



УДК 615.074, 543.544.5.068.7, 543.544.3

Аналитические подходы к изучению фармакокинетики противоопухолевых препаратов с помощью газовой и жидкостной хроматографии

Комаров Т. Н., Раменская Г.В., Шохин И.Е., Медведев Ю.В., Мидруев Е.Ю., Львова А.А., Болдина Ю.Е., Смирнов В.В., Петухов А.Е.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, Москва

Поступила в редакцию 17.10.2014 г.

По результатам статистической обработки валидационных параметров разработанных ранее методик для количественного определения противоопухолевых препаратов капецитабин (совместно с активным метаболитом 5-фторурацилом), темозоломид, иматиниб, анастрозол в плазме крови, выбраны наиболее пригодные методики для исследования фармакокинетики изучаемых препаратов.

Ключевые слова: темозоломид, капецитабин, иматиниб, анастрозол, ГХ, ВЭЖХ, плазма, валидация, фармакокинетика.

Analytical approaches to examine the pharmacokinetics anticancer drugs by methods gas and liquid chromatography

Komarov T.N., Ramenskaya G.V., Shokhin I.E., Medvedev Yu.V., Midruev E.Yu., Lvova A.A., Boldina Yu.E., Smirnov V.V., Petukhov A.E.

Sechenov First Moscow state medical university, 8, Trubetskaya ul., Moscow

The present study is devoted to the comparative analysis of previously developed and published methods of quantitative determination of anticancer drugs capecitabine (with the the active metabolite 5-fluorouracil), temozolomide, imatinib, anastrozole in human blood plasma. Previously there have been developed and published methods for determining capecitabine, 5-fluorouracil, temozolomide and imatinib by LC-MS and LC with UV- detector and anastrozole by GC-MS and LC-MS. The developed techniques were validated in terms of selectivity, linearity, accuracy, precision, stability samples, matrix effect, limit of quantification, the transfer of samples. To select the most useful methods for further studies of pharmacokinetics study drugs provides a comparative statistical analysis of previously developed bioanalytical methods with the use of F-test calculation. Based on these data, it is the choice of the optimal use of various methods of liquid or gas chromatography for the analysis of the studied drugs in human plasma for further research.

Keywords: temozolomide, capecitabine, imatinib, anastrozole, GC, HPLC, plasma, validation, pharmacokinetics.

Введение

В настоящее время онкологические заболевания являются одними из самых распространённых патологий [1]. Противоопухолевые препараты занимают значительное место на рынке. Вместе с тем, достаточное количество препаратов

данной группы, включённых в список ЖНВЛП за 2012-2014 г. [2], список стратегически значимых лекарственных средств [3], представляют собой оригинальные препараты зарубежной разработки с истекающим сроком патентной защиты, что определяет повышение востребованности проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств данной группы, учитывая концепцию импортозамещения, согласованно с планом реализации стратегии развития фармацевтической промышленности до 2020 г. [4]. Для проведения данного исследования, выполняемого в рамках научного направления кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова и выполнения диссертационного исследования аспиранта данной кафедры Т.Н. Комарова были выбраны препараты: капецитабин, темозоломид, иматиниб, анастрозол. Данные препараты применяются в химиотерапии различных онкологических заболеваний, относятся к разным фармакологическим подгруппам и имеют различную химическую структуру. В настоящее время среди опубликованных в зарубежных базах данных биоаналитических методик количественного определения препаратов капецитабина (совместно с активным метаболитом 5-фторурацилом), темозоломида и иматиниба значительно преобладает использование методов ВЭЖХ (СВЭЖХ) с УФ-детектированием и тандемным (МС/МС) масс-детектированием, для анастрозола – ВЭЖХ с МС/МС детектированием, ГХ с МС/МС детектированием [5]. В Российской Федерации в силу ряда причин чаще применяется метод ВЭЖХ с одноквадрупольным (МС) масс-детектированием [5]. Востребованность проведения исследований сравнительной фармакокинетики и биоэквивалентности для препаратов данной группы поднимает вопрос о выборе метода количественного определения для препаратов с учётом пригодности метода и простоты и применимости конкретной методики для рутинного анализа большого количества проб. С аналитической и точки зрения, авторам видится нерациональным проведение сравнительного исследования методов ВЭЖХ-МС/МС с другими по причине наилучшей селективности и чувствительности данного метода в сравнении с другими. В данном исследовании проводился сравнительный анализ разработанных ранее методик количественного определения капецитабина (и 5-фторурацила), темозоломида, иматиниба с помощью методов ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС и анастрозола с помощью ГХ-МС и ВЭЖХ-МС. Методики, обладающие статистически достоверно предпочтительными валидационными, а также практическими характеристиками, такими как время анализа, экспрессность и простота пробоподготовки при проведении анализа большого количества образцов, были применены для анализа фармакокинетики данных препаратов. Разработанные методики были внедрены в практическую деятельность НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, методики анализа, разработанные на оборудовании компании Agilent Technologies были также внедрены в базу данных аналитических решений данной компании. Результаты исследования легли в основу диссертационной работы Т. Н. Комарова, выполняемой под руководством проф. Г. В. Раменской. Все методики, разработанные в рамках данного исследования были опубликованы ранее [6-8] или поданы к публикации [9,10] в различные научные журналы и выход статей ожидается в ближайшее время, поэтому в данной статье приводятся только данные по правильности и прецизионности, на основании статистического анализа которых проводился выбор метода для проведения дальнейшего анализа, а также фармакокинетические параметры изучаемых препаратов, полученные с помощью выбранных методик.

Эксперимент

Оборудование. Жидкостной хроматограф Agilent Infinity 1290 с диодноматричным детектором, жидкостной хроматограф Waters Acquity с масс-селективным детектором, газовый хроматограф Agilent 7890В с масс-селективным детектором. Объектами исследования *являлись* темозоломид, 5-фторурацил, капецитабин, иматиниба мезилат, анастрозол (стандартные образцы) и образцы холостой плазмы крови и плазмы крови после приёма исследуемых препаратов. В работе использовались реактивы и растворители класса не ниже х.ч.

В качестве методик пробоподготовки для образцов плазмы для исследуемых препаратов использовались методы жидкость-жидкостной экстракции и осаждения белков раствором трифторуксусной кислоты или ацетонитрилом. Валидация разработанных методик проводилась в соответствии с нормами, установленными на основании действующих российских и зарубежных НД (руководства FDA и ЕМА и руководство по экспертизе ЛС под ред. проф. А. Н. Миронова) [11-13]. В качестве модельного препарата был выбран препарат капецитабин, как единственный, для которого при проведении клинических испытаний регламентировано проведение определения нативного препарата совместно с активным метаболитом (5-фторурацилом), что делает необходимым проведение валидации методики для двух определяемых веществ [5,6].

Для статистической оценки достоверности полученных различий по результатам валидации разработанных методик для количественного определения исследуемых препаратов плазме крови человека был проведён сравнительный анализ с помощью расчёта критерия Фишера по результатам двух независимых выборок. Сравнительный анализ проводился для каждого уровня концентраций для двух различных хроматографических методик на уровнях *intra day* и *inter day*.

Обсуждение результатов

Поскольку аналитический диапазон (в том числе и пределы количественного определения на уровне $1/20 C_{\max}$ [12]) для разработанных методик количественного определения исследуемых препаратов в плазме является одинаковым, так как он был подобран с учётом ожидаемого фармакокинетического диапазона концентраций (согласно литературным данным), выбор конкретной методики количественного определения для проведения фармакокинетического анализа проводилось сравнение вариабельности валидационных характеристик.

Капецитабин

По результатам проведения валидации обе методики были признаны селективными. Для определения линейности были построены калибровочные графики в диапазоне концентраций 5-фторурацил 0.05-5 мкг/мл и капецитабина 0.1-10 мкг/мл. Коэффициенты корреляции $r^2 = 0,999$ (для ВЭЖХ-УФ) для обоих препаратов, и $r^2 = 0,998$ и $0,997$ для 5-фторурацила и капецитабина соответственно (для ВЭЖХ-МС), что соответствует нормам (не менее 0.99). Для определения правильности и прецизионности пробы плазмы крови с концентрациями 0.1, 1.0, 10.0 мкг/мл были проанализированы по 3 раза с помощью обоих методов на уровнях *intra-day* и *inter-day*, по результатам анализа были рассчитаны относительные стандартные отклонения и относительные погрешности для каждого уровня. Результаты представлены в табл. 1:

Таблица 1. Значения относительного стандартного отклонения и относительной стандартной погрешности методик определения капецитабина и 5-фторурацила

Уровень Концентрация препарата в плазме, мкг/мл	ВЭЖХ-УФ				ВЭЖХ-МС				
	Intra-day (n=5)		Inter-day (n=10)		Intra-day (n=5)		Inter-day (n=10)		
	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	
5-фторурацил									
0.05	10.29	4.40	7.62	6.60	16.09	4.00	7.62	6.60	
0.10	7.57	0.40	7.23	1.50	10.14	8.00	7.23	1.50	
0.50	5.28	8.80	6.92	4.60	2.36	3.20	6.92	4.60	
5.0	2.03	0.16	3.08	2.46	1.35	0.44	3.08	2.46	
Капецитабин									
0.1	7.57	0.40	7.23	1.50	12.78	2.00	12.95	8.00	
0.5	5.28	8.80	6.92	4.60	2.55	2.40	10.50	10.00	
1.0	4.43	3.40	4.22	1.30	2.41	0.80	3.19	1.20	
10.0	3.96	0.84	3.05	2.09	0.58	0.30	0.98	0.68	

По результатам статистической обработки с использованием расчёта критерия Фишера по результатам двух выборок для концентраций 5-фторурацила на уровнях концентраций 0.05 мкг/мл (intra day), 5.0 мкг/мл (intra day), 0.1 мкг/мл (inter day), капецитабина на уровнях концентраций 0.1 мкг/мл (intra day), 10.0 мкг/мл (intra day, inter day) показаны статистически значимые различия двух дисперсий (при $P > 0,05$), при этом уровень вариабельности для метода ВЭЖХ-МС является более высоким на более низких точках аналитического диапазона (для 5-фторурацила $RSD_{0,05intra}=16.090$, $RSD_{0,1intra}=12.783$, для капецитабина $RSD_{0,1intra}=10.143$), а для метода ВЭЖХ-УФ – в верхней части аналитического диапазона концентраций (для 5-фторурацила $RSD_{5,0intra}=2.025$, для капецитабина $RSD_{10,0intra}=10.217$, $RSD_{10,0inter}=3.049$). Исходя из этих данных, с учётом того, что методика количественного определения капецитабина и 5-фторурацила в плазме с помощью метода ВЭЖХ-МС обладает несколько более пригодными валидационными характеристиками для анализа исследуемого препарата в верхней части аналитического диапазона (с учётом дозировки исследуемого препарата) и меньшего времени анализа одной пробы (5 минут для ВЭЖХ-МС и 15 минут для ВЭЖХ-УФ), для дальнейшего исследования было решено использовать метод ВЭЖХ с масс-селективным детектированием. Кроме того, необходимо отметить, что в случае с определением капецитабина и 5-фторурацила, необходимая чувствительность, селективность, правильность и прецизионность была достигнута в том числе за счёт использованной методики пробоподготовки (жидкость-жидкостная экстракция) [6], в процессе выполнения которой происходило концентрирование пробы в несколько раз. Данная методика является более трудоёмкой для проведения рутинного анализа. Использование методики ВЭЖХ с масс-селективным детектором позволит в больше оценить возможности непосредственно аналитического метода.

Темозоломид

По результатам проведения валидации обе методики были признаны селективными. Для определения линейности были построены калибровочные графики в диапазоне концентраций 0.1-10 мкг/мл. Коэффициенты корреляции $r^2=0.999$ (для ВЭЖХ-УФ) и $r^2=0.998$ (для ВЭЖХ-МС), что соответствует нормам (не менее 0.99). Для определения правильности и прецизионности пробы плазмы крови с

концентрациями 0.1, 1.0, 10.0 мкг/мл были проанализированы по 3 раза с помощью обоих методов на уровнях intra-day и inter-day, по результатам анализа были рассчитаны относительные стандартные отклонения и относительные погрешности для каждого уровня. Результаты представлены в табл. 2:

Таблица 2. Значения относительного стандартного отклонения и относительной стандартной погрешности методик определения темозоломида

Уровень Концентрация препарата в плазме, мкг/мл	ВЭЖХ-УФ				ВЭЖХ-МС			
	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=6)		Intra-day (n=3)		Inter-day (n=6)	
	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %
0.1	6.62	9.00	5.41	6.17	2.59	2.00	5.41	6.17
1.0	0.18	3.20	3.11	1.27	1.66	0.83	3.09	1.24
10.0	2.27	2.49	1.91	1.38	1.86	0.36	1.82	1.20

По результатам статистической обработки с использованием расчёта критерия Фишера по результатам двух выборок для концентраций темозоломида на всех уровнях концентраций показаны статистически незначимые различия двух дисперсий (при $P > 0,05$). Поскольку в обеих методиках используются схожие методы пробоподготовки, но время анализа одной пробы с помощью метода ВЭЖХ-МС составляет 3 минуты против 9 для ВЭЖХ-УФ, для дальнейшего исследования было решено использовать метод ВЭЖХ с масс-селективным детектированием, хотя с точки зрения правильности и прецизионности методы ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС не уступают друг другу в данном случае.

Иматиниб

По результатам проведения валидации обе разработанные методики были признаны селективными. Для определения линейности были построены калибровочные графики в диапазоне концентраций 50-2000 нг/мл. Коэффициенты корреляции $r^2=0.998$ (для ВЭЖХ-УФ) и $r^2=0.993$ (для ВЭЖХ-МС), что соответствует нормам (не менее 0.99). Для определения правильности и прецизионности пробы плазмы крови с концентрациями 50.0, 200.0, 500.0, 2000.0 нг/мл были проанализированы по 5 раз с помощью обоих методов на уровнях intra-day и inter-day, по результатам анализа были рассчитаны относительные стандартные отклонения и относительные погрешности для каждого уровня. Результаты представлены в табл. 3.

По результатам статистической обработки с использованием расчёта критерия Фишера по результатам двух выборок для концентраций иматиниба на уровнях концентраций 200 нг/мл (intra day), 2000 нг/мл (intra day), 500 нг/мл (inter day) показаны статистически значимые различия двух дисперсий (при $P > 0.05$), при этом уровень вариабельности для метода ВЭЖХ-МС является более высоким ($RSD_{200intra}=11,695$, $RSD_{2000intra}=8.728$, $RSD_{500inter}=10.101$). Исходя из этих данных, для дальнейшего исследования было решено использовать метод ВЭЖХ с УФ-спектрофотометрическим детектированием, поскольку данный метод обладает более высокими правильностью и прецизионностью и является более пригодным для анализа.

Таблица 3. Значения относительного стандартного отклонения и относительной стандартной погрешности методик определения иматиниба

Уровень Концентрация препарата в плазме, нг/мл	ВЭЖХ-УФ				ВЭЖХ-МС			
	Intra-day (n=5)		Inter-day (n=10)		Intra-day (n=5)		Inter-day (n=10)	
	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %
50.0	4.37	16.24	11.32	6.40	17.47	11.18	16.81	16.78
200.0	0.85	1.97	2.04	3.35	11.70	2.87	13.29	4.95
500.0	1.33	8.49	5.41	3.22	8.38	2.56	10.10	3.34
2000.0	1.31	4.23	1.13	4.87	8.28	3.66	10.74	2.90

Анастрозол

По результатам проведения валидации обе методики были признаны селективными. Для определения линейности были построены калибровочные графики в диапазоне концентраций 5-100 нг/мл. Коэффициенты корреляции $r^2=0.997$ (для ВЭЖХ-МС) и $r^2=0.993$ (для ГХ-МС), что соответствует нормам (не менее 0.99). Для определения правильности и прецизионности пробы плазмы крови с концентрациями 5.0, 20.0, 100.0 нг/мл были проанализированы по 3 раза с помощью обоих методов на уровнях intra-day и inter-day, по результатам анализа были рассчитаны относительные стандартные отклонения и относительные погрешности для каждого уровня. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4. Значения относительного стандартного отклонения и относительной стандартной погрешности методик определения анастрозола.

Уровень Концентрация препарата в плазме, нг/мл	ГХ-МС				ВЭЖХ-МС			
	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=6)		Intra-day (n=3)		Inter-day (n=6)	
	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %	RSD, %	ε, %
5.0	18.52	4.00	19.37	0.67	1.00	5.67	10.15	1.83
20.0	14.26	13.00	11.77	11.75	4.68	0.83	5.75	3.75
100.0	11.40	3.47	9.49	9.07	3.64	2.00	2.70	3.13

По результатам статистической обработки с использованием расчёта критерия Фишера по результатам двух выборок для концентраций анастрозола на уровнях концентраций 5 нг/мл (intra day), 20 нг/мл (intra day), 20 нг/мл (inter day), 100 нг/мл (inter day) показаны статистически значимые различия двух дисперсий (при $P > 0.05$), при этом уровень вариабельности для метода ГХ-МС является более высоким ($RSD_{5intra}=18.52$, $RSD_{20intra}=14.26$, $RSD_{20inter}=11.77$, $RSD_{100inter}=9.49$). Исходя из этих данных, для дальнейшего исследования было решено использовать метод ВЭЖХ с масс-селективным детектированием, поскольку данный метод обладает более высокими правильностью и прецизионностью и является более пригодным для анализа.

Таким образом, по результатам сравнения валидационных характеристик разработанных методик, учитывая данные дисперсионного анализа, количественное

определение исследуемых препаратов в плазме крови добровольцев или пациентов проводилось методами ВЭЖХ-МС (для капецитабина и 5-фторурацила, темозоломида, анастрозола) и ВЭЖХ-УФ (для иматиниба).

Заключение

Проведён сравнительный статистический анализ разработанных ранее биоаналитических методик с применением расчёта критерия Фишера. На основании полученных данных сделан выбор об оптимальности использования тех или иных методов жидкостной или газовой хроматографии для анализа изучаемых препаратов в плазме крови человека в дальнейших исследованиях.

Список литературы

1. Fischer R., David S; Knobf, M Tish The Cancer Chemotherapy Handbook. 2003. 6th Edition. pp.47
2. Распоряжение правительства РФ РФ №2427 от 19.12.2013 г "Об утверждении списка жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2014 г".
3. Перечень стратегически значимых лекарственных средств, производство которых должно быть обеспечено на территории Российской Федерации. Утвержден Распоряжением Правительства РФ №1141-р от 6 июля 2010 г.
4. Приказ «Об утверждении стратегии развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года». Министерство промышленности и торговли Российской Федерации. М. 2009 г.
5. Комаров Т.Н. Некоторые вопросы фармакокинетических исследований противоопухолевых препаратов / Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. №2 С. 7.
6. Комаров Т.Н., Медведев Ю.В., Раменская Г.В., Шохин И.Е., Мидруев Е.Ю. Разработка и валидация методики определения противоопухолевого препарата капецитабина и его активного метаболита 5-фторурацила в плазме крови с целью проведения фармакокинетических исследований / Биофармацевтический журнал. 2014. Т. 6. №5. С. 62-67.
7. Комаров Т.Н., Медведев Ю.В., Шохин И.Е., Мидруев Е. Ю., Ярушок Т.А. Разработка и валидация методики определения противоопухолевого препарата темозоломида в плазме крови / Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. №2(7), С.132-135
8. Комаров Т.Н., Раменская Г.В., Мельников Е.С. Изучения возможностей применения методов газовой хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием для определения некоторых противоопухолевых лекарственных средств в плазме крови / Сборник материалов научной конференции, посвящённой 35-летию ЮКГФА. Казахстан, Шымкент, октябрь 2014.
9. Комаров Т.Н., Раменская Г.В, Шохин И.Е., Медведев Ю.В., Мидруев Е.Ю. Определение противоопухолевого препарата иматиниба в плазме крови человека с помощью сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии / Естественные и технические науки. 2014. [в печати].
10. Комаров Т.Н., Раменская Г.В., Шохин И.Е., Медведев Ю.В., Мидруев Е.Ю., Болдина Ю.Е., Львова А.А. Определение некоторых противоопухолевых препаратов из списка ЖНВЛП в плазме крови с помощью сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием / Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. [в печати].
11. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP), 2010.
12. Руководство по экспертизе лекарственных средств под ред. проф. А. Н. Миронова. Том I. М. Гриф и К, 2013.
13. Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers: Exploratory IND Studies U.S.

Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evolution and Research (CDER). U.S.

Government Printing Office: Washington, DC, 2006.

References

1. Fischer R., David S; Knobf, M Tish, The Cancer Chemotherapy Handbook, 2003, 6th Edition, pp.47
2. Rasporyazhenie pravitel'stva RF RF №2427 ot 19.12.2013 g "Ob utverzhdenii spiska zhiznenno neobkhodimykh i vazhneishikh lekarstvennykh preparatov na 2014 g".
3. Perechen' strategicheskikh znachimykh lekarstvennykh sredstv, proizvodstvo kotorykh dolzhno byt' obespecheno na territorii Rossiiskoi Federatsii. Utverzhen Rasporyazheniem Pravitel'stva RF №1141-r ot 6 iyulya 2010 g.
4. Prikaz «Ob utverzhdenii strategii razvitiya farmatsevticheskoi promyshlennosti na period do 2020 goda». Ministerstvo promyshlennosti i trgovli Rossiiskoi Federatsii., M., 2009 g.
5. Komarov T. Nekotorye voprosy farmakokineticheskikh issledovaniy protivopukholevykh preparatov, Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv, 2014, No 2(7)
6. Komarov T., Medvedev Yu., Ramenskaya G., Shokhin I., Midruev E., Razrabotka i validatsiya metodiki opredeleniya protivopukholevogo preparata kapetsitabina i ego aktivnogo metabolita 5-ftoruratsila v plazme krovi s tsel'yu provedeniya farmakokineticheskikh issledovaniy, Biofarmatsevticheskii zhurnal, 2014, T. 6, No 5, pp. 62-67.
7. Komarov T., Medvedev Yu., Shokhin I., Midruev E., Yarushok T., Razrabotka i validatsiya metodiki opredeleniya protivopukholevogo preparata temozolomida v plazme krovi, Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv, 2014, No2(7), pp.132-135
8. Komarov T., Ramenskaya G., Mel'nikov E. Izucheniya vozmozhnostei primeneniya
9. metodov gazovoi khromatografii i vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii s mass-selektivnym detektirovaniem dlya opredeleniya nekotorykh protivopukholevykh lekarstvennykh sredstv v plazme krovi, Sbornik materialov nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 35-letiyu YuKGFA. Kazakhstan, Shymkent, oktyabr' 2014.
10. Komarov T., Ramenskaya G., Shokhin I., Medvedev Yu., Midruev E., Opredelenie protivopukholevogo preparata imatiniba v plazme krovi cheloveka s pomoshch'yu svervysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii, Estestvennye i tekhnicheskie nauki, 2014, [in edition].
11. Komarov T., Ramenskaya G., Shokhin I., Medvedev Yu., Midruev E., Boldina Yu., L'vova A. Opredelenie nekotorykh protivopukholevykh preparatov iz spiska ZhNVLP v plazme krovi s pomoshch'yu sverkhvysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii s mass-selektivnym detektirovaniem, Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy, 2014, [in edition].
12. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP), 2010.
13. Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv pod red. prof. A.N. Mironova, Tom I., M. Grif i K, 2013.
14. Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers: Exploratory IND Studies U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evolution and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2006.

Комаров Тимофей Николаевич - аспирант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, тел. +79153505627

Komarov Timofey N. - post-graduate student, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow, t.n.komarov@yandex.ru

Раменская Галина Владиславовна – д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Шохин Игорь Евгеньевич – к.фарм.н., ст. преподаватель, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Медведев Юрий Владимирович - кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Мидруев Егор Юрьевич - аспирант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Болдина Юлия Евгеньевна - интерн, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Львова Анна Александровна, интерн, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Смирнов Валерий Валерьевич - к.фарм.н., ст. преподаватель, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Петухов Алексей Евгеньевич – к.фарм.н., старший преподаватель, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

Ramenskaya Galina V. - PhD, professor, head of chair, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Shokhin Igor E. - PhD, lecturer, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Medvedev Yuriy V. - PhD, lecturer, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Midruev Egor Yu. - post-graduate student, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Boldina Yulia E. - intern, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Lvova Anna A. - intern, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Smirnov Valeriy V. - PhD, lecturer, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow

Petukhov Alexey E. - PhD, lecturer, Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow state medical university, Moscow