

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра биохимии**

РАК

Софья Васильевна

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАМОТРИДЖИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ  
ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ - ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Дипломная работа

Научный консультант:  
начальник отдела антидопинговых  
испытаний Учреждения  
здравоохранения «Национальная  
антидопинговая лаборатория»,  
кандидат биологических наук  
Д.Г. Костин \_\_\_\_\_  
Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
доцент О.И. Губич

Допущена к защите

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Зав. кафедрой биохимии

кандидат биологических наук, доцент

\_\_\_\_\_  
И.В. Семак

Минск, 2024

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 71 страница, 9 рисунков, 17 таблиц, 41 источник.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ,  
ЛАМОТРИДЖИН, ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ  
ХРОМАТОГРАФИЯ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ,  
ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ.

**Объект исследования:** ламотриджин, [ $^{13}\text{C}$ ,  $\text{D}_3$ ]-ламотриджин.

**Цель работы:** разработка и частичная валидация методики количественного определения противосудорожного препарата ламотриджина в сыворотке крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – тандемной масс-спектрометрии.

**Метод исследования:** масс-спектрометрия.

Разработке методики предшествовали анализ и систематизация данных современной научной литературы, посвященной теме дипломной работы, результатом чего явился выбор метода осаждения белков с последующим разведением пробы в качестве оптимального подхода на этапе подготовки биологических образцов к проведению инструментального анализа. В ходе разработки методики были подобраны параметры хромато-масс-спектрометрической системы, обеспечивающие оптимальное разделение компонентов биологических образцов и дальнейшую регистрацию анализируемых соединений на масс-спектрометрическом детекторе: колонка для обращенно-фазовой хроматографии, подвижные фазы с летучими соединениями в составе, градиентный режим элюирования; характеристические переходы родительских ионов ламотриджина и внутреннего стандарта, а также коллизионная энергия для сканирования ионов в режиме мониторинга множественных реакций на масс-анализаторе типа тройной квадруполь.

Валидация разработанной методики сопровождалась, но не ограничивалась оценкой следующих параметров на предмет соответствия установленным критериям приемлемости: селективность, перенос пробы, предел количественного определения, стабильность ламотриджина в биологических образцах при комнатной температуре до начала пробоподготовки и при хранении в замороженном виде.

**Практическая значимость исследования и область применения:** разработанная и валидированная методика находится в рутинной практике в учреждении здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория» и применяется на аналитическом этапе терапевтического лекарственного мониторинга ламотриджина в сыворотке крови человека в рамках оказания медицинской помощи населению Республики Беларусь.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа, 71 старонка, 9 малюнкаў, 17 табліц, 41 крыніца.

ТЭРАПЕЎТЫЧНЫ ЛЕКАВЫ МАНІТОРЫНГ, ЛАМАТРЫДЖЫН, ВЫСОКАЭФЕКТЫЎНАЯ ВАДКАСНАЯ ХРАМАТАГРАФІЯ З МАС-СПЕКТРАМЕТРЫЧНАЙ ДЭТЭКЦЫЯЙ ВЫСОКАГА ДАЗВОЛУ, ВАЛІДАЦЫЯ МЕТОДЫКІ.

**Аб'ект даследавання:** ламатрыджын, [ $^{13}\text{C}$ ,  $\text{D}_3$ ]-ламатрыджын.

**Мэта даследавання:** распрацоўка і частковая валідацыя методыкі колькаснага вызначэння супрацьсутаргавага прэпарата ламатрыджына ў сыроватцы крыві чалавека з выкарыстаннем метада высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі – тандэмнай мас-спектраметрыі.

**Метад даследавання:** мас-спектраметрыя.

Распрацоўцы методыкі папярэднічалі аналіз і сістэматызацыя даных сучаснай навуковай літаратуры, прысвечанай тэме дыпломнай работы, вынікам чаго з'явіўся выбар метаду асаджэння бялкоў з наступным развядзеннем пробы ў якасці аптымальнага падыходу на этапе падрыхтоўцы біялагічных пробаў да правядзення інструментальнага аналізу. У ходзе распрацоўкі методыкі быў праведзены падбор параметраў храмата-мас-спектраметрычнай сістэмы, якія забяспечваюць аптымальнае раздзяленне кампанентаў біялагічных пробаў і далейшую рэгістрацыю аналізуемых злучэнняў на мас-спектраметрычным дэтэктары: калонка для звернута-фазавай храматаграфіі, рухомыя фазы з лятучымі злучэннямі ў складзе, градыентны рэжым элюіравання; характарыстычныя пераходы бацькоўскіх іёнаў ламатрыджына і ўнутранага стандарту, а таксама калізійная энэргія для сканіравання іёнаў у рэжыме маніторынгу множных рэакцый на мас-аналізатары тыпу трайны квадруполь.

Валідацыя распрацаванай методыкі суправаджалася, але не абмяжоўвалася ацэнкай наступных параметраў на прадмет адпаведнасці ўстаноўленым крытэрыям прымальнасці: селектыўнасць, мяжа колькаснага вызначэння, перанос пробы, стабільнасць ламатрыджына ў біялагічных пробах пры пакоёвай тэмпературы да пачатку пробападрыхтоўцы і пры вытрымліванні ў замарожаным выглядзе.

**Практычнае значэнне даследавання і вобласць выкарыстоўвання:** распрацаваная і валідзіраваная методыка знаходзіцца ў руціннай практыцы ва ўстанове аховы здароўя «Нацыянальная антыдопінгавая лабараторыя» і ўжываецца на аналітычным этапе тэрапеўтычнага лекавага маніторынгу ламатрыджына ў сыроватцы крыві чалавека ў рамках аказання медыцынскай дапамогі насельніцтву Рэспублікі Беларусь.

## ABSTRACT

Graduate thesis, 71 pages, 9 figures, 17 tables, 41 sources.

THERAPEUTIC DRUG MONITORING, LAMOTRIGINE, HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETRY, METHOD VALIDATION.

**The object of the research:** lamotrigine, [<sup>13</sup>C, D<sub>3</sub>]-lamotrigine.

**The aim of the research:** development and partial validation of a high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry method for quantitative determination of anticonvulsant drug lamotrigine in human serum.

**Research method:** mass-spectrometry.

The development of a high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry method for quantitative determination of lamotrigine in human serum was preceded by analysis and systematization of modern trends in science research. As a result, protein precipitation with further dilution was chosen as the optimal sample preparation technique for instrumental analysis. During method development several parameters of chromato-mass-spectrometry analysis were set to ensure optimal separation of components of biological samples and further detection of analytes with a mass spectrometer: a column for reverse-phase chromatography, a gradient elution mode, mobile phases with volatile components; parent-product ion transitions for lamotrigine and internal standard and collision energy for multiple reaction monitoring scanning mode on a triple quadrupole mass analyzer.

During method validation a list of method characteristics was evaluated including, but not limited to, selectivity, the limit of quantification, carry-over, stability of lamotrigine in biological samples stored at room temperature before sample preparation and stability of lamotrigine in biological samples stored frozen.

**The practical value of the research and spheres of application:** the developed and validated high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry method for quantitative determination of lamotrigine in human serum has been introduced into routine practice in public health institution «National Anti-Doping Laboratory» for providing medical care to the population of the Republic of Belarus.