

Разработка биоаналитической методики анализа дулоксетина в биологических жидкостях лабораторных животных

Ремезова И. П.¹

д. фарм. н., профессор, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева Института фармации им. А.П. Нелюбина;
ORCID: 0000-0003-3456-8553; SPIN: 9014-5728

Поздняков Д. И.²

д. фарм. н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии;
ORCID: 0000-0002-5595-8182; SPIN: 6764-0279

Дурнова Н. А.¹

д. б. н., доцент, профессор кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина;
ORCID: 0000-0003-4628-9519; SPIN: 3348-2957

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

Автор для корреспонденции: Ремезова Ирина Петровна, e-mail: remezova_i_p@staff.sechenov.ru

Финансирование: Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 30.04.2026

Принята к печати: 15.08.2026

Аннотация

Введение. Актуальность исследования обусловлена необходимостью совершенствования методов количественного определения дулоксетина — одного из современных антидепрессантов — в биологических объектах для оптимизации терапевтического мониторинга и токсикологической диагностики. Мониторинг концентраций лекарственных средств в организме пациента необходим в связи с индивидуальными особенностями метаболизма, риском побочных эффектов и возможностью передозировки. **Цель.** Разработка и валидация биоаналитической методики количественного определения дулоксетина в биологических жидкостях лабораторных животных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). **Материалы и методы.** Объектом исследования служил препарат «Дулоксетин Канон»; в качестве стандартного образца использовали субстанцию Duloxetine Hydrochloride (Supelco). Эксперименты выполнены на 30 крысах линии Wistar с внутрижелудочным введением препарата в дозе 300 мг/кг; анализировали сыворотку крови и мочу. Разработана процедура пробоподготовки с использованием жидкостной экстракции; оптимизированы хроматографические условия (подвижная фаза ацетонитрил–фосфатный буфер, детектирование при 231 нм). Валидация проведена по параметрам: селективность, линейность, предел количественного определения, правильность, прецизионность, стабильность, матричный эффект. **Результаты.** Методика характеризуется пределом количественного определения 6 мкг/мл, линейным диапазоном 6–160 мкг/мл, относительной погрешностью не более $\pm 1,57\%$. Разработанный подход позволяет эффективно определять дулоксетин в сыворотке крови и моче через 30, 60 и 180 мин после введения, что расширяет возможности токсикологического мониторинга. При химико-токсикологическом анализе токсической дозы дулоксетина целесообразно исследовать обе биологические жидкости.

Заключение. Созданный инструмент может быть использован для мониторинга терапевтических концентраций и диагностики отравлений, что способствует повышению безопасности применения дулоксетина в клинической практике. Методика пригодна как для диагностических целей, так и для научных исследований в области фармакокинетики антидепрессантов.

Ключевые слова: дулоксетин, биоаналитическая методика, высокоэффективная жидкостная хроматография, лабораторные животные, валидация методики

doi: 10.29234/2308-9113-2026-14-3-58-71

Для цитирования: Ремезова И. П., Поздняков Д. И., Дурнова Н. А. Разработка биоаналитической методики анализа дулоксетина в биологических жидкостях лабораторных животных. *Медицина* 2026; 14(3): 58-71. doi: 10.29234/2308-9113-2026-14-3-58-71

Введение

В современной медицинской практике антидепрессанты занимают важное место в терапии депрессивных расстройств [1]. Дулоксетин представляет собой современный антидепрессант, относящийся к группе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и норадреналина [2, 3]. В отличие от классических представителей этой группы, препарат обладает уникальным механизмом действия, оказывая влияние не только на серотонин и норадреналин, но и умеренно воздействуя на захват дофамина [1, 4, 5].

Актуальность исследования обусловлена растущей потребностью в совершенствовании методов контроля применения антидепрессантов [6, 7]. Необходимость мониторинга концентраций лекарственных средств в организме пациента связана с индивидуальными особенностями метаболизма, риском развития побочных эффектов и возможностью передозировки [1, 8-12]. Фармакокинетика дулоксетина характеризуется значительной межиндивидуальной вариабельностью, обусловленной полиморфизмом изоферментов цитохрома P450 (CYP2D6 и CYP1A2), что требует персонализированного подхода при назначении препарата [6]. Метаболиты дулоксетина, образующиеся в печени, частично выводятся с мочой и желчью, что необходимо учитывать при разработке методов анализа в различных биологических средах [6, 11].

Существующие методики анализа дулоксетина, включая ВЭЖХ с УФ-детектированием [13, 15] и tandemную масс-спектрометрию [14], требуют оптимизации для повышения точности и воспроизводимости результатов. Особое внимание уделяется надёжности определения в клинических и токсикологических лабораториях, где основным методом остаётся ВЭЖХ с УФ-детекцией, доступная большинству учреждений. Разработка современной биоаналитической методики позволит оценить распределение препарата в организме, определить оптимальные режимы дозирования, исследовать процессы метаболизма, выявить возможные токсические концентрации, а также повысить качество химико-токсикологического анализа при подозрении на отравление.

Цель исследования

Цель исследования – разработка и валидация биоаналитической методики количественного определения дулоксетина в биологических жидкостях лабораторных животных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы

Объектом исследования явился лекарственный препарат «Дулоксетин Канон» ((γ S)-N-Метил- γ -(1-нафтилокси)-2-тиофенпропанамин (в виде гидрохлорида)). По внешнему виду представляет собой непрозрачные, сине/белые, твердые желатиновые капсулы с нанесенными на них белыми чернилами дозировкой «30 mg» и идентификационным кодом «9542». Содержимое капсул представляло собой пеллеты от белого до серовато-белого цвета. Производитель ЗАО «Канонфарма продакшн», Россия, Московская область, г. Щелково.

В качестве СО использовалась субстанция Duloxetine Hydrochloride производства Supelco каталожный номер PHR1865.

Взвешивание образцов для анализа проводилось на весах электронных лабораторных ЛВ 210-А, ЗАО «Сартогосм», г. Санкт-Петербург, Россия. Измерение уровня pH растворов производился с использованием pH-метра pH-150 МИ, ООО «Измерительная техника», г. Москва, Россия. Экстракции проводили с использованием перемешивающего устройства ЛАБ-ПУ-01 (Россия).

В исследовании использовали следующие растворители: воду очищенную, ацетонитрил, 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, спирт этиловый 95%, хлороформ, этилацетат, которые соответствовали требованиям ГФ XV ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы».

Вспомогательные материалы и лабораторное оборудование: колбы мерные вместимостью 50, 100 мл; чашки выпарительные вместимостью 50 мл; пробирки пластиковые вместимостью 10 мл; дозатор пипеточный «Thermo Scientific» серии Лайт одноканальный переменного объема.

Метод ВЭЖХ

Анализ проводили с использованием системы UltiMate 3000 со спектрофотометрическим детектором с рабочим диапазоном длин волн в области от 190 до 900 нм («Dionex», США). Сбор и обработка данных проводилась с использованием системы сбора и обработки хроматографических данных Chromeleon, версия 7, «Dionex», США.

При анализе методом ВЭЖХ все испытуемые растворы перед помещением в прибор фильтровались через NylonMembrane, 0,2 μ m 25 mm Syringe Filters, Phenomenex, США.

Центрифугирование проб перед проведением ВЭЖХ анализа проводилось на центрифуге лабораторной SIGMA 2-16P, «Сигма Лаборцентрифуген ГмбХ», Германия.

Для построения калибровочного графика около 0,0600 г (точная навеска) СО дулоксетина гидрохлорида растворяли в 10 мл 96% спирта этилового и взбалтывали. Полученную суспензию переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, встряхивали в течение 30 минут и доводили до метки. Раствор центрифугировали. 1; 2,5; 5; 7,5; 10 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили тем же растворителем до метки. Полученные растворы хроматографировали.

Дизайн исследования

Для проведения исследования использовали 30 аутбредных крыс-самцов линии Wistar массой 220-240 г., полученных в учебном виварии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Животных содержали в условиях лабораторного вивария. Эксперимент проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Лабораторные животные были разделены на 2 группы: интактные (5 шт.) и опытные (25 шт.), получавшие суспензию препарата в дозе 300 мг/кг [16], которую вводили внутрижелудочным способом с помощью атравматичного зонда.

Затем лабораторным животным была сделана внутрибрюшинно анестезия хлоралгидратом из расчета 350 мг/кг. Кровь отбирали в пробирки из бедренной артерии во временных точках: 30, 60, 180 мин [17].

При анализе крови все отобранные пробы сразу центрифугировались в течение 15 мин при 2000 мин⁻¹. Далее отбирали по 100 мкл полученной от каждого животного сыворотки, добавляли раствор аммиака 25% до pH=10 и 9000 мкл ацетонитрила. Смесь встряхивали на Vortex в течение 3 мин при 5000 мин⁻¹. Верхний слой в объеме 900 мкл отделяли, выпаривали в токе теплого воздуха, остаток растворяли в 5 мл ацетонитрила и исследовали.

Для исследования дулоксетина в моче от каждого животного собиралась вся моча, выделившаяся за интервал сбора – 0-0,2, 0-1, 0-3 часа. Далее отбирали по 250 мкл полученной от каждого животного мочи (в каждый интервал), добавляли раствор аммиака 25% до pH=10 и 3 мл хлороформа. Содержимое взбалтывали в течение 5 минут и помещали в делительную воронку. После разделения фаз отделяли слой органического растворителя. Растворитель удаляли при комнатной температуре. Сухие остатки, полученные после испарения экстрагента, растворяли в 0,75 мл ацетонитрила.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2016. В работе использовались основные статистические методы: расчет средних значений, определение стандартного отклонения, вычисление 95% доверительных интервалов (ДИ), коэффициента вариации (CV). В качестве критериев оценки использовалась значимость различий ($p < 0,05$) и статистическая достоверность результатов.

Результаты

При разработке методики анализа нами предложены следующие условия хроматографирования: колонка Phenomenex Luna C₁₈ с зернением сорбента 5 мкм (США), размер 150*4,6 мм; подвижная фаза: ацетонитрил: 0,01 М дигидроортофосфат калия (рН = 3,0-3,2) (40:60); температура термостата колонки 25°C; температура образца 25°C; объем пробы 20 мкл; скорость потока 1,0 мл/мин, длина волны 231 нм.

Предварительно нами была проверена пригодность хроматографической системы. Для этого анализировали исследуемый раствор в 5 повторностях. Параметры пригодности хроматографической системы представлены в таблице 1. Фактор асимметрии вычисляли по ширине пика на высоте 5%. Время удерживания пика дулоксетина равнялось 5,75 мин. Прецизионность хроматографической системы составила ±1,87%.

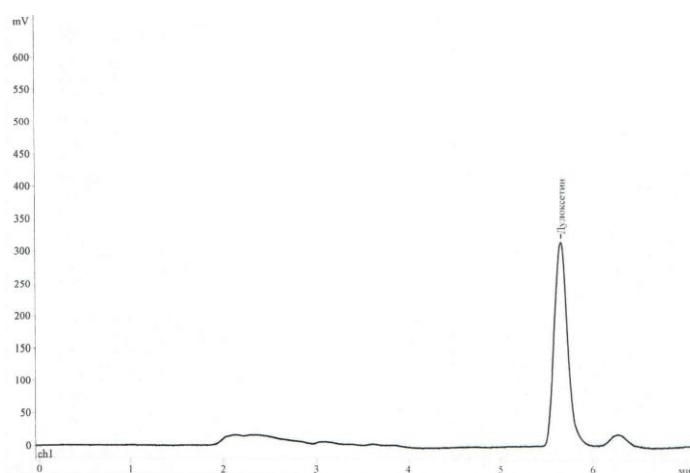
Таблица 1. Параметры пригодности хроматографической системы

№ п/п	Время удерживания пика, мин	Фактор асимметрии пика	Число теоретических тарелок
1	5,61	0,97	42438
2	5,69	0,96	35762
3	5,75	0,96	41349
4	5,81	0,98	35673
5	5,89	0,95	39871

Предложенные параметры пригодности хроматографической системы соответствуют современным требованиям [18].

Хроматограмма раствора СО дулоксетина представлена на рисунке 1.

Рисунок 1. Хроматограмма раствора СО дулоксетина гидрохлорида



На хроматограмме раствора СО был обнаружен один основной пик со временем удерживания 5,75 мин.

Валидацию методики количественного определения дулоксетина проводили по параметрам: селективность, линейность, предел количественного определения, правильность, прецизионность, стабильность, матричный эффект [19].

Для выявления селективности методики хроматографировали по 20 мкл растворителя, раствора СО дулоксетина, образца извлечений из сыворотки крови и мочи, растворов извлечений из интактных проб. Хроматографирование проводили в 6 повторностях.

Хроматограммы извлечений из сыворотки крови и мочи, содержащих дулоксетин, представлены на рисунках 2,3.

Рисунок 2. Хроматограмма извлечения из сыворотки, содержащей дулоксетин

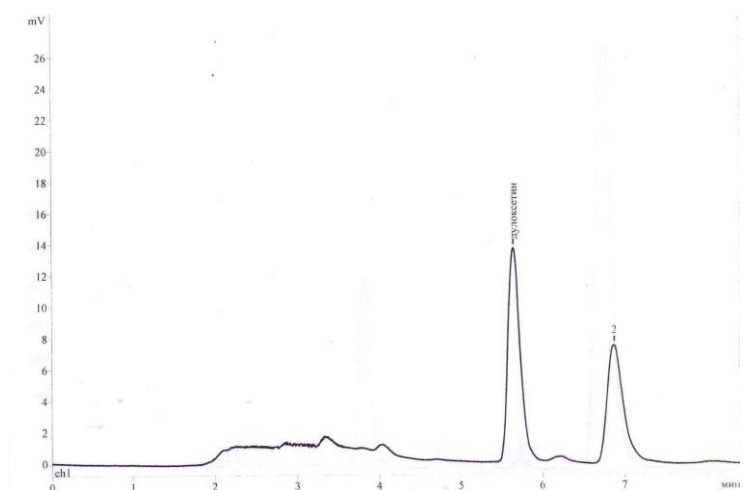
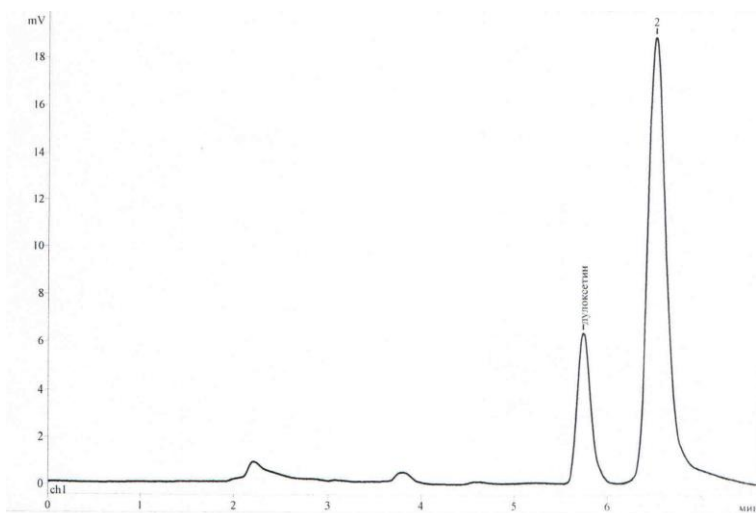


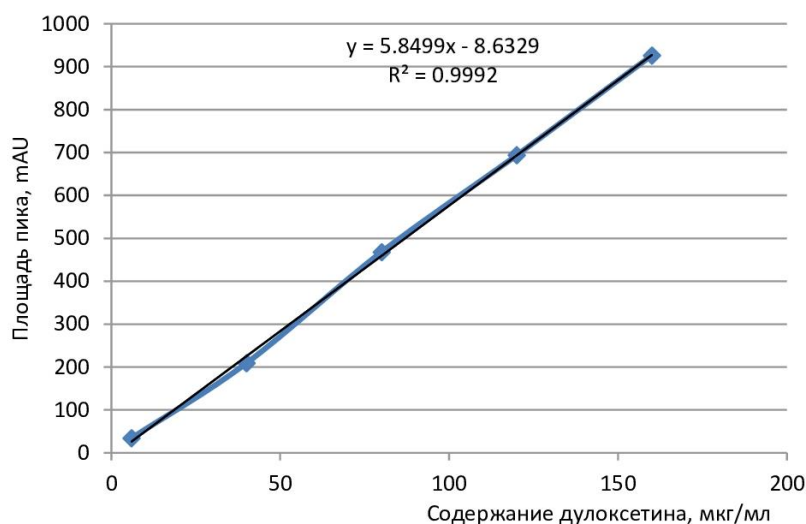
Рисунок 3. Хроматограмма извлечения из мочи, содержащей дулоксетин



Полученные данные свидетельствуют о том, что на хроматограммах содержатся пики со временем удерживания, соответствующего раствору СО дулоксетина, и пики неидентифицированных примесей. Хроматограммы растворителя, растворов извлечений из интактных проб не содержали пиков, соответствующих раствору СО дулоксетина. Таким образом, хроматографическая система способна разделять пик дулоксетина от пиков сопутствующих веществ и системных пиков.

Для подтверждения линейности методики строили градуировочный график рисунок 4.

Рисунок 4. Градуировочный график зависимости площади пика от концентрации дулоксетина



Полученные данные свидетельствуют о том, что наблюдается линейная зависимость в аналитической области концентраций дулоксетина от 6 до 160 мкг/мл. Предел количественного определения составляет 6 мкг/мл.

Правильность результатов анализа проверяли на серии модельных растворов. Для этого готовили по 3 испытуемых раствора, содержащих дулоксетин в одной концентрации на разных уровнях, но в рамках линейности методики. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты оценки правильности определения дулоксетина методом ВЭЖХ

№ п/п	Уровень	Концентрация испытуемого раствора, мкг/мл	Площадь пика, mAU	R, %	Метрологические характеристики
1	1	6	36	97,23	$\bar{R}=98,80\%$; $SD=2,17$ $RSD=\pm 1,57\%$; $\Delta x=\pm 1,55$; $\epsilon=\pm 1,57\%$ $t_{выч.}=1,56$
2			38	100,80	
3			34	96,47	
4	2	80	463	98,79	
5			474	102,24	
6			472	102,05	
7	3	160	926	97,80	
8			923	96,94	
9			920	96,85	

Полученные данные свидетельствуют о том, что значение относительной погрешности составляет $\pm 1,57\%$. Доверительный интервал составляет $\pm 1,55$. Полученное среднее значение (98,80%) не превышает границ доверительного интервала. $t_{\text{выч.}}$ составляет 1,56 и не превышает табличное значение (2,31). Относительное стандартное отклонение $\pm 1,57\%$.

Таким образом, истинное значение не выходит за границы доверительного интервала, систематическая погрешность отсутствует, среднее значение не превышает предельное значение.

Для установления прецизионности проводили шесть параллельных определений для среднего уровня концентраций. Затем проводили расчет стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения.

Таблица 3. Результаты прецизионности количественного определения дулоксетина

Результат анализа, мкг	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	Метрологические характеристики
81	-0,667	0,4444	$\bar{x}=80,33$; $SD = 1,21$; $RSD = \pm 1,51 \%$
79	1,333	1,7778	
81	-0,667	0,4444	
79	1,333	1,7778	
82	-1,667	2,7778	
80	0,333	0,1111	

Таким образом, значение относительного стандартного отклонения не превышает $\pm 1,51\%$, что подтверждает возможность использования данной методики для проведения дальнейших испытаний.

Матричный эффект оценивался путем сравнения значений CV. Наблюдается более выраженное влияние матрицы в сыворотке крови через 30 минут ($CV = 13,30\%$), к 180 минутам влияние матрицы снижается до 9,21% (таблица 5). Для мочи наблюдается менее выраженное влияние матрицы по сравнению с сывороткой.

Стабильность дулоксетина оценивали в составе сыворотки крови в условиях краткосрочной стабильности: хранение образцов в течение 6 часов при комнатной температуре (от $+15^\circ\text{C}$ до $+25^\circ\text{C}$) и стабильности при замораживании-размораживании: после выполнения трех последовательных циклов замораживания (не менее 12 часов, при температуре от -18°C до -25°C) и размораживания (не менее 30 минут при комнатной температуре от $+15^\circ\text{C}$ до $+25^\circ\text{C}$) образцов перед анализом. Для исследования различных видов стабильности готовили образцы контроля качества на верхнем (160 мкг/мл) и нижнем (6 мкг/мл) уровнях концентраций дулоксетина. После выполнения требуемых условий хранения образцов (согласно каждому исследованному виду стабильности) проводили анализ по разработанной методике. Для каждого вида стабильности использовали по 3 аликвоты образца на каждом уровне концентраций дулоксетина, после

анализа которых рассчитывали среднее значение концентрации дулоксетина. Стабильность образцов оценивали путем расчета правильности (δ , %) и прецизионности (RSD, %) полученных средних значений.

Результаты оценки различных видов стабильности приведены в таблице 4, при этом была доказана стабильность дулоксетина во всех изученных условиях, так как рассчитанные значения δ , % и RSD, % не превышали 20 % для всех образцов на всех уровнях концентраций.

Таблица 4. Результаты изучения стабильности дулоксетина в сыворотке крови в различных условиях

Стабильность	Содержание дулоксетина, мкг/мл	δ , %	RSD, %
Краткосрочная	6	2,4	3,0
	160	-5,2	3,8
3 цикла замораживания-размораживания	6	8,0	5,6
	160	-4,2	3,5

Изолирование дулоксетина из биологических жидкостей проводили методом жидкость-жидкостной экстракции.

Результаты количественного определения дулоксетина в извлечениях из мочи и сыворотки представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты количественного определения дулоксетина в извлечениях из мочи и сыворотки лабораторных животных

Биологическая жидкость (95%ДИ, CV)	30 мин	60 мин	180 мин
Сыворотка (мкг/мл)	83,68±11,13	80,04±8,01	46,68±4,30
95% ДИ, ± %	15,7	12,50	11,40
CV, %	13,30	10,01	9,21
Моча (мкг/мл)	51,13±3,53	69,31±6,07	91,10±5,79
95% ДИ, ± %	7,01	8,89	6,45
CV, %	6,90	8,76	6,36

Все полученные значения CV при анализе сыворотки находятся в диапазоне от 9,21 до 13,30%, что указывает на слабую вариативность данных и хорошую воспроизводимость результатов. Наименьшая вариабельность наблюдается при 180 минутах (9,21%), наибольшая вариабельность — при 30 минутах (13,30%), но всё ещё находится в пределах допустимой нормы. Таким образом, все измерения характеризуются высокой степенью однородности данных.

Наименьшая вариабельность при анализе мочи наблюдается при 180 минутах, что говорит о более стабильных результатах в этот период. Наибольшая вариабельность - при 60

минутах, хотя все значения остаются в пределах допустимого уровня (менее 25%). Данные можно считать достаточно однородными для всех временных точек.

Обсуждение результатов

Разработанная ВЭЖХ-методика сопоставима с описанными в литературе, но имеет ряд преимуществ. Так, Waldschmitt et al. (2007) [15] использовали аналогичную подвижную фазу (ацетонитрил–фосфатный буфер) и детектирование при 229 нм, получая время удерживания 5,84 мин, что близко к нашему результату (5,75 мин). Chhalotiya et al. (2010) [13] показали схожий линейный диапазон, однако наш предел количественного определения (6 мкг/мл) ниже, чем в некоторых работах, что повышает чувствительность. Относительная погрешность ($\pm 1,57\%$) и прецизионность ($\pm 1,51\%$) демонстрируют высокую точность, сопоставимую с методами ВЭЖХ-МС/МС, но при использовании более доступного УФ-детектора. Изучение стабильности показало, что дулоксетин устойчив как при краткосрочном хранении, так и после замораживания-размораживания, что подтверждает надёжность методики при рутинном анализе. Неидентифицированные пики, наблюдаемые на хроматограммах, не мешают определению; их присутствие в интактных пробах не обнаружено, а в пробах с дулоксетином они, вероятно, являются эндогенными компонентами или метаболитами, что не влияет на селективность.

Особое внимание уделено матричному эффекту. Более выраженное влияние матрицы в сыворотке через 30 мин (CV 13,3%) может быть связано с высоким содержанием белков и липидов, однако к 180 мин эффект снижается до 9,21%. В моче матричное влияние меньше, что согласуется с меньшей сложностью матрицы. Это важно для клинических лабораторий, где вариабельность результатов должна быть минимизирована.

Полученные фармакокинетические профили (максимум в сыворотке через 0,5 ч, в моче – через 3 ч) согласуются с данными о быстром всасывании и выведении дулоксетина [6]. Это подтверждает целесообразность отбора обеих жидкостей для токсикологического мониторинга, особенно при подозрении на передозировку.

Ограничения исследования обусловлены **однократным дозированием**, использованием только одного метода пробоподготовки, ограниченным диапазоном исследуемых концентраций.

К перспективам исследования следует отнести **автоматизацию пробоподготовки** (внедрение твердофазной экстракции для повышения воспроизводимости), разработку математических моделей токсикокинетики, расширение спектра анализируемых биологических жидкостей.

Заключение

Разработана и валидирована надёжная методика количественного определения дулоксетина в биологических жидкостях лабораторных животных методом ВЭЖХ. Основные параметры: предел количественного определения – 6 мкг/мл, линейный диапазон – 6–160 мкг/мл, относительная погрешность – не более 1,57%. Методика обеспечивает эффективное определение дулоксетина в сыворотке крови и моче через 30, 60 и 180 мин после введения. Максимальное содержание в сыворотке наблюдается через 0,5 ч, в моче – через 3 ч. Валидация подтвердила высокую селективность, прецизионность, стабильность аналита и минимальное влияние матричных эффектов. Разработанный подход может быть использован для терапевтического лекарственного мониторинга и токсикологической диагностики, что способствует повышению безопасности применения дулоксетина в клинической практике.

Список литературы

1. Fava GA, Offidani E. The mechanisms of tolerance in antidepressant action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(7):1593-602. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.07.026.
2. Siddiqui F, Petersen JJ, Juul S, Kamp CB, Barbateskovic M, Moncrieff J et al. Beneficial and harmful effects of duloxetine versus placebo, 'active placebo' or no intervention for adults with major depressive disorder: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomised clinical trials. *BMJ Open*. 2025 Feb 7;15(2):e082853. doi: 10.1136/bmjopen-2023-082853.
3. Krishnan V, Nestler EJ. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression. *Am J Psychiatry*. 2010;167(11):1305-20. doi: 10.1176/appi.ajp.2009.10030434.
4. Kremer M, Yalcin I, Goumon Y, Wurtz X, Nexon L, Daniel D et al. A dual noradrenergic mechanism for the relief of neuropathic allodynia by the antidepressant drugs duloxetine and amitriptyline. *J Neurosci*. 2018;38(46):9934-54. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1004-18.2018.
5. Stahl SM. *Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications*. New York: Cambridge University Press; 2005. 588 p.
6. Knadler MP, Lobo E, Chappell J, Bergstrom R. Duloxetine: clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Clin Pharmacokinet*. 2011;50(5):281-94. doi: 10.2165/11539240-000000000-00000.
7. Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A, Atkinson LZ, Ogawa Y et al. Comparative Efficacy and Acceptability of 21 Antidepressant Drugs for the Acute Treatment of Adults With Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Focus (Am Psychiatr Publ)*. 2018;16(4):420-429. doi: 10.1176/appi.focus.16407.
8. Hetrick SE, McKenzie JE, Bailey AP, Sharma V, Moller CI, Badcock PB et al. New generation antidepressants for depression in children and adolescents: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021;5(5):CD013674. doi: 10.1002/14651858.CD013674.pub2.
9. Касьянов ЕД, Рукавишников ГВ, Розанов ВА, Мазо ГЭ. Повышают ли антидепрессанты риск суицида? Суицидология. 2019;10(4):85-98. doi: 10.32878/suiciderus.19-10-04(37)-85-98.
10. Kalfas M, Tsapekos D, Butler M, McCutcheon RA, Pillinger T, Strawbridge R et al. Incidence and nature of antidepressant discontinuation symptoms: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2025;82(9):896-904. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2025.1362.
11. Vey EL, Kovelman I. Adverse events, toxicity and post-mortem data on duloxetine: case reports and literature survey. *J Forensic Leg Med*. 2010;17(4):175-85. doi: 10.1016/j.jflm.2010.02.002.

12. Menchetti M, Gozzi BF, Saracino MA, Mercolini L, Petio C, Raggi MA. Non-fatal overdose of duloxetine in combination with other antidepressants and benzodiazepines. *World J Biol Psychiatry*. 2009;10(4 Pt 2):385-9. doi: 10.1080/15622970701586331.
13. Chhalotiya UK, Bhatt KK, Shah DA, Baldania SL. Development and validation of a stability-indicating RP-HPLC method for duloxetine hydrochloride in its bulk and tablet dosage form. *Sci Pharm*. 2010;78(4):857-68. doi: 10.3797/scipharm.1009-11.
14. Scanlon KA, Stoppacher R, Blum LM, Starkey SJ. Comprehensive duloxetine analysis in a fatal overdose. *J Anal Toxicol*. 2016;40(2):167-70. doi: 10.1093/jat/bkv134.
15. Waldschmitt C, Vogel F, Maurer C, Hiemke C. Measurement of duloxetine in blood using high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection and column switching. *Ther Drug Monit*. 2007;29(6):767-72. doi: 10.1097/FTD.0b013e31815d0dfa.
16. Eli Lilly and Company. Duloxetine Hydrochloride Capsules: Material Safety Data Sheet; 2005 [cited 2025 October 24]. Available at: https://ehs.lilly.com/Cymbalta_US%20SDS.pdf.
17. Миронов АН (ред.). Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
18. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, editors. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: In Pharmaceuticals, Body Fluids, and Postmortem Material. 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2011. 2609 p.
19. Евразийская экономическая комиссия. Решение № 85 Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года (с изменениями от 12 апреля 2024 года) «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» [cited 2025 October 24] Available at: <https://cis-legislation.com/document.fwx?rgn=93235>.

Development of a bioanalytical method for analysis of duloxetine in biological fluids of laboratory animals

Remezova I. P.¹

*Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named after A.P. Arzamastsev, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin;
ORCID: 0000-0003-3456-8553; SPIN: 9014-5728*

Pozdnyakov D. I.²

*Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology with a Course in Clinical Pharmacology;
ORCID: 0000-0002-5595-8182; SPIN: 6764-0279*

Durnova N. A.¹

*Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin;
ORCID: 0000-0003-4628-9519; SPIN: 3348-2957*

¹ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenovskiy University), Moscow, Russia

² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Stavropol Krai, Russia

Corresponding author: Irina P. Remezova, **e-mail:** remezova_i_p@staff.sechenov.ru

Funding: The study was conducted without sponsorship.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received: 30.04.2026

Accepted: 15.08.2026

Abstract

Introduction. The relevance of the study is determined by the need to improve methods for the quantitative determination of duloxetine, a modern antidepressant, in biological objects to optimize therapeutic monitoring and toxicological diagnostics. Monitoring drug concentrations in the patient's body is necessary due to individual metabolic characteristics, the risk of side effects, and the possibility of overdose. **Objective.** To develop and validate a bioanalytical method for the quantitative determination of duloxetine in biological fluids of laboratory animals using high-performance liquid chromatography (HPLC). **Materials and Methods.** The study used the pharmaceutical product "Duloxetine Canon" as the test object and Duloxetine Hydrochloride reference standard (Supelco) for calibration. Experiments were carried out on 30 Wistar rats that received the drug intragastrically at a dose of 300 mg/kg; serum and urine samples were collected for analysis. A sample preparation procedure using liquid-liquid extraction was developed; chromatographic conditions were optimized (mobile phase acetonitrile–phosphate buffer, detection at 231 nm). Validation was performed for selectivity, linearity, limit of quantification, accuracy, precision, stability, and matrix effect. **Results.** The method has a limit of quantification of 6 µg/mL, a linear range of 6–160 µg/mL, and a relative error of no more than ±1.57%. The developed approach effectively determines duloxetine in blood serum and urine at 30, 60, and 180 min after administration, which expands the possibilities of toxicological monitoring. For chemical-toxicological analysis of a toxic dose of duloxetine, it is advisable to examine both biological fluids. **Conclusion.** The created tool can be used for monitoring therapeutic concentrations and diagnosing poisoning, which contributes to the safe use of duloxetine in clinical practice. The method is suitable for both diagnostic purposes and scientific research in the pharmacokinetics of antidepressants.

Keywords: duloxetine, bioanalytical method, high-performance liquid chromatography, laboratory animals, method validation

References

1. Fava GA, Offidani E. The mechanisms of tolerance in antidepressant action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(7):1593-602. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.07.026.
2. Siddiqui F, Petersen JJ, Juul S, Kamp CB, Barbateskovic M, Moncrieff J et al. Beneficial and harmful effects of duloxetine versus placebo, 'active placebo' or no intervention for adults with major depressive disorder: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomised clinical trials. *BMJ Open*. 2025 Feb 7;15(2):e082853. doi: 10.1136/bmjopen-2023-082853.
3. Krishnan V, Nestler EJ. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression. *Am J Psychiatry*. 2010;167(11):1305-20. doi: 10.1176/appi.ajp.2009.10030434.
4. Kremer M, Yalcin I, Goumon Y, Wurtz X, Nexon L, Daniel D et al. A dual noradrenergic mechanism for the relief of neuropathic allodynia by the antidepressant drugs duloxetine and amitriptyline. *J Neurosci*. 2018;38(46):9934-54. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1004-18.2018.
5. Stahl SM. *Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications*. New York: Cambridge University Press; 2005. 588 p.
6. Knadler MP, Lobo E, Chappell J, Bergstrom R. Duloxetine: clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Clin Pharmacokinet*. 2011;50(5):281-94. doi: 10.2165/11539240-000000000-00000.
7. Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A, Atkinson LZ, Ogawa Y et al. Comparative Efficacy and Acceptability of 21 Antidepressant Drugs for the Acute Treatment of Adults With Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Focus (Am Psychiatr Publ)*. 2018;16(4):420-429. doi: 10.1176/appi.focus.16407.
8. Hetrick SE, McKenzie JE, Bailey AP, Sharma V, Moller CI, Badcock PB et al. New generation antidepressants for depression in children and adolescents: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021;5(5):CD013674. doi: 10.1002/14651858.CD013674.pub2.

9. Kas'yanov ED, Rukavishnikov GV, Rozanov VA, Mazo GE. Povyshayut li antidepressanty risk suicida? [Do antidepressants increase the risk of suicide?] *Suicidologiya*. 2019;10(4):85-98. doi: 10.32878/suiciderus.19-10-04(37)-85-98. (In Russ.)
10. Kalfas M, Tsapekos D, Butler M, McCutcheon RA, Pillinger T, Strawbridge R et al. Incidence and nature of antidepressant discontinuation symptoms: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2025;82(9):896-904. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2025.1362.
11. Vey EL, Kovelman I. Adverse events, toxicity and post-mortem data on duloxetine: case reports and literature survey. *J Forensic Leg Med*. 2010;17(4):175-85. doi: 10.1016/j.jflm.2010.02.002.
12. Menchetti M, Gozzi BF, Saracino MA, Mercolini L, Petio C, Raggi MA. Non-fatal overdose of duloxetine in combination with other antidepressants and benzodiazepines. *World J Biol Psychiatry*. 2009;10(4 Pt 2):385-9. doi: 10.1080/15622970701586331.
13. Chhalotiya UK, Bhatt KK, Shah DA, Baldania SL. Development and validation of a stability-indicating RP-HPLC method for duloxetine hydrochloride in its bulk and tablet dosage form. *Sci Pharm*. 2010;78(4):857-68. doi: 10.3797/scipharm.1009-11.
14. Scanlon KA, Stoppacher R, Blum LM, Starkey SJ. Comprehensive duloxetine analysis in a fatal overdose. *J Anal Toxicol*. 2016;40(2):167-70. doi: 10.1093/jat/bkv134.
15. Waldschmitt C, Vogel F, Maurer C, Hiemke C. Measurement of duloxetine in blood using high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection and column switching. *Ther Drug Monit*. 2007;29(6):767-72. doi: 10.1097/FTD.0b013e31815d0dfa.
16. Eli Lilly and Company. Duloxetine Hydrochloride Capsules: Material Safety Data Sheet; 2005 [cited 2025 October 24]. Available at: https://ehs.lilly.com/Cymbalta_US%20SDS.pdf.
17. Mironov AN (red.). *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv*. CHast' pervaya. [Guidelines for Preclinical Studies of Medicines. Part One.] M.: Grif i K; 2012. 944 s. (In Russ.)
18. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, editors. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: In Pharmaceuticals, Body Fluids, and Postmortem Material*. 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2011. 2609 p.
19. Evrazijskaya ekonomicheskaya komissiya. Reshenie № 85 Soveta Evrazijskoj ekonomicheskoy komissii ot 3 noyabrya 2016 goda (s izmeneniyami ot 12 aprelya 2024 goda) «Ob utverzhdenii Pravil provedeniya issledovaniy bioekvivalentnosti lekarstvennykh preparatov v ramkah Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza» [Decision № 85 of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 (as amended on April 12, 2024) «On Approval of the Rules for Conducting Bioequivalence Studies of Medicines within the Eurasian Economic Union»] [cited 2025 October 24] Available at: <https://cis-legislation.com/document.fwx?rgn=93235>. (In Russ.)