carried out by liquid-phase extraction with support (SLE, from “supported liquid extraction”) using HyperSEP cartridges and washing with 3-methylbutyl ether. The measure of the target analytes was carried on a triple quadrupole mass spectrometer under multiple-reaction monitoring (+MRM) mode with the electrospray ionization. The calibration curves were linear with regression coefficient $r^2 > 0.999$. The method validation was showed high sensitivity, specificity, accuracy and reproducibility, as well as stability of analytes after freeze/thaw cycles and storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The method is developed for using in therapeutic drug monitoring.

Keywords: venlafaxine; O-desmethylvenlafaxine; chromatomass spectrometry; support liquid phase extraction

For citations:

Kuzmin II, Platova AI, Konstantinova AS, Miroshnichenko II. Quantitative determination of the content of venlafaxine and its active metabolite in human plasma using liquid chromatography-mass spectrometry. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2022;(4):26–32. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-4-26-32>

Received: October 21, 2022. **Accepted:** November 01, 2022. **Published:** December 24, 2022

Введение / Introduction

1-[2-(Диметиламино)-1-(4-метоксифенил)этил]циклогексанол или венлафаксин — антидепрессант, селективный ингибитор обратного захвата серотонина и норадреналина [1]. Абсорбция венлафаксина в желудочно-кишечном тракте составляет около 92 %, однако из-за пресистемного метаболизма его биодоступность снижается до 12,6 % [2].

Венлафаксин в основном метаболизируется цитохромом 2D6 с образованием активного метаболита О-десметилвенлафаксина (ODV), который биотрансформируется с участием CYP3A4, CYP2C19 и UGT (уридин-5-дифосфат глюкуронилтрансферазы), не образуя активных метаболитов. Кроме того, в метаболизм венлафаксина вносят вклад цитохромы CYP2C19, CYP2C9, и CYP3A4 [3].

Как и венлафаксин (VFX), так его активный метаболит, О-десметилвенлафаксин (ODV), являются рацематами. R-VFX (рацемат R-энантиомеров) ингибирует как обратный захват норадреналина, так и серотонина, в то время как S-VFX (рацемат S-энантиомеров) ингибирует только обратный захват серотонина. R- и S-VFX метаболизируются до R- и S-О-десметилвенлафаксина, соответственно. Фармакокинетика энантиомеров VFX, включая метаболизм, также стереоселективна. Несмотря на имеющиеся стереоселективные методики (ВЭЖХ с УФ детектированием, капиллярный электрофорез и ВЭЖХ-МС/МС), их применение в терапевтическом лекарственном мониторинге (ТЛМ) остаётся длительным и трудозатратным [4].

Вместе с тем, степень сопоставимости фармакологических профилей энантиомеров ODV и VFX [4] позволяет применять нестереоселективные подходы,

отвечающие более актуальным требованиям лекарственного мониторинга, таким как простота, скорость и экономическая эффективность.

Медленный метаболизм, опосредованный полиморфизмом цитохрома CYP2D6, может приводить к токсичному уровню препарата в крови, а его доля в индоевропейской популяции существенна (5–10 %) [5]. Лекарственный мониторинг помогает выявлять фенотип медленного или ультрабыстрого метаболизма CYP2D6 по соотношению метаболит–исходное вещество (MPR) вне пределов нормального диапазона 2,7–7,7 [6].

Линейность кинетики VFX и ODV в терапевтическом диапазоне суточных доз 75–450 мг обеспечивает достижение равновесных концентраций при курсовом приёме уже через 3-е суток. Периоды полувыведения у венлафаксина (4–14 ч.) и ODV (10–20 часов) сравнительно короткие — меньше интервала дозирования 24 ч, что требует мониторинга их остаточного уровня, влияющего на выраженность антидепрессивного эффекта [7].

Активный метаболит (AM) в совокупности с родительским веществом составляют суммарную фракцию венлафаксина, терапевтический коридор которой установлен как 100–400 нг/мл. Концентрация выше 222 нг/мл является прогностической для принятия врачебных решений, а уровень выше 800 нг/мл требует срочного вмешательства (laboratory alert) [8].

Клиренс, рассчитываемый на основе остаточных концентраций (C_{min}) AM, определяется активностью CYP 2D6 и CYP 2C19 и зависит от возраста. Поэтому высокие значения AM венлафаксина обычно связаны с лекарственными взаимодействиями и возрастом.

Очевидно, что безопасность назначения VFX определяется не только режимом дозирования, но и индивидуальными характеристиками (например, статус метаболизма по цитохромам 2D6 и 2C19, возраст), что объясняет необходимость ТЛМ. Другим показанием для ТЛМ венлафаксина является переключение терапии с оригинального препарата на непатентованную форму и наоборот, чреватой потерей эффективности или проблемами с переносимостью [9, 10].

Немаловажной предпосылкой для разработки быстрой и эффективной методики количественного обнаружения венлафаксина является рост в России числа отравлений, выделяющихся своей тяжестью и весомой долей среди других психотропных средств, что связано с немедицинским применением венлафаксина [11].

Резюмируя вышесказанное, становится понятным интерес к поиску аналитических методов, удовлетворяющих требованиям ТЛМ.

Для анализа венлафаксина и его активного метаболита доступно множество методов: газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС) [12], высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с УФ-детекцией [13], ВЭЖХ с флуоресцентной детекцией [14], а также применяется ВЭЖХ с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) [15].

При этом некоторые методики не подходят для ТЛМ из-за недостаточной чувствительности, другие требуют сложную многоступенчатую очистку и дериватизацию — дорогостоящие и отнимающие много времени подходы. В большинстве опубликованных методов в качестве внутреннего стандарта применяется дейтерированный аналог, что удорожает исследование, а в настоящее время, в целях импортозамещения, подбор внутреннего стандарта (ВС) из других соединений и вовсе имеет первостепенное значение.

Наиболее широко применяемые методы подготовки проб образцов плазмы крови — жидкость-жидкостная, твёрдофазная экстракция (ТФЭ) и осаждение белков. Жидкость-жидкостная экстракция в традиционном формате трудоёмка, отнимает много времени, а также снижает прецизионность за счёт ручного фактора. ТФЭ и осаждение белков, в свою очередь, хорошо нивелируют эффект матрицы. В последнее время все шире применяется жидкофазная экстракция с поддержкой (SLE), сочетающая преимущества жидкостной экстракции и ТФЭ: получение более чистых образцов (снижение содержания фосфолипидов с устранением матричного эффекта), лучшая воспроизводимость и сокращение времени пробоподготовки [16].

Золотым стандартом в количественном лекарственном анализе является метод ВЭЖХ-МС/МС, имеющий несколько общих биоаналитических проблем, таких как матричный эффект, интерференция, низкое извлечение и воспроизводимость. Среди этих проблем матричный эффект является одной из самых сложных и трудных для решения. Матричный эффект наблюдается вследствие влияния на сигнал МС-детектора эндогенных компонентов матрицы: солей и поверхностно-активных веществ, особенно фосфолипидов. Причём последние трудно хроматографически отделить из-за широкого диапазона полярности. Поэтому эффективное удаление фосфолипидов с помощью SLE пробоподготовки становится критичным для минимизации матричного эффекта [16].

Универсальным аспектом пробоподготовки является подбор буферного раствора для достижения целевого pH, минимизирующего ионизацию молекул аналита для оптимизации экстракции. Для этого на основе pKa функциональных групп в молекулах целевых аналитов рассчитывают целевой pH. VFX и ODV обладают выраженными основными свойствами, что обычно требует буферизации 1 % гидроксидом аммония образца плазмы на 2 единицы выше приведённых в таблице величин pKa (табл. 1).

Таблица 1

Кислотно-основные свойства изучаемых аналитов

Table 1

The acid-base properties of the analytes under study

Константа ионизации (pKa)	VFX	ODV
Наиболее сильная кислотная функциональная группа молекулы pKa (Strongest Acidic)	14,42	10,11
pKa кислоты, сопряжённой с самой сильной основной группой (Strongest Basic)	8,91	8,87

Картриджи HyperSep SLE pH 9 (Thermo) помимо содержания кремнезема, снижающего содержание примесей в элюате, имеет уровень кислотности, оптимизированный для элюирования соединений с основными свойствами.

Данная работа посвящена оптимизации метода ВЭЖХ-МС/МС для измерения концентрации венлафаксина и его активного метаболита О-десметилвенлафаксина в плазме крови человека для применения в ТЛМ или токсикологии [17]. Ведущим подходом в оптимизации являлось применение жидкофазной экстракции с поддержкой на основе картриджей HyperSep SLE pH 9 (Thermo). В качестве внутреннего стандарта использовали метопролол (рис. 1).

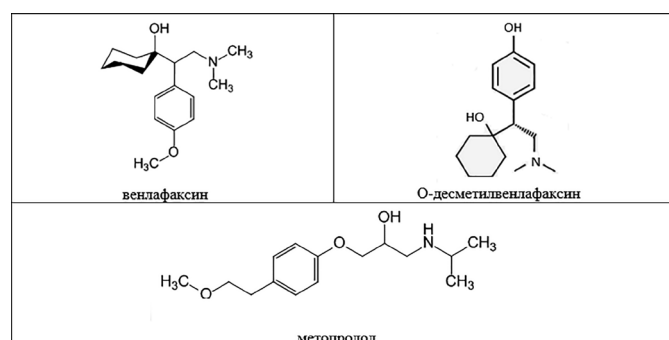


Рис. 1. Венлафаксин, О-десметилвенлафаксин и внутренний стандарт (метопролол)

Источник: База данных DrugBank. Ссылка: <https://go.drugbank.com/>
Fig. 1. Venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine and the internal standard (metoprolol).

Source: DrugBank database. Link: <https://go.drugbank.com/>

Материалы и методы / Materials and methods

Препараты, реактивы и оборудование / Substances, reagents and equipment

Субстанция венлафаксина произведена компанией «Sigma» (США), О-десметилвенлафаксина — Toronto Research Chemical (Канада). Субстанция метопролола предоставлена ЗАО «Исследовательский институт химического разнообразия», Химки, Московская область.

Остальные реактивы были аналитического качества: муравьиная кислота (Sigma Inc., США), метанол и ацетонитрил (Lab-Scan, Польша), деионизированная вода, полученная из дистиллированной воды с использованием системы Simplicity UV (Millipore, США). Патроны HyperSEP SLE 200MG/3ML/50PKG (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Для производства азота особой чистоты использовался генератор NitroFlow Lab фирмы Parker Filtration (Нидерланды). Для равномерного перемешивания проб применялся вибровстряхиватель типа «Vortex» фирмы Labomed (Швейцария). В исследовании также применялись электронные весы Ohaus Discovery (Ohaus Europe, Швейцария).

Обработка проб / Sample Preparation

Перед началом анализа проходила процедура подготовки патронов HyperSEP. Водный образец вносился пипеткой в патрон. Для более эффективной абсорбции с помощью специального оборудования дополнительно создавались импульсы в вакууме в течение пяти минут.

Для проведения анализа в стеклянные пробирки объемом 5 мл отбирали 500 мкл плазмы, добавляли 50 мкл стандарта смеси двух веществ, 50 мкл раствора IS и 500 мкл воды. Далее пробирки перемешивали на вибровстряхивателе типа вортекс в течение 15 секунд. Для SLE патронов HyperSEP загружали 1 мл супернатанта. Элюирование целевого вещества осуществляли 2 мл не смешивающегося с водой растворителя — трет-бутилметилового эфира (ТМБЭ), также с применением вакуумных импульсов. Элюент переносили в пробирки и выпаривали в токе азота при 40 °С. Сухой остаток растворяли в 200 мкл метанола. Объем вводимой пробы — 2 мкл.

Условия хромато-масс-спектрометрического определения / Conditions for Chromatography-Mass Spectrometric Determination

Анализ образцов проводился на жидкостном хроматографе Dionex UltiMate 3000 (США), включающем дегазатор, бинарный насос, автоинжектор, термостаты автоинжектора и модуля колонок, спектрофотометрический детектор с диодной матрицей, совмещенный с квадрупольным масс-спектрометром TSQ Quantiva (Thermo Scientific, США). При анализе использовался метод ионизации электрораспылением (ESI). Программное обеспечение — Xcalibur.

Условия хроматографического анализа / Conditions for Chromatography Analysis

Стационарная фаза — колонка «Hypersil GOLD — C18» фирмы Thermo Scientific Inc., США (50 × 2,1 мм; 1,9 мкм) с предколонкой 12,5 мм × 4,6 мм.

Подвижная фаза состояла из 0,2 % муравьиной кислоты в ацетонитриле, и 0,2 % раствора муравьиной кислоты в воде. Насос работал в градиентном режиме (табл. 2).

Таблица 2

Градиентный режим ВЭЖХ

Table 2

The gradient mode in HPLC

Время, мин	Поток (мл/мин)	0,2 % раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле	0,2 % раствора муравьиной кислоты в воде
0	0,2	15	85
0,5	0,2	15	85
7	0,2	85	15
10	0,2	15	85
12	0,2	15	85
12	Остановка анализа		

Скорость подвижной фазы — 0,2 мл/мин; объём пробы, вводимой в аналитическую систему — 2,0 мкл; температура термостата колонки — 30 °С. В указанных условиях время удерживания венлафаксина составило $4,9 \pm 0,2$ мин, О-десметилвенлафаксина — $1,5 \pm 0,1$ мин, метопролола (IS) — $2,1 \pm 0,1$ мин. Предел обнаружения венлафаксина в пробах составил 1,0 нг/мл, О-десметилвенлафаксина — 1,0 нг/мл.

Режим работы масс-детектора / Mass Detector Operating Mode

Детектор работал в режиме мониторинга заданных масс с положительной ионизацией. Для каждого анализа и ВС оптимизировали параметры работы масс-детектора. Напряжение электрораспыления — 4200 В. Для диссоциации молекул в ячейке соударений использовали аргон под давлением 0,15 МПа.

Калибровочные стандарты и образцы контроля качества / Calibration Standards and Quality Control Samples

Маточные растворы венлафаксина и О-десметилвенлафаксина концентрацией 1,0 мг/мл, получали растворением соответствующей навески в метаноле. Из полученного раствора смеси этих двух веществ с концентрацией каждого 100 мкг/мл готовили стандартные растворы (1; 5; 10; 50; 100; 250 и 500 нг/мл) последовательным разведением метанолом. Образцы контроля качества (QC) низкой, средней и высокой концентрации (12,5; 125; 400 нг/мл) готовили подобным образом. Маточный раствор IS (1 мг/мл) в метаноле разбавляли метанолом до конечной концентрации — 500 нг/мл. Маточные растворы хранили при температуре 4 °С и использовали в течение месяца после приготовления. Калибровочные стандарты и образцы QC готовили добавлением 50 мкл стандартного раствора, содержащего оба определяемых вещества, и 50 мкл раствора IS к 500 мкл плазмы.

Валидация метода / The method validation

Валидацию метода проводили в соответствии с требованиями к биоаналитическим методам, разработанными в Управлении по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США [18].

Проводя скрининг шести образцов плазмы человека разного происхождения, заведомо не содержащих аналиты, оценивали специфичность метода. Каждый образец анализировали на интерференцию, применяя предложенную процедуру подготовки образцов и условий хроматомасс-спектрометрического определения, а затем сравнивали результаты с полученными для раствора аналитов в чистом растворителе в концентрациях, близких к калибровочным.

Эффект влияния матрицы на ионизацию искоемых веществ оценивали путём сравнения площадей пиков каждого из аналитов в образце плазмы с площадями пиков, полученными для этих же веществ в мобильной фазе. Оценили три различных уровня концентрации определяемых веществ (12,5; 125; 400 нг/мл) путём ана-

лиза образцов на каждом из этих уровней. Контрольные образцы плазмы, используемые в этом исследовании, — пять различных проб от здоровых людей.

Для определения диапазона линейности использовали стандартные калибровочные кривые концентраций из 8 точек (от 0 до 500 нг/мл).

Правильность и прецизионность метода в пределах одного дня (intra-day) оценивались путём анализа пяти контрольных образцов (QC) — микса аналитов на трёх уровнях (12,5; 125; 400 нг/мл). Правильность и прецизионность в различные дни экспериментов (inter-day) определяли анализом 15 QC образцов в течение трёх последовательных дней. При определении прецизионности и правильности использовали 15 % интервал от фактических концентраций.

Степень экстракции каждого из определяемых веществ оценивали путём сравнения средних площадей их пиков после анализа стандартных образцов контроля качества, подвергнутых процедуре пробоподготовки, описанной выше, при низком, среднем и высоком уровнях концентраций (12,5; 125; 400 нг/мл) со средними площадями пиков стандартов в метаноле в тех же концентрациях.

Для определения чувствительности использовали самую низкую концентрацию аналитов, при которой прецизионность и правильность были меньше или равны 20 %, а соотношение сигнала к шуму (S/N) было больше 10. Оценивали также воспроизводимость и прецизионность метода.

Для оценки стабильности образцов при замораживании—оттаивании определяли стабильность QC образцов для трёх уровней концентраций венлафаксина, О-десметилвенлафаксина в плазме после трёх циклов замораживания (–20 °С) и оттаивания (при комнатной температуре).

Результаты и обсуждение / Results and Discussion

Условия масс-спектрометрии / Mass Spectrometry Conditions

Для всех аналитов были тщательно оптимизированы параметры масс-детектора. В качестве ВС был выбран метопролол, поскольку его хроматографические характеристики и степень извлечения близки к определяемым веществам. Были подобраны условия масс-спектрометрического детектирования, дающие наибольшую чувствительность определения: напряжение на капилляре электро-спрея — 3500 В, время задержки (dwell time) — 100 мс, температура оболочечного газа — 358 °С, температура ион-трансферного капилляра — 342 °С. Во время анализа скорости потока газа (азота) были различными: скорость оболочечного газа — 45 мл/мин., вспомогательного газа — 13 мл/мин. В ячейке соударений использовали аргон: под давлением 0,2 Па. Времена удерживания, материнские (**precursor**) и дочерние (**product**) ионы, а также энергии соударений (collision energy, CE) для аналитов и внутреннего стандарта приведены в табл. 3.

Таблица 3

Параметры режима детектирования заданных масс

Table 3

Multiple Reaction Monitoring parameters

Аналит	Время удерживания, мин	Полярность	Precursor, m/z	Product, m/z	CE
Венлафаксин	4,9 ± 0,2	Положительная	278	260	7
О-десметилвенлафаксин	1,5 ± 0,1	Положительная	264	246	7
Метопролол (ВС)	2,1 ± 0,1	Положительная	268	116	30

Для достижения приемлемого хроматографического разделения и максимального ионизационного отклика определяемых аналитов исследовали несколько вариаций компонентов мобильной фазы (метанол, ацетонитрил, вода, муравьиная кислота, ацетат аммония). В результате пришли к выводу, что мобильная фаза из ацетонитрила с 0,2 % муравьиной кислотой является оптимальной при выборе соответствующего градиента. Типичная масс-спектрограмма изучаемых веществ показана рис. 2.

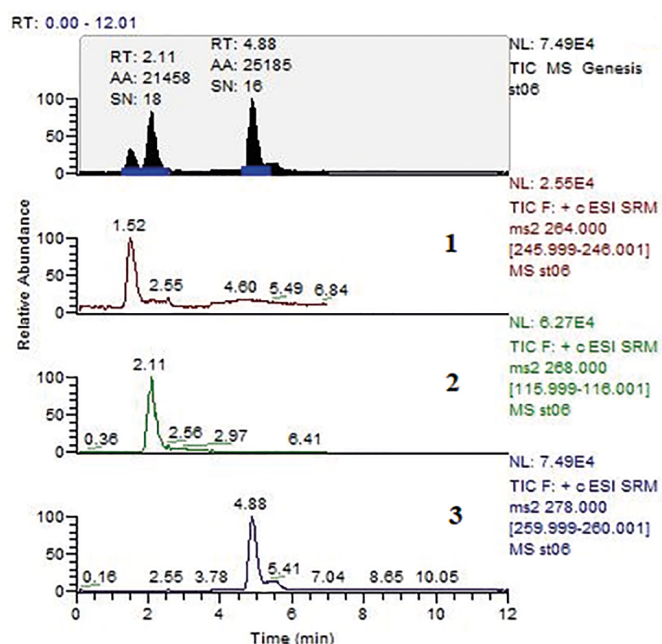


Рис. 2. Хроматограмма в режиме полного ионного тока: 1 — О-десметилвенлафаксин; 2 — метопролол (ВС); 3 — венлафаксин.

Fig. 2. Total ion current (TIC) chromatogram: 1 — O-desmethylenlafaxine; 2 — metoprolol (internal standard); 3 — venlafaxine

Результаты валидации метода / Method Validation Results

Путём построения калибровочных кривых концентраций для стандартных образцов венлафаксина, О-десметилвенлафаксина, арипипразола, дегидроарипипразола в диапазоне концентраций от 1 до 500 нг/мл

установили, что зависимости отношения площади пиков аналита / ВС (y) от концентрации определяемых веществ (x) от описывается линейными уравнениями:

- для венлафаксина: $y = 0,2399 \cdot x$ с коэффициентом достоверности аппроксимации $r^2 = 0,9998$;
- для О-десметилвенлафаксина: $y = 0,1156 \cdot x$, $r^2 = 0,9995$;

С пиками венлафаксина и О-десметилвенлафаксина не интерферировали пики коэкстрактивных веществ матрицы. Степень экстракции венлафаксина составила 68 %, О-десметилвенлафаксина — 71 %, и, как свидетельствуют данные, была удовлетворительной, точной и воспроизводимой.

Сходимость (прецизионность) измерений (CV) для трёх концентраций каждого из определяемых веществ (в пределах одного дня и в разные дни) была в пределах нормы. Соответствующие данные прецизионности и правильности представлены в табл. 4.

Селективность проверяли путём измерения шести образцов плазмы разного происхождения, не содержащих искоемых веществ. В образцах не было обнаружено значимого количества эндогенных веществ при временах удерживания на колонке, соответствующих пикам венлафаксина, О-десметилвенлафаксина и метопролола.

Матричный эффект проверяли на трёх вышеуказанных концентрациях — 12,5 нг/мл, 125 нг/мл и 400 нг/мл. Отношение площадей пиков аналитов в экстракте плазмы и мобильной фазе составило для венлафаксина — 89,2 %, 94,5 %, 93,8 %; для О-десметилвенлафаксина — 88,6 %, 95,1 %, 90,1 %. Стабильность образцов во время проведения анализа обеспечивалась использованием термостатированного автоинжектора при температуре 10 °С.

Аналиты в трёх концентрациях были стабильны в плазме в течение трёх проанализированных циклов замораживания (–20 °С) и оттаивания (при комнатной температуре). Длительная стабильность аналитов в течение 30 дней при температуре –20 °С потенциально благоприятна для рутинного анализа при проведении исследований ТЛМ.

Значения определяемых концентраций находились в диапазоне: 1,6–85 нг/мл для венлафаксина; 5–143 нг/мл для О-десметилвенлафаксина. Данные, полученные в ТЛМ, были использованы для коррекции антидепрессивной терапии.

Таблица 4

Правильность и прецизионность метода определения венлафаксина, О-десметилвенлафаксина в плазме крови человека ($n = 5$)

Table 4

The accuracy and precision values of method detection for venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine in human plasma ($n = 5$)

Добавлено к плазме (нг/мл)	Измеренная концентрация	Правильность, %	Прецизионность, CV%	Измеренная концентрация	Правильность, %	Прецизионность, CV%
Венлафаксин, погрешность измерений						
12,5	14,1	12,8 %	10 %	11,1	–11,2 %	9,5 %
125	157	4,7 %	6,5 %	165	10,0 %	7,8 %
400	390	–2,5 %	8,1 %	417	4,25 %	5,3 %
О-десметилвенлафаксин, погрешность измерений						
12,5	11,7	–6,4 %	11	12,1	–3,2 %	9,2 %
125	148	–1,3 %	9,3	143	–4,7 %	9,4 %
400	421	5,25 %	11,2	425	6,25 %	7,7 %

Заключение / Conclusion

Предложен чувствительный и специфичный метод определения венлафаксина и его метаболита в плазме крови человека. Интерференции, вызванной эндогенными веществами плазмы, не выявлено. Метод достаточно быстрый (время хроматографической разгонки 5 минут), селективный и высокочувствительный с нижним пределом обнаружения не менее 1 нг/мл для всех изучаемых веществ. Метод пригоден для определения концентрации венлафаксина, и его метаболита (О-десметилвенлафаксина) при изучении клинической фармакокинетики и биоэквивалентности.

Данная методика была успешно апробирована на базе Научного центра психического здоровья («НЦПЗ» РАМН, Москва), для ТЛМ пациентов, получающих венлафаксин в связи с депрессивным состоянием.

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

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

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Кузьмин Иван Игоревич

e-mail: rouswell9@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9326-4683>

SPIN-код: 1442-0325

м. н. с. лаборатории доказательной медицины и биостатистика ФГБНУ НЦПЗ, Москва, Российская Федерация

Kuzmin Ivan I.

e-mail: rouswell9@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9326-4683>

SPIN code: 1442-0325

Research assistant of laboratory of evidence-based medicine and biostatistics, MHRC, Moscow, Russian Federation

Платова Ангелина Игоревна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: platova@psychiatry.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9682-4623>

SPIN-код: 6656-2194

м. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ НЦПЗ, Москва, Российская Федерация

Platova Angelina I.

Corresponding author

e-mail: platova@psychiatry.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9682-4623>

SPIN code: 6656-2194

Research assistant of pharmacokinetics laboratory, MHRC, Moscow, Russian Federation

Константинова Анастасия Сергеевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5216-5294>

Сервис-инженер ООО «ЛАБИНВЕСТ», Москва, Российская Федерация

Konstantinova Anastasiya S.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5216-5294>

Service Engineer «LABINVEST» LLC, Moscow, Russian Federation

Мирошниченко Игорь Иванович

e-mail: igormir@psychiatry.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4950-5336>

SPIN-код: 4117-9703

д. м. н., заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ НЦПЗ, Москва, Российская Федерация

Miroshnichenko Igor I.

e-mail: igormir@psychiatry.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4950-5336>

SPIN code: 4117-9703

Dr. Sci. (Med.), Head of pharmacokinetics laboratory MHRC, Moscow, Russian Federation

Список литературы / References

1. Yuan Z, Chen Z, Xue M, Zhang J, Leng L. Application of antidepressants in depression: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Neurosci*. 2020;80:169–181. DOI: 10.1016/j.jocn.2020.08.013.
2. Sánchez-Mata MC, Cámara-Hurtado M, Díez-Marqués C, Torija-Isasa ME. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Eur Food Res Technol*. 2000;210(3):220–225. DOI: 10.1007/PL00005516
3. Shelton RC. Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors. *Handb Exp Pharmacol*. 2019;250:145–180. DOI: 10.1007/164_2018_164.
4. Hancu G, Lupu D, Milan A, Budău M, Barabás-Hajdu E. Enantioselective analysis of venlafaxine and its active metabolites: A review on the separation methodologies. *Biomedical Chromatograph*. 2021;35(1):e4874. DOI: 10.1002/bmc.4874.
5. Мирошниченко И. И. Рациональное дозирование и мониторинг лекарственных средств // М.: Медицинское информационное агентство. М.: Мед. Информ; 2011, 416 с. [Miroshnichenko II. Racional'noe dozirovanie i monitoring lekarstvennyh sredstv. Moscow: Medical News Agency. 2011. (In Russ).].
6. Ganesh SV, Beunk L, Nikolik B, van der Weide J, Bet PM. Therapeutic drug monitoring of psychotropics as a diagnostic tool for CYP2D6 poor metabolizer phenotype. *Ther Drug Monit*. 2021;43(5):672–680. DOI: 10.1097/FTD.0000000000000868.
7. Scherf-Clavel M, Weber H, Wurst C, Stonawski S, Hommers L, Unterecker S, Wolf C, Domschke K, Rost N, Brückl T, Lucae S, Uhr M, Binder EB, Menke A, Deckert J. Effects of Pharmacokinetic Gene Variation on Therapeutic Drug Levels and Antidepressant Treatment Response. *Pharmacopsychiatry*. 2022;55(05):246–254. DOI: 10.1055/a-1872-0613.
8. Hiemke C, Bergemann N, Clement HW, et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology. *Pharmacopsychiatry*. 2018 Jan;51(1-02):9–62. DOI: 10.1055/s-0043-116492.
9. Chenu F, Batten LA, Zernig G, et al. Comparison of pharmacokinetic profiles of brand-name and generic formulations of citalopram and venlafaxine: a crossover study. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(7):958–966. DOI: 10.4088/jcp.09m05315.
10. Couchman L, Morgan PE, Spencer EP, et al. Plasma clozapine and norclozapine in patients prescribed different brands of clozapine (Clozaril, Denzapine, and Zaponex). *Ther Drug Monit*. 2010;32(5): 624–627. DOI: 10.1097/FTD.0b013e3181f0a1a2.
11. Сервие К.Ю., Апраксин В.Ф., Анисимова Н.А., Киреева А.В., Куклин В.Н. Определение препарата «Венлафаксин» в биологических жидкостях. *Фармация*. 2018;67(6):13–19. [Servie KYu, Apraksin VF, Anisimova NA, Kireeva AV, Kuklin VN. Determination of Venlafaxine in biological fluids. *Farmatsiya*. 2018;67(6):13–19. (In Russ).]. DOI: 10.29296/25419218-2018-06-03.
12. Truta L, Castro AL, Tarelho S, Costa P, Sales MGF, Teixeira HM. Antidepressants detection and quantification in whole blood samples by GC–MS/MS, for forensic purposes. *J Pharm Biomed Anal*. 2016;128:496–503. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.06.027.
13. Sher M, Ahmad M, Hassan F, Naeem-ul-Hassan M, & Hussain MA. Development and validation of an HPLC–UV method for accelerated stability study and pharmacokinetic analysis of venlafaxine. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;56. DOI: 10.1590/s2175-97902019000217728.
14. Shen S, Zhang C, Mao Y. Determination of venlafaxine and its active metabolite O-desmethylvenlafaxine in human plasma by HPLC fluorescence. *Gen Psychiatr*. 2018;31(2):e000010. DOI: 10.1136/gpsych-2018-000010.
15. Bhatt J, Jangid A, Venkatesh G, Subbaiah G, & Singh S. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS–MS) method for simultaneous determination of venlafaxine and its active metabolite O-desmethyl venlafaxine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005;829(1-2):75–81. DOI: 10.1016/j.jchromb.2005.09.034.
16. Zhang Y, Cao H, & Jiang H. Supported liquid extraction versus liquid–liquid extraction for sample preparation in LC–MS/MS-based bioanalysis. *Bioanalysis*. 2013;5(3):285–288. DOI: 10.4155/bio.12.335.
17. Hansen MR, Kuhlmann IB, Pottegård A, Damkier P. Therapeutic Drug Monitoring of Venlafaxine in an Everyday Clinical Setting: Analysis of Age, Sex and Dose Concentration Relationships. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;121(4):298–302. DOI: 10.1111/bcpt.12796.
18. Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. Validation of new methods. *Forensic Sci Int*. 2007;165(2-3):216–224. DOI: 10.1016/j.forsciint.2006.05.021.