

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭСЦИТАЛОПРАМА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС ДЛЯ
ЗАДАЧ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И ЛЕКАРСТВЕННОГО МОНИТОРИНГА**

Василюк В.Б.^{1,2}, Синявин С.А.¹, Фомичев А.В.¹, Вerveда А.Б.^{1,3},

Фарапонова М.В.¹

¹*Общество с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский центр Эко-
безопасность», 196143, г. Санкт-Петербург, nic@ecosafety.ru*

²*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.
Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, Россия, Санкт-
Петербург, rectorat@szgmu.ru*

³*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский
институт промышленной и морской медицины» Федерального медико-биологического
агентства, 196143, Россия,
Санкт-Петербург, niipmt@fmbamail.ru*

Резюме. Введение. Вопросы количественного определения эсциталопрама в биосредах, как наиболее распространенного лекарственного препарата из группы антидепрессантов, являются актуальными для психиатрии, токсикологии, судебной медицины, клинической фармакологии и научно-исследовательской деятельности. *Цель исследования.* Разработка и валидация методики быстрого количественного определения эсциталопрама в плазме крови человека в целях клинической медицины и научно-исследовательской деятельности. *Материалы и методы.* Оборудование: система ВЭЖХ-МС/МС, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity II с тандемным масс-селективным детектором G6470B (тройной квадруполь, Agilent Technologies, США) с программным обеспечением MassHunter (Ver. 10.1). *Реактивы и растворы:* ацетонитрил (LC-MS grade, Merck, Германия); метанол (HPLC-grade, Химмед, Россия); кислота муравьиная (Химмед, Россия), стандартные образцы эсциталопрама оксалата (CAS 128196-01-0, Synergene Active Ingredience Pvt. Ltd, Индия) и пароксетина гидрохлорида (CAS 61869-08-7, TRC Canada, Канада). *Результаты.* Разработана методика количественного определения эсциталопрама, которая была валидирована в соответствии с правилами Евразийского экономического союза, а также требованиями руководств FDA и ЕМА. *Заключение.* В рамках исследования была разработана и валидирована методика количественного определения эсциталопрама в плазме крови. Аналитический диапазон

методики составляет 0.5 – 100.0 нг/мл. Преимуществом разработанной методики является простота исполнения и скорость выполнения аналитического исследования (около 20 минут).

Ключевые слова: эсциталопрам; жидкостная хромато-масс-спектрометрия; хроматография; масс-спектрометрия; фармакокинетика; биоаналитическая методика

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHODOLOGY FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ESCITALOPRAM IN HUMAN BLOOD PLASMA BY HPLC-MS/MS FOR PHARMACOKINETICS AND DRUG MONITORING TASKS

Vasilyuk V.B.^{1,2}, Sinyavin S.A.¹, Fomichev A.V.¹, Verveda A.B.^{1,3},

Faraponova M.V.¹

¹*Limited Liability Company «Research Center Eco-Safety»*

²*North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*

³*Research Institute of Industrial and Maritime Medicine of Federal Medical Biological Agency*

Abstract. Introduction. The issues of quantitative determination of escitalopram in biological media, as the most common drug from the group of antidepressants, are relevant for psychiatry, toxicology, forensic medicine, clinical pharmacology and research activities. *Objective.* Development and validation of a technique for rapid quantitative determination of escitalopram in human blood plasma for the purposes of clinical medicine and research activities. *Materials and Methods. Equipment:* HPLC-MS/MS system consisting of a liquid chromatograph Agilent 1260 Infinity II with tandem mass-selective detector G6470B (triple quadrupole, Agilent Technologies, USA) with software MassHunter (Ver. 10.1). *Reagents and solutions:* acetonitrile (LC-MS grade, Merck, Germany); methanol (HPLC-grade, Химмед, Russia); formic acid (Химмед, Russia), standard samples of escitalopram oxalate (CAS 128196-01-0, Synergene Active Ingredient Pvt. Ltd, India) and paroxetine hydrochloride (CAS 61869-08-7, TRC Canada, Canada). *Results.* A method of quantitative determination of escitalopram has been developed, which has been validated in accordance with the rules of the Eurasian Economic Union, as well as the requirements of the guidelines of FDA and EMA. *Conclusion.* As part of the study, a method for the quantitative determination of escitalopram in blood plasma was developed and validated. The analytical range of the technique is 0.5 – 100.0 ng/ml. The advantage of the developed methodology is the simplicity of execution and the speed of analytical research (about 20 minutes).

Key words: escitalopram; liquid chromatography-mass spectrometry; chromatography; mass spectrometry; pharmacokinetics; bioanalytical technique.

Введение. Лекарственное средство с международным непатентованным наименованием (МНН) эсциталопрам (ЭЦП) является одним из самых назначаемых антидепрессантов (АД) [1, 2, 3]. В диапазоне дозировок 10 – 20 мг/сут хорошо переносится, однако, у 40% пациентов наблюдаются нежелательные реакции (НР) в виде сексуальной дисфункции и тошноты, что в свою очередь может служить причиной отказа пациентов от проводимого лечения [4].

Вопросы фармакокинетики эсциталопрама, как одного из представителей АД, являются насущными для лечения пациентов токсикологического профиля, т.к. проблема интоксикаций препаратами данной группы является довольно актуальной. Отравления ЭЦП, в совокупности с другими психотропными препаратами (группа Т43 по МКБ-10) занимают третье место в структуре острых отравлений после интоксикаций алкоголем (Т51) и отравлений противосудорожными, седативными и противопаркинсоническими средствами (Т42) [5].

Кроме психиатрии и клинической токсикологии вопросы количественного определения ЭЦП в биологических средах могут вызывать интерес со стороны представителей судебной медицины в аспектах судебно-медицинской (судебно-химической) экспертизы. В частности, эсциталопрам может относиться к веществам, данные о наличии и концентрации которых в крови могут запрашиваться следственными органами в зависимости от клинических проявлений отравления, результатов судебно-медицинского вскрытия, гистологического исследования и т.д. [6].

Фармакокинетика ЭЦП имеет ряд особенностей. Препарат быстро всасывается после перорального приема [7]. Биодоступность составляет около 80% [8]. Несмотря на то, что максимальная концентрация препарата (С_{max}) в плазме крови в среднем достигается через 3–4 часа после однократного приема внутрь, у пациентов молодого возраста (12–17 лет) она может увеличиваться на 26% [9, 10]. Стабильная концентрация ЭЦП в крови регистрируется через 7–10 дней после начала приема. Фактор накопления для ЭЦП находится в диапазоне от 2,3 до 2,6. Максимальная концентрация в ПК при постоянном приеме оказывается выше [11]. Метаболизм ЭЦП осуществляется в печени [12]. На первом этапе происходит его N-деметилирование с образованием S-деметилциталопрама (катализируется CYP3A4, CYP2C19 и, в меньшей степени, CYP2D6 [13]). Следующий этап – это деметилирование S-деметилциталопрама в S-дидиметилциталопрам (катализируется CYP2D6), затем происходит дезаминирование и дегидрирование до производного пропионовой кислоты, а также конъюгация с глюкуроновой кислотой [14].

Кроме метаболических процессов в печени, в доступной литературе описывается предположительный путь метаболизма ЭЦП в тканях головного мозга - процесс образования

пропионата-ЭЦП, который состоит из двух этапов: дезаминирование, опосредованное моноаминоксидазой (MAO-A и MAO-B), и последующее окисление альдегидоксидазой (АО) [15].

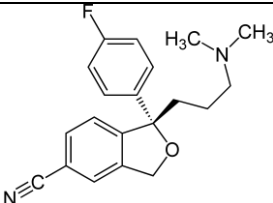
Следует отметить, что фармакокинетические параметры ЭЦП имеют зависимость от индивидуальных особенностей пациентов. Так, если в среднем период полувыведения препарата варьирует от 27 до 32 часов, то у пожилых пациентов отмечается увеличение периода полувыведения в 1,5 раза, при не изменяющемся параметре C_{max} [16]. Тенденция к увеличению периода полувыведения препарата в два раза наблюдается и у больных с нарушением функций печени, а значения клиренса снижается более чем на 35 % по сравнению с таковыми показателями у лиц со здоровой печенью [17].

Указанные выше особенности фармакокинетики ЭЦП подчеркивают актуальность наличия доступных методик определения концентрации препарата в биологических средах в интересах клинической медицины и научно-исследовательских целях.

В настоящее время существуют методики количественного определения ЭЦП в плазме крови человека (таблица 1), однако их выполнение отличается определенной длительностью, поэтому в настоящей публикации предлагается к рассмотрению метод, осуществление которого позволяет сократить и оптимизировать временные параметры.

Таблица 1.

Краткая характеристика биоаналитических методик определения эсциталопрама в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) [18, 19]

МНН	Эсциталопрам	
Рациональное название (ИЮПАК)	(1S)-1-[3-(диметиламино)пропил]-1-(4-фторфенил)-3H-2-бензофуран-5-карбонитрил	
CAS Number	128196-01-0	
Структурная Формула		
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС	ВЭЖХ-МС/МС
MRM-переход	325.1→109.0	325.1→109.10
Объект анализа/антикоагулянт	Плазма крови человека	Плазма крови человека
Пробоподготовка	ЖЖЭ	Преципитация белка

		ацетонитрилом
Аналитический диапазон, нг/мл	0.303-120.071 нг/мл	5.9-441.8 нг/мл

Цель исследования: разработка и валидация методики быстрого количественного определения эсциталопрама в плазме крови человека в целях клинической медицины и научно-исследовательской деятельности.

Материалы и методы. Оборудование. Хроматографическое разделение проводили с использованием системы ВЭЖХ-МС/МС, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity II с тандемным масс-селективным детектором G6470B (тройной квадруполь, Agilent Technologies, США) с программным обеспечением MassHunter (Ver. 10.1). Реактивы и растворы. В ходе исследования были использованы следующие реактивы: ацетонитрил (LC-MS grade, Merck, Германия); метанол (HPLC-grade, Химмед, Россия); кислота муравьиная (Химмед, Россия). Для приготовления исходных и рабочих растворов были использованы стандартные образцы эсциталопрама оксалата (CAS 128196-01-0, Synergene Active Ingredience Pvt. Ltd, Индия) и пароксетина гидрохлорида (CAS 61869-08-7, TRC Canada, Канада), который был выбран в качестве внутреннего стандарта (ВС). Исходные стандартные растворы аналита и ВС готовили путем растворения навесок веществ в метаноле. Рабочие растворы определяемого вещества и внутреннего стандарта готовили путем разбавления соответствующих исходных растворов метанолом. Объекты исследования. В качестве объектов исследования выступали образцы плазмы крови, полученные от здоровых добровольцев в рамках проведения клинического исследования, принимавших препараты эсциталопрама однократно в дозировке 20 мг. В качестве антикоагулянта при заборе биоматериала выступал К₃ЭДТА. Пробоподготовка. В качестве метода пробоподготовки была выбрана преципитация белка органическим растворителем. В качестве осадителя был использован 0.2% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. К 200 мкл исследуемой плазмы добавляли 20 мкл рабочего раствора внутреннего стандарта, перемешивали на вихревом шейкере, затем добавляли 400 мкл 0.2% раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле. Содержимое пробирок тщательно перемешивали на вихревом шейкере, затем центрифугировали со скоростью 10000 об/мин. Супернатант отбирали в хроматографические вials и анализировали.

Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования. Для количественного определения эсциталопрама в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС были экспериментально подобраны условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования.

Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Zorbax Eclipse Plus C18 100 x 4.6 мм, 3.5 мкм (Agilent Technologies, США). Температура термостата составила 40 °С. Хроматографический анализ проводили в изократическом режиме, в качестве водной фазы использовался 0.1%-ный раствор муравьиной кислоты в воде, в качестве органической фазы – ацетонитрил. Скорость потока элюента – 0,4 мл/мин.

Масс-спектрометрическое детектирование проводили в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) при положительной ионизации электрораспылением (ESI). В качестве распыляющего и осушающего газа использовался азот со скоростью 11 л/мин, температура осушающего газа 300°C, напряжение на капилляре 4000 В.

Общее время анализа составило 4 минуты. Время удерживания эсциталопрама – около 2,95 мин, пароксетина – около 3,50 мин.

Результаты. Валидация методики. Валидацию биоаналитической методики проводили на основе правил Евразийского экономического союза [20], а также руководств FDA [21] и EMA [22].

Валидация включала следующие характеристики:

- селективность;
- влияние (эффект) переноса;
- нижний предел количественного определения;
- функция отклика и аналитический диапазон (воспроизводимость параметров градуировочной кривой);
- правильность;
- прецизионность;
- влияние разбавления образцов;
- влияние матрицы (эффект матрицы);
- стабильность анализируемых веществ в биологических образцах и стабильность анализируемого вещества и ВС при хранении, в рабочих растворах, в извлечениях в течение всего периода хранения и пробоподготовки

Селективность. Для оценки селективности методики были проанализированы пробы интактной плазмы крови, не содержащей аналит, из двадцати различных источников. Результаты контроля признаны удовлетворительными, так как на масс-хроматограммах отсутствовали пики аналита и внутреннего стандарта с отношением сигнал: шум, превышающим 3:1.

Характеристики хроматограмм, представленные на рисунках 1 и 2, показывают, что компоненты плазмы не накладываются на пик эсциталопрама (площадь компонентов матрицы не превышает 20 % от площади аналитов на нижнем пределе количественного

определения), а в случае ВС – 5% от площади пика, что свидетельствует о селективности методики.

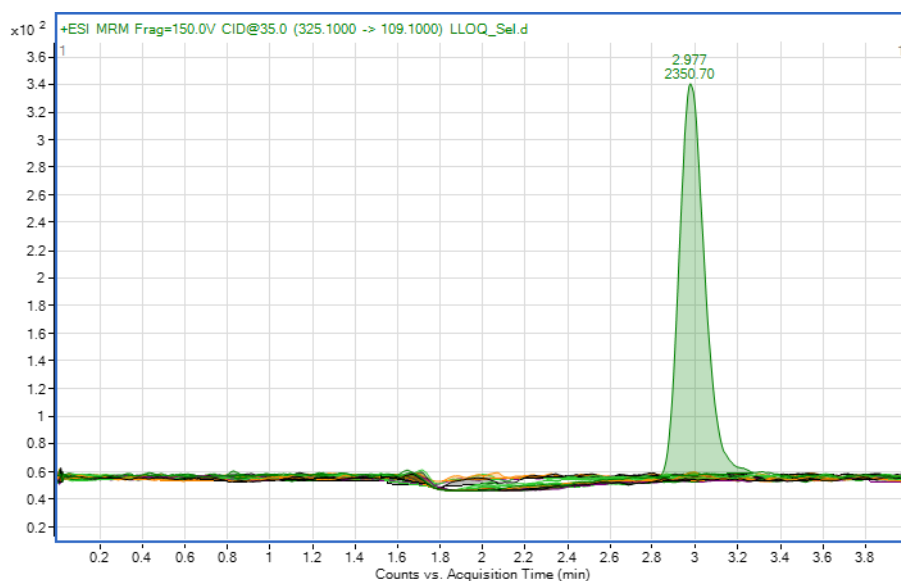


Рисунок 1 – Сопоставление хроматограмм при контроле селективности: зеленая линия - интактная плазма с добавлением рабочего раствора эсциталопрама в концентрации, соответствующей нижнему пределу количественного определения (0.5 нг/мл); другие линии - интактная плазма.

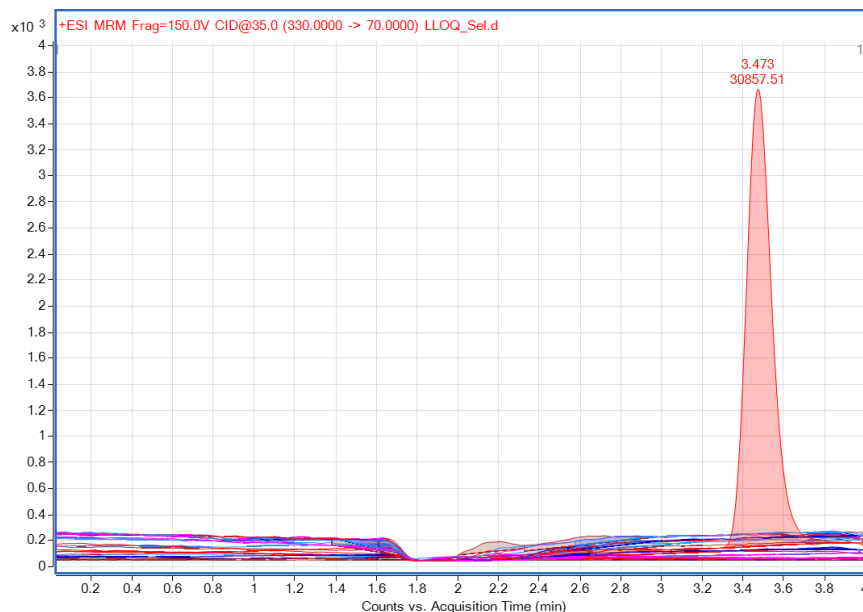


Рисунок 2 – Сопоставление хроматограмм при контроле селективности: - красная линия - интактная плазма с добавлением внутреннего стандарта пароксетина; - другие линии - интактная плазма

Линейность. Были проанализированы стандартные образцы на 8 уровнях концентраций эсциталопрама: 0.5 нг/мл, 1.0 нг/мл, 2.5 нг/мл, 5.0 нг/мл, 10.0 нг/мл, 25.0 нг/мл, 50.0 нг/мл, 100.0 нг/мл. На основании полученных значений был построен калибровочный

график (рисунок 3) в координатах отношение площади пика аналита к площади пика внутреннего стандарта от отношения концентрации аналита к концентрации ВС в плазме крови.

Тип калибровочной зависимости и весовой коэффициент определялся наименьшим значением стандартного отклонения и наименьшим количеством отброшенных точек с наибольшим коэффициентом корреляции. Таким образом, тип калибровочной зависимости – линейная без пересечения с началом координат, весовой коэффициент – $1/x$.

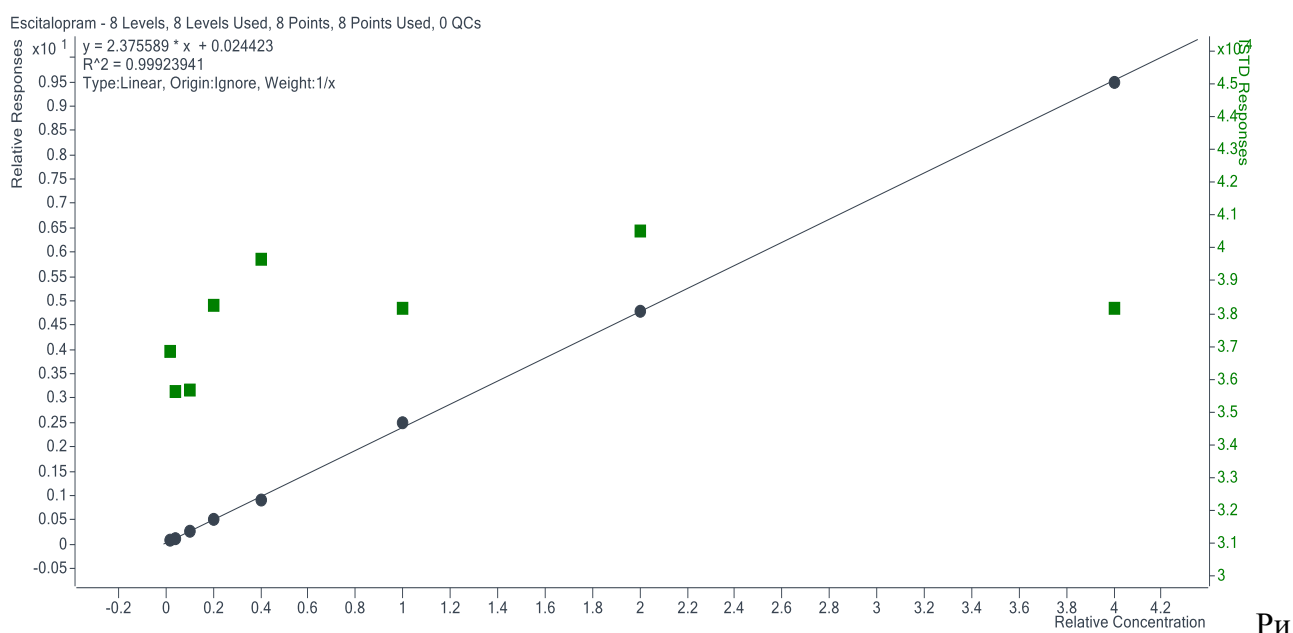


Рисунок 3 – Калибровочная зависимость для эсциталопрама в диапазоне от 0.5 до 100 нг/мл

Эффект переноса. Для оценки эффекта переноса методики анализировали образец интактной плазмы сразу после калибровочного образца на верхнем концентрационном уровне. В результате чего было показано отсутствие каких-либо хроматографических пиков, соответствующих по времени удерживания эсциталопраму или пароксетину.

Эффект матрицы. С целью изучения влияния компонентов матрицы на результаты количественного определения эсциталопрама была проведена оценка таких параметров, как эффект матрицы, нормализованный эффект матрицы и степень извлечения аналита и внутреннего стандарта.

Эффект матрицы оценивался как отношение аналитического сигнала определяемого соединения в образце экстракта биологической матрицы к отклику в чистом растворителе.

Нормализованный эффект матрицы (НЭМ) оценивался как отношение аналитического сигнала определяемого соединения в образце экстракта биологической матрицы,

нормализованному по внутреннему стандарту, к отклику аналита в чистом растворителе, нормализованному по внутреннему стандарту.

Степень извлечения оценивали как отношение площади пика аналита, полученной после анализе образца с внесенным эсциталопрама до пробоподготовки, к площади пика определяемого вещества, добавленного в экстракт (после пробоподготовки).

Все вышеуказанные показатели были оценены на двух уровнях концентраций аналита – 1,5 нг/мл и 75 нг/мл.

Полученные результаты оценки матричного эффекта и нормализованного матричного эффекта были приемлемы, поскольку относительное стандартное отклонение составило $RSD \leq 15\%$.

Степень извлечения эсциталопрама из плазмы крови составила 76%, а пароксетина, используемого в качестве внутреннего стандарта - 80%.

Прецизионность и правильность методики. Прецизионность и правильность определения оценивали внутри одной аналитической серии ($n=5$) и между сериями в 3 разных дня ($n=15$). Пробы плазмы крови с массовыми концентрациями эсциталопрама на четырех уровнях концентраций, соответствующим нижнему пределу количественного определения (LLOQ), нижнему (QCL), среднему (QCM) и верхнему (QCH) диапазонам измерения готовили на основе интактной плазмы.

Полученные данные подвергали предварительной обработке с целью обнаружения среди результатов выбросов. Проверки однородности средних значений с использованием критерия Граббса и однородности дисперсий данных с использованием критерия Кохрена показала отсутствие выбросов.

Результаты оценки прецизионности и правильности в рамках одной серии приведены в таблице 1, между сериями – в таблице 2.

Таблица 2.

**Прецизионность и правильность методики в рамках одной аналитической серии
для эсциталопрама**

Номинальная концентрация, нг/мл	LLOQ	QCL	QCM	QCH
	0.5	1.5	50	75
Среднее значение найденной концентрации ($n=5$)	0.52	1.56	51.61	74.49
SD ($n=5$)	0.033	0.122	1.400	1.890
RSD, % ($n=5$)	6.3	7.8	2.7	2.5
E, %	104.0	104.0	103.2	99.3

Прецизионность и правильность методики между сериями для эсциталопрама

Номинальная концентрация, нг/мл	LLOQ	QCL	QCM	QCH
	0.5	1.5	50	75
Среднее значение найденной концентрации (n=15)	0.51	1.54	51.09	73.58
SD (n=15)	0.051	0.12	1.49	2.07
RSD, % (n=15)	10.2	7.6	2.9	2.8
E, %	100.9	102.5	102.2	98.1

Результаты исследования правильности и прецизионности методики были признаны приемлемыми, поскольку обратный пересчет концентрации образцов контроля качества лежит в пределах $\pm 15\%$ от номинального значения за исключением LLOQ, для которых он в пределах $\pm 20\%$, а относительное стандартное отклонение $RSD \leq 15\%$ (в случае LLOQ - $RSD \leq 20\%$).

Стабильность. Оценка стабильности аналита и внутренних стандартов была проведена в составе исходных и рабочих растворов, а так же в плазме крови человека при различных условиях, имитирующих все стадии обращения образцов: при комнатной температуре, краткосрочная и долгосрочная температурная стабильность замороженных биообразцов и растворов аналита, постпрепаративная стабильность, после прохождения 3 циклов заморозки-разморозки.

Результаты определения стабильности аналита в различных условиях был приемлемым, поскольку модуль разницы составил $\leq 15\%$.

Заключение. В рамках проведенного исследования была разработана и валидирована методика количественного определения эсциталопрама в плазме крови. Аналитический диапазон методики составляет 0.5 – 100.0 нг/мл. Отличительной особенностью представленного подхода является простота исполнения и скорость выполнения аналитического исследования (суммарная длительность пробоподготовки и анализа одного образца не превышает 20 минут), что имеет крайне важное значение как в решении задач клинической медицины (в т.ч. лекарственного мониторинга, а также диагностики и лечения острых отравлений эсциталопрамом), так и рутинной биоаналитики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинические рекомендации. «Депрессивный эпизод, Рекуррентное депрессивное расстройство» 2021 *Российское Общество Психиатров*
2. Keller M.B. Citalopram therapy for depression: a review of 10 years of European experience and data from US clinical trials. *Journal of Clin. Psychiatry*. 2000; 61:896-908. PMID: 11206593
3. Grover S., Avasth A., Kalita K. et al. IPS multicentric study: Antidepressant prescription patterns. *Indian journal of psychiatry*. 2013;55(1), 41.doi: 10.4103/0019-5545.105503
4. Stahl S.M., Gergel I., Li D. Escitalopram in the treatment of panic disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clin Psychiatry*. 2003; 64 (11): 1322-7. doi: 10.4088/jcp.v64n1107
5. Клинические рекомендации «Отравление психотропными средствами, не классифицированное в других рубриках (Т43)», 2020
6. Илларионова Е.А. Судебно-химическое отделение Бюро судебно-медицинской экспертизы: учебное пособие. *ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра фармацевтической и токсикологической химии. – Иркутск: ИГМУ, 2020.*
7. Drewes P., Tjijssen I., Mengel H., Larsen F. A single dose cross-over pharmacokinetic study comparing racemic citalopram (40 mg) with the S-enantiomer of citalopram (escitalopram, 20 mg) in healthy male subjects. *41st Annual Meeting of the New Clinical Drug Evaluation Unit, Phoenix, AZ, USA (28-31 May 2001).*
8. Joffe P., Larsen F.S., Pedersen V. et al. Single dose pharmacokinetics of citalopram in patients with moderate renal insufficiency or hepatic cirrhosis compared with healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 1998; 54 (3): 237-42.doi:10.1007/s002280050452
9. Клиническая психофармакогенетика под ред. Р.Ф. Насыровой, Н.Г. Незнанова. *СПб: Издательство ДЕАН, 2019.*
10. Sogaard B., Mengel H., Rao N. et al. The pharmacokinetics of escitalopram after oral and intravenous administration of single and multiple doses to healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2005; 45 (12): 1400-6.doi: 10.1177/0091270005280860
11. Klein N., Sacher J., Geiss-Granadia T., et al. Higher serotonin transporter occupancy after multiple dose administration of escitalopram compared to citalopram: an [123I] ADAM SPECT study. *Psychopharmacology (Berl)* 2007;191(2):333-9. doi:10.1007/s00213-006-0666-y
12. Waugh J., Goa K.L. Escitalopram: a review of its use in the management of major depressive and anxiety disorders. *CNS Drugs*. 2003;17(5):343–362. doi: 10.2165/00023210-200317050-00004

13. Von Moltke L.L., Greenblatt D.J., Giancarlo G.M. et al. Escitalopram (S-citalopram) and its metabolites in vitro: cytochromes mediating biotransformation, inhibitory effects, and comparison to R-citalopram. *Drug Metab Dispos.* 2001;29(8):1102-9. PMID: 11454728
14. Sidhu J., Priskorn M., Poulsen M. et al. Steady state pharmacokinetics of the enantiomers of citalopram and its metabolites in humans. *Chirality* 1997; 9(7): 686- 92. doi:10.1002/(SICI)1520-636X(1997)9:73.0.CO;2-5
15. Rochat B., Kosel M., Boss G. et al. Stereoselective biotransformation of the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram and its demethylated metabolites by monoamine oxidases in human liver. *Biochemical Pharmacology.* 1998; 56 (1): 15-23.doi:10.1016/s0006-2952(98)00008-2
16. Gutierrez M., Mengel H. Pharmacokinetics of escitalopram. *42nd Annual New Clinical Drug Evaluation Unit (NCDEU) Meeting, Boca Raton, FL, USA* (10-13 June 2002).
17. Spigset O., Haegg S., Stegmayr B. et al. Citalopram pharmacokinetics in patients with chronic renal failure and the effect of haemodialysis. *Eur J Clin Pharmacology.* 2000;56(9-10):699-703.doi:10.1007/s002280000205
18. Kaushik KH, Vijay Kumar S, Nagulu M. Narasimha Pharmacokinetics and Bioavailability Comparison of two oral Tablet Formulations of Escitalopram 20 mg: A Single-Dose, Open-Label, Two-Period Crossover Study in Healthy Indian Adult Subjects. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2014, 10(1):69-82. DOI 10.1321/bcpt.13132.
19. Canbolat, Fadime; Erinc, Dilek Meltem Tasdemir; Evrensel, Alper; Aydın, Ahmet; Tarhan, Kaşif Nevzat/ Quantitation of escitalopram and its metabolites by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) in psychiatric patients: New metabolic ratio establishmet. *Basic&Clinical Pharmacology&Toxicology.* 2018, 26(4):491-6. DOI 10.1111/bcpt.13133.
20. ПРИЛОЖЕНИЕ № 6 к Правилам проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (утверждены решением №85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.).
21. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2018.
22. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London, 2011.

References

1. Klinicheskie rekomendacii "Depressive episode, Recurrent depressive disorder." 2021 Rossijskoe Obshhestvo Psihiatrov. (In Russian)
2. Keller M.B. Citalopram therapy for depression: a review of 10 years of European experience and data from US clinical trials// Journal of Clin. Psychiatry. 2000; 61:896-908. PMID: 11206593
3. Grover S., Avasth A., Kalita K., Dalal P.K., Rao G.P., Chadda R.K., et al. IPS multicentric study: Antidepressant prescription patterns //Indian journal of psychiatry. 2013;55(1), 41.doi: 10.4103/0019-5545.105503
4. Stahl S.M., Gergel I., Li D. Escitalopram in the treatment of panic disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial // Journal of Clin Psychiatry. 2003; 64 (11): 1322-7. doi: 10.4088/jcp.v64n1107
5. Klinicheskie rekomendacii «Otravlenie psihotropnymi sredstvami, ne klassificirovannoe v drugih rubrikah (T43)», 2020 (In Russian)
6. Illarionova, E.A. Sudebno-himicheskoe otdelenie Bjuro sudebno-medicinskoj jekspertizy: uchebnoe posobie / E.A. Illarionova, I.P. Syrovatskij; FGBOU VO IGMU Minzdrava Rossii, Kafedra farmacevticheskoi i toksikologicheskoi himii. – Irkutsk : IGMU, 2020. (In Russian)
7. Drewes P., Tjijssen I., Mengel H., Larsen F. A single dose cross-over pharmacokinetic study comparing racemic citalopram (40 mg) with the S-enantiomer of citalopram (escitalopram, 20 mg) in healthy male subjects. 41st Annual Meeting of the New Clinical Drug Evaluation Unit, Phoenix, AZ, USA (28-31 May 2001).
8. Joffe P., Larsen F.S., Pedersen V., et al. Single dose pharmacokinetics of citalopram in patients with moderate renal insufficiency or hepatic cirrhosis compared with healthy subjects //Eur J ClinPharmacol 1998; 54 (3): 237-42.doi:10.1007/s002280050452
9. Klinicheskaja psihofarmakogenetika pod red. R.F. Nasyrov, N.G. Neznanova.-SPb: Izdatel'stvo DEAN, 2019. (In Russian)
10. Sogaard B., Mengel H., Rao N., et al. The pharmacokinetics of escitalopram after oral and intravenous administration of single and multiple doses to healthy subjects //J ClinPharmacol 2005; 45 (12): 1400-6.doi: 10.1177/0091270005280860
11. Klein N., Sacher J., Geiss-Granadia T., et al. Higher serotonin transporter occupancy after multiple dose administration of escitalopram compared to citalopram: an [123I]ADAM SPECT study // Psychopharmacology (Berl) 2007;191(2):333-9. doi:10.1007/s00213-006-0666-y

12. Waugh J., Goa K.L. Escitalopram: a review of its use in the management of major depressive and anxiety disorders // *CNS Drugs*. 2003;17(5):343–362. doi: 10.2165/00023210-200317050-00004
13. Von Moltke L.L., Greenblatt D.J., Giancarlo G.M., et al. Escitalopram (S-citalopram) and its metabolites in vitro: cytochromes mediating biotransformation, inhibitory effects, and comparison to R-citalopram // *Drug Metab Dispos*. 2001;29(8):1102-9. PMID: 11454728
14. Sidhu J., Priskorn M., Poulsen M., et al. Steady state pharmacokinetics of the enantiomers of citalopram and its metabolites in humans // *Chirality* 1997; 9(7): 686- 92. doi:10.1002/(SICI)1520-636X(1997)9:73.0.CO;2-5
15. Rochat B., Kosel M., Boss G., et al. Stereoselective biotransformation of the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram and its demethylated metabolites by monoamine oxidases in human liver // *Biochemical Pharmacology*. 1998; 56 (1): 15-23.doi:10.1016/s0006-2952(98)00008-2
16. Gutierrez M., Mengel H. Pharmacokinetics of escitalopram. 42nd Annual New Clinical Drug Evaluation Unit (NCDEU) Meeting, Boca Raton, FL, USA (10-13 June 2002).
17. Spigset O., Haegg S., Stegmayr B., et al. Citalopram pharmacokinetics in patients with chronic renal failure and the effect of haemodialysis // *Eur J Clin Pharmacology*. 2000;56(9-10):699-703.doi:10.1007/s002280000205
18. Kaushik KH, Vijay Kumar S, Nagulu M, Narasimha Reddy/ Pharmacokinetics and Bioavailability Comparison of two oral Tablet Formulations of Escitalopram 20 mg: A Single-Dose, Open-Label, Two-Period Crossover Study in Healthy Indian Adult Subjects// *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014, 10(1):69-82. DOI 10.1321/bcpt.13132.
19. Canbolat, Fadime; Erinc, Dilek Meltem Tasdemir; Evrensel, Alper; Aydın, Ahmet; Tarhan, Kaşif Nevzat/ Quantitation of escitalopram and its metabolites by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) in psychiatric patients: New metabolic ratio establishmet//*Basic&Clinical Pharmacology&Toxicology*. April 2018, 26(4):491-6. DOI 10.1111/bcpt.13133.
20. PRILOZhENIE № 6 k Pravilam provedeniya issledovaniy biojektivnoy lekarstvennykh preparatov v ramkah Evrazijskogo jekonomicheskogo sojuza (utverzhdeny resheniem №85 Soveta Evrazijskoj jekonomicheskoy komissii ot 03.11.2016 g.). (In Russian)
21. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2018.
22. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London, 2011.