

Применение жидкостной хромато-масс-спектрометрии для определения семаглутида в сыворотке крови человека в клинических исследованиях фармакокинетики

П.К. Карнакова¹✉, p.karnakova@cpha.ru, Е.С. Ветрова¹, П.А. Карпова¹, А.Е. Князева¹, О.А. Арчакова¹, Н.С. Багаева¹, А.Н. Арефьева², В.В. Банко², И.Е. Макаренко², Т.Н. Комаров^{1,3,4}, И.Е. Шохин¹

¹ ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

² ЗАО «Фарм-Холдинг»; 198515, Россия, Санкт-Петербург, поселок Стрельна, ул. Связи, д. 34а

³ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет; 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14а

⁴ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы; 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Резюме

Введение. Препараты семаглутида являются важной терапевтической опцией для пациентов, страдающих сахарным диабетом 2-го типа и ожирением, в связи с их высокой эффективностью, а также ожидаемым ростом распространенности данных заболеваний. Соответственно, растет потребность в отечественных аналогах, требующих исследований биоэквивалентности. В настоящей публикации представлен опыт использования tandemной масс-спектрометрии в качестве альтернативы иммуноферментному анализу (ИФА) для количественного определения семаглутида в сыворотке крови в рамках исследования биоэквивалентности.

Цель. Разработать и валидировать методику количественного определения семаглутида в сыворотке крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС).

Материалы и методы. Пробоподготовка была основана на осаждении сыворотки крови человека смесью ацетонитрил-метанол. В качестве внутреннего стандарта был выбран лираглутид. Подвижная фаза включала 0,3%-ный раствор муравьиной кислоты в воде и ацетонитриле. Неподвижная фаза была представлена хроматографической колонкой Phenomenex Kinetex C₁₈, 100 × 3,0 мм, 5 мкм, 100 Å. Ионизацию семаглутида и лираглутида осуществляли в положительном режиме с помощью электроспрея. Детектирование проводили в режиме мониторинга множественных реакций.

Результаты. Методика продемонстрировала высокую правильность и прецизионность, с показателями относительной погрешности и относительного стандартного отклонения менее 15% для всех уровней контроля качества. Подтвержденные аналитические диапазоны составили 0,50–200,00 нг/мл и 1,00–800,00 нг/мл. В рамках исследований было проанализировано более 3 400 образцов от добровольцев. В сравнении с ИФА, ВЭЖХ-МС/МС обеспечивает более высокую селективность и воспроизводимость измерений.

Выводы. Разработана методика, обеспечивающая воспроизводимое количественное определение семаглутида в сыворотке крови. Методика была валидирована в соответствии с требованиями ЕАЭС и апробирована в рамках исследований биоэквивалентности препаратов семаглутида GP40331 (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия). Методика пригодна для проведения исследований фармакокинетики других препаратов семаглутида.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией, биоаналитические исследования, биоэквивалентность, валидация, количественное определение, иммуноферментный анализ

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке ООО «ГЕРОФАРМ».

Для цитирования: Карнакова ПК, Ветрова ЕС, Карпова ПА, Князева АЕ, Арчакова ОА, Багаева НС, Арефьева АН, Банко ВВ, Макаренко ИЕ, Комаров ТН, Шохин ИЕ. Применение жидкостной хромато-масс-спектрометрии для определения семаглутида в сыворотке крови человека в клинических исследованиях фармакокинетики. *Медицинский совет.* 2024;18(16):246–255. <https://doi.org/10.21518/ms2024-437>.

Конфликт интересов: Авторы П.К. Карнакова, Е.С. Ветрова, П.А. Карпова, А.Е. Князева, О.А. Арчакова, Н.С. Багаева, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин заявляют об отсутствии конфликта интересов. Авторы А.Н. Арефьева, В.В. Банко, И.Е. Макаренко являются сотрудниками ЗАО «Фарм-Холдинг», которое является подразделением ООО «ГЕРОФАРМ». Это никак не повлияло на результаты исследования и мнение авторов.

Application of liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of semaglutide in human serum in clinical pharmacokinetic studies

Polina K. Karnakova¹✉, p.karnakova@cpha.ru, Evgeniya S. Vetrova¹, Polina A. Karpova¹, Alina E. Knyazeva¹, Olga A. Archakova¹, Natalia S. Bagaeva¹, Anna N. Arefeva², Veniamin V. Banko², Igor E. Makarenko², Timofey N. Komarov^{1,3,4}, Igor E. Shohin¹

¹ LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia

² CJSC "Pharm Holding"; 34a, Svyazi St., Strelina Settlement, St Petersburg, 198515, Russia

³ St Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; 14a, Professor Popov St., St Petersburg, 197022, Russia

⁴ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; 6, Miklukho-Maklai St., Moscow, 117198, Russia

Abstract

Introduction. Semaglutide preparations are an important therapeutic option for patients suffering from type 2 diabetes mellitus and obesity due to their high efficacy and the expected increase in the prevalence of these diseases. Consequently, there is a growing need for the development of domestic analogs of semaglutide requiring bioequivalence studies. This study proposes the use of high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) as an alternative to the widely used immunoassay for the quantitative determination of semaglutide in human serum.

Aim. To develop and validate a method for the quantitative determination of semaglutide in human serum using HPLC-MS/MS.

Materials and methods. Serum sample preparation was based on protein precipitation using an acetonitrile-methanol mixture. Liraglutide was selected as the internal standard. The mobile phase consisted of 0.3% formic acid in water and acetonitrile. The stationary phase was represented by a Phenomenex Kinetex C₁₈ chromatographic column 100×3.0 mm, 5 μm, 100 Å. Ionization of semaglutide and liraglutide was performed in positive electrospray mode. Detection was carried out in multiple reaction monitoring mode (MRM).

Results. The method demonstrated high accuracy and precision, with relative error and relative standard deviation values of less than 15% across all quality control levels. The confirmed analytical ranges of the method were 0.50–200.00 ng/mL and 1.00–800.00 ng/mL. Over 3,400 volunteer samples were analyzed as part of the studies. Compared to the ELISA method, the proposed method provides higher selectivity and reproducibility of measurements.

Conclusions. The method has been developed that provides reproducible quantitative determination of semaglutide in human blood serum. The method was validated in accordance with EAEU requirements and was successfully applied in bioequivalence studies of semaglutide GP40331 (GEROPHARM LLC, Russia). The method is suitable for conducting pharmacokinetic studies of other semaglutide preparations.

Keywords: HPLC-MS/MS, bioanalytical studies, bioequivalence, validation, quantitative determination, ELISA

Acknowledgments. The study was sponsored by LLC "GEROPHARM".

For citation: Karnakova PK, Vetrova VS, Karpova PA, Knyazeva AE, Archakova OA, Bagaeva NS, Arefeva AN, Banko VV, Makarenko IE, Komarov TN, Shohin IE. Application of liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of semaglutide in human serum in clinical pharmacokinetic studies. *Meditsinskiy Sovet*. 2024;18(16):246–255. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2024-437>.

Conflict of interests: the authors Polina K. Karnakova, Evgeniya S. Vetrova, Polina A. Karpova, Alina E. Knyazeva, Olga A. Archakova, Natalia S. Bagaeva, Timofey N. Komarov, Igor E. Shohin declare no conflict of interest. The authors Anna N. Arefeva, Veniamin V. Banko, Igor E. Makarenko are employees of CJSC "Pharm Holding", which is a division of LLC "GEROPHARM". This did not in any way affect the results of the study or the opinion of the authors.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) представляет собой глобально распространенную неинфекционную эпидемию [1]. Рост заболеваемости, опередивший прогнозы ученых по количеству пациентов с СД на 10–12 лет, наравне с высокими показателями смертности от сопутствующих осложнений, а также вероятностью приобретения инвалидности на ранних стадиях развития патологии показывает острую медико-социальную значимость данного заболевания. По состоянию на начало 2023 г. на диспансерном учете в России состояло почти 5 млн пациентов с СД, из которых более 92% страдали сахарным диабетом 2-го типа (СД2) [2]. Однако результаты национального эпидемиологического исследования NATION выявили, что

реальная распространенность СД2 среди взрослого населения Российской Федерации на 54% превышает количество официально диагностированных случаев [3], что позволяет предположить, что фактическое число пациентов с СД2 может достигать 9 млн человек [4].

К основным факторам риска развития СД2 относят абдоминальное ожирение, повышающее вероятность заболеваемости в 8–15 раз в зависимости от наличия генетической предрасположенности [5]. В группу риска также входят люди с артериальной гипертензией, нарушениями липидного и углеводного обмена, включая отклонения в гликемическом контроле. В связи с этим лечение СД2, наряду с коррекцией образа жизни, включает применение лекарственных препаратов, направленных на нормализацию уровня глюкозы в крови, лечение сопутствующих

осложнений и их профилактику [6, 7]. Высокой эффективностью обладают агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), которые не только снижают уровень сахара в крови, но и способствуют снижению массы тела без риска гипогликемии [8]. Данный класс препаратов в отечественных и зарубежных клинических рекомендациях по лечению СД2 относят к приоритетным препаратам, особенно при высоком риске сердечно-сосудистых осложнений или хронической болезни почек, а также при непереносимости препаратов на основе ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа [7, 9, 10].

Семаглутид, являющийся аналогом ГПП-1 человека, относится к классу агонистов рецепторов ГПП-1. Благодаря высокой гомологичности с нативным пептидом (94%) и структурным модификациям, семаглутид демонстрирует повышенное сродство к альбумину при подкожном введении, а также обладает большей устойчивостью к ферментативной деградации по сравнению с его предшественником – лираглутидом [11, 12]. Это приводит к увеличению периода полувыведения семаглутида (155–183 ч), что позволяет снизить частоту его введения до 1 раза в неделю [11]. Ретроспективное исследование REALISE-DM, посвященное эффективности перехода с ежедневного приема лираглутида и дулаглутида на еженедельный прием семаглутида, показало значительное снижение уровня гликированного гемоглобина и индекса массы тела у пациентов с СД2, а также хорошую переносимость семаглутида [13].

Кроме основных показаний к применению семаглутида, таких как терапия СД2, ожирение и дислипидемия [14], была выявлена его эффективность в лечении неалкогольного стеатогепатита и нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера [15]. В испытаниях II и III фазы была доказана гепато- и нейропротекторная роль семаглутида у пациентов с указанными патологиями [16–18]. Однако полный спектр терапевтической эффективности семаглутида остается недостаточно изученным [17, 19], в то время как интерес к препарату продолжает расти. В связи с этим актуальным является вопрос увеличения объема производства и разработка воспроизведенных препаратов семаглутида, которая включает проведение исследований биоэквивалентности препаратов семаглутида, что должно повысить доступность данных препаратов на российском фармацевтическом рынке. Для проведения биоаналитических исследований семаглутида необходимо разработать и валидировать методику, пригодную для определения семаглутида в биологических образцах человека.

В настоящее время ограничено количество представленных в литературе биоаналитических методик, позволяющих провести количественное определение семаглутида в биообразцах человека. Большинство фармакокинетических исследований основывались на методе иммуноферментного анализа (ИФА) [20–23], который, несмотря на свою распространенность, имеет ряд существенных недостатков. В частности, метод ИФА не позволяет точно определить, находится ли целевой эпитоп в родительской молекуле семаглутида или его метаболитах, а также

склонен к перекрестной реактивности, что может приводить к завышению концентраций препарата в образцах. Кроме того, при использовании ИФА в фармакокинетических исследованиях возможно искажение результатов из-за матричного эффекта, что усложняет применение данного метода для количественного определения семаглутида в различных биологических матрицах [24–26].

Ранее нами было проведено исследование биоэквивалентности препарата семаглутида (1,34 мг/мл, раствор для подкожного введения), в ходе которого концентрации семаглутида определяли в образцах плазмы крови с помощью предварительно валидированного метода ИФА с использованием коммерчески доступных наборов KRIBIOLISA™ Semaglutide (Ozempic™) ELISA [20]. Основываясь на собственном опыте, мы можем подтвердить существенные ограничения в применении метода ИФА и использовании даже ранее апробированных ИФА-наборов, связанные в первую очередь с отсутствием межсерийной однородности у производителя, приведенного в исследовании [20, 27]. В связи с этим мы предлагаем отказаться от использования метода ИФА для количественного определения семаглутида в биологических образцах и перейти к методу высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС), который лишен этих недостатков.

За последнее десятилетие метод ВЭЖХ-МС/МС приобрел большую востребованность и является рекомендуемым методом для проведения исследований биоэквивалентности. Данный метод обладает высокой чувствительностью и воспроизводимостью данных, специфичностью в отношении анализируемого вещества, а также большой пропускной способностью, что позволяет успешно использовать его в ходе проведения биоаналитических исследований.

Целью настоящей работы является разработка и валидация методики количественного определения семаглутида в сыворотке крови человека с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС, а также апробация данной методики на аналитическом этапе фармакокинетических исследований. В ходе данного этапа проводится определение концентраций семаглутида в сыворотке крови добровольцев, участвующих в клинических исследованиях, после подкожного введения тестируемого препарата GP40331 (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и препарата сравнения Вегови® («Ново Нордиск А/С», Дания) в концентрациях 0,68 мг/мл (доза 0,25 мг) и 3,2 мг/мл (доза 0,5 мг).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы, стандартные образцы, биоматериалы и стандартные растворы

При проведении исследования использовались следующие реактивы, стандартные образцы (СО) и биоматериалы:

- метанол (класс “HPLC gradient grade”, Химмед, Россия);
- ацетонитрил (класс «ХЧ» ООО «Компонент-Реактив», Россия; класс “HPLC-S Gradient Grade”, Biosolve Chimie, Франция);

- муравьиная кислота (класс “98–100%, ACS”, Scharlab S.L., Испания);
- вода деминерализованная I класса, полученная с помощью системы Hydrolab R5 (Hydrolab, Польша);
- СО семаглутида (количественное содержание 99,70%, Sinoper-Allsino Biopharmaceutical Co., Ltd., Китай);
- СО внутреннего стандарта (ВС) лираглутида (количественное содержание 98,82%, Toronto Research Chemicals Inc., Канада);
- интактная сыворотка крови добровольцев, не содержащая анализируемое вещество и ВС;
- сыворотка крови добровольцев, принимающих участие в клинических исследованиях.

Были приготовлены стандартные растворы семаглутида и стандартные растворы лираглутида, который был выбран в качестве внутреннего стандарта (ВС). Для приготовления исходного стандартного раствора семаглутида и исходного стандартного раствора лираглутида точную навеску СО семаглутида/лираглутида количественно переносили в пластиковую мерную колбу и растворяли в метаноле до получения раствора с концентрацией 50000,00 нг/мл. Рабочие стандартные растворы семаглутида готовили путем разведения исходного стандартного раствора метанолом до получения растворов с заданными концентрациями, соответствующими концентрациям в модельных образцах в *табл. 1*. Рабочий стандартный раствор ВС лираглутида готовили

● **Таблица 1.** Концентрации семаглутида в калибровочных образцах и образцах контроля качества

● **Table 1.** Semaglutide concentrations at calibration levels and in quality control samples

Уровень		Концентрация семаглутида, нг/мл		
Аналитический диапазон		1,00–200,00 нг/мл	0,50–200,00 нг/мл	1,00–800,00 нг/мл
Калибровочные образцы	1 (LLOQ)	1,00	0,50	1,00
	2	2,50	1,00	5,00
	3	5,00	2,50	10,00
	4	10,00	5,00	25,00
	5	25,00	10,00	50,00
	6	50,00	25,00	100,00
	7	100,00	50,00	200,00
	8	150,00	100,00	400,00
	9	200,00	150,00	600,00
	10	–	200,00	800,00
Образцы контроля качества	L	3,00	1,50	3,00
	M1	6,00	6,00	24,00
	M2	30,00	30,00	120,00
	M3	120,00	120,00	480,00
	H	160,00	160,00	640,00

из исходного стандартного раствора лираглутида путем разведения метанолом до получения раствора с концентрацией 11000 нг/мл (для аналитического диапазона 1,00–200,00 нг/мл) и 33000,00 нг/мл (для аналитических диапазонов 0,50–200,00 нг/мл и 1,00–800,00 нг/мл).

Пробоподготовка образцов к анализу

К 100 мкл образца (калибровочного образца, образца контроля качества, образца интактной сыворотки крови), помещенного в микроцентрифужную пробирку Eppendorf Safe-Lock (Eppendorf, Германия) объемом 2,0 мл, аликвотировали 10 мкл рабочего стандартного раствора ВС лираглутида, затем проводили осаждение 300 мкл смеси ацетонитрил метанола (70:30, по объему). После этого перемешивали пробу на встряхивателе типа «Вортекс» в течение 10 сек и охлаждали в морозильной камере в течение 5 мин при температуре от -50 °C до -35 °C, затем центрифугировали в течение 15 мин с ускорением 12300 g. Далее, 320 мкл супернатанта переносили в 96-луночный полипропиленовый микропланшет Nunc® MicroWell® (Sigma-Aldrich, Дания), запечатывали покровным матом Nunc® (Sigma-Aldrich, Дания) и помещали в автосамплер хроматографа.

Аналитическое оборудование

Хроматографическое разделение проводилось на высокоэффективном жидкостном хроматографе Nexera XR (Shimadzu Corporation, Япония). Для масс-спектрометрического анализа использовался tandemный масс-селективный детектор с тройным квадруполем LCMS-8040 (Shimadzu Corporation, Япония). Первичная обработка данных осуществлялась с использованием программного обеспечения LabSolutions версии 5.91 (Shimadzu Corporation, Япония).

Хроматографическое разделение и детектирование

Для хроматографического разделения использовалась колонка Phenomenex Kinetex C₁₈, 100 × 3,0 мм, 5 мкм, 100 Å (Phenomenex, США). Температура в термостате колонки поддерживалась на уровне 40 °C. В качестве элюентов подвижной фазы были выбраны 0,3%-ный раствор муравьиной кислоты в воде (по объему, элюент А) и 0,3%-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (по объему, элюент В). Элюирование проводилось в градиентном режиме при постоянной скорости потока 1,00 мл/мин. Градиент подвижной фазы: 0,00 – 2,00 мин – 5% элюента В; 2,00 – 5,00 мин – от 5 до 100% элюента В; 5,00 – 9,00 мин – 100% элюента В; 9,00 – 9,05 мин – от 100 до 5% элюента В, 9,05 – 12,00 мин – 5% элюента В. В инжектор вводилось по 20 мкл образца.

Для ионизации вещества был выбран источник ионизации электроспрей (electrospray ionization, ESI). Параметры масс-спектрометрического детектирования представлены в *табл. 2*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время существует ограниченное количество публикаций, описывающих методики количественного определения семаглутида в биологических образцах человека. В данной работе нами была разработана

● **Таблица 2.** Параметры детектирования семаглутида и лираглутида
 ● **Table 2.** Semaglutide and liraglutide detection parameters

Вещество	Режим ионизации	Напряжение на игле	Условия детектирования, m/z	Распыляющий газ	Осушающий газ	Блок нагрева	Линия десольватации
Семаглутид	+	+ 4,5 кВ	1029,20 → 136,00 1029,20 → 1109,75 1029,20 → 1237,80 1029,20 → 1302,80 1029,20 → 1359,00	3 л/мин	20 л/мин	400 °C	250 °C
Лираглутид	+	+ 4,5 кВ	938,45 → 1064,05 938,45 → 1128,30				

методика количественного определения семаглутида методом ВЭЖХ-МС/МС в сыворотке крови человека.

Метод ВЭЖХ-МС/МС считается предпочтительным для анализа пептидных веществ благодаря своей высокой чувствительности и селективности, что подтверждается рядом исследований [28–31].

В качестве внутреннего стандарта был выбран лираглутид, поскольку он обладает сходными физико-химическими свойствами и структурой с семаглутидом. Несмотря на то что в некоторых исследованиях в качестве внутреннего стандарта использовались другие вещества, например инсулин [31], мы пришли к выводу, что лираглутид является наиболее подходящим выбором.

Глутиды, будучи многозарядными пептидными молекулами, обладают склонностью к адсорбции на стеклянных и пластиковых поверхностях [24, 31, 32]. Мы также столкнулись с данной проблемой и приняли меры по ее устранению. В литературе, например в статье, посвященной определению лираглутида в плазме крови крыс методом ВЭЖХ-МС/МС, для повышения стабильности анализируемых веществ и улучшения линейности методики использовали ацетат аммония, который, как утверждают авторы, снижает адсорбцию пептидов [33]. Однако в ходе нашей работы добавление ацетата аммония в растворы и элюенты не помогло снизить адсорбцию пептидов на стекле и ухудшило вид хроматографических пиков. Для минимизации адсорбции мы заменили стеклянную посуду на полипропиленовую при приготовлении стандартных растворов и использовали полипропиленовые планшеты вместо кварцевых хроматографических виал. Кроме того, было установлено, что элюенты с повышенным содержанием муравьиной кислоты снижают степень адсорбции, поэтому мы использовали элюенты с концентрацией 0,3% муравьиной кислоты в воде и ацетонитриле.

При выборе источника ионизации нами были протестированы несколько вариантов, включая ESI, химическую ионизацию при атмосферном давлении (atmospheric-pressure chemical ionization, APCI), а также двойной источник ионизации, объединяющий ESI и APCI (dual ion source, DUIS). Согласно литературным данным, ESI является предпочтительным способом ионизации для многозарядных ионов и пептидов, что подтвердилось и в нашей работе [31, 33].

Для хроматографического разделения глутидов авторы используют специальные колонки для работы

с пептидными молекулами [24, 33]. Однако мы доказали, что это не является обязательным условием для работы с семаглутидом и лираглутидом. Мы протестировали колонки Phenomenex Jupiter C₁₈ (250 × 4,6 мм, 5 мкм, 300 Å) и Phenomenex Kinetex C₁₈ (100 × 3,0 мм, 5 мкм, 100 Å). На основе полученных данных была выбрана колонка Kinetex C₁₈, которая обеспечила оптимальное сочетание времени анализа и качества разделения.

В ходе разработки методики были рассмотрены различные подходы к пробоподготовке, включая осаждение белков с использованием различных органических растворителей. Наилучшие результаты были получены с использованием смеси ацетонитрил метанол (70:30, по объему), что позволило достичь высокой чувствительности методики (нижний предел количественного определения (НПКО) на уровне 0,50 нг/мл) аналогично ранее опубликованным исследованиям [34]. Мы полагаем, что для достижения еще большей чувствительности методики может потребоваться использование дополнительных методов, таких как твердофазная экстракция (ТФЭ).

ВАЛИДАЦИЯ

В соответствии с требованиями правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза¹, а также на основе рекомендаций зарубежных руководств FDA² и EMA³ разработанная методика была полностью валидирована в рамках 1–3 валидационных циклов до начала аналитического этапа исследования по параметрам: калибровочная кривая, НПКО, селективность, эффект переноса, правильность и прецизионность внутри каждого валидационного цикла и между циклами, степень извлечения, эффект матрицы и пригодность стандартного образца. Помимо этого, в рамках полной валидации были оценены следующие виды стабильности:

1) краткосрочная (стабильность свежеприготовленных проб);

2) постпрепаративная (стабильность проб в течение не менее 56 ч в условиях хранения при температуре 15 °C);

¹ Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456026107/>.

² Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry/>.

³ Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation/>.

3) стабильность исходных и рабочих стандартных растворов семаглутида и лираглутида (в течение не более 3 дней в условиях хранения при температуре от -50 °С до -35 °С);

4) стабильность биообразцов в результате прохождения 3 циклов разморозки при комнатной температуре и заморозки при температуре от -50 °С до -35 °С;

5) долгосрочная стабильность семаглутида в биообразцах (первый этап оценки): в течение не менее 3 дней при хранении в температурных диапазонах от -85 °С до -65 °С, от -50 °С до -35 °С и от -25 °С до -15 °С;

6) долгосрочная стабильность семаглутида в биообразцах (второй этап оценки): в течение не менее 66 дней (для дозы семаглутида 0,25 мг) и не менее 76 дней (для дозы семаглутида 0,5 мг) при хранении в температурных диапазонах от -85 °С до -65 °С, от -50 °С до -35 °С и от -25 °С до -15 °С.

При проведении валидации методики количественного определения семаглутида в сыворотке крови было использовано несколько аналитических диапазонов. Была проведена полная валидация методики с аналитическим диапазоном 1,00–200,00 нг/мл. Далее, в связи с необходимостью в корректировке верхнего предела количественного определения была проведена частичная валидация по параметрам «калибровочная кривая, эффект переноса, правильность и прецизионность». Подтвержденный аналитический диапазон составил 1,00–800,00 нг/мл. В рамках данного диапазона проходила аналитическая часть исследования препарата семаглутида в дозе 0,5 мг (для концентрации семаглутида 3,2 мг/мл). Далее, для проведения аналитической части исследования препарата семаглутида в дозе 0,25 мг (для концентрации семаглутида 0,68 мг/мл) потребовалось дополнительно скорректировать аналитический диапазон за счет снижения НПКО методики до 0,50 нг/мл, для того чтобы соответствовать требованиям нормативной документации по следующему критерию: значение НПКО не должно превышать 5% от минимального значения C_{max} . Была проведена частичная валидация по параметрам «калибровочная кривая, НПКО, селективность, правильность и прецизионность».

Калибровочные кривые для выбранных диапазонов были построены на основе отношения площадей пиков

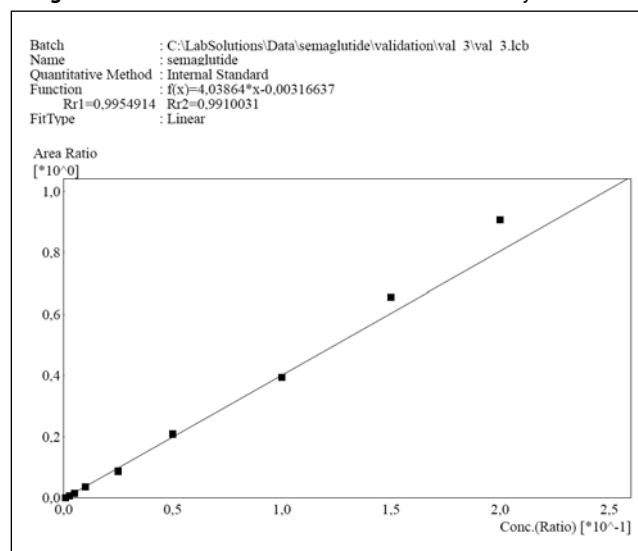
семаглутида и ВС лираглутида от отношения их концентраций и имели линейный вид. Пример линейного калибровочного графика для 3-го валидационного цикла (аналитический диапазон 1,00–200,00 нг/мл) представлен на *рис. 1*. На *рис. 2* представлены хроматограммы модельных образцов на уровне НПКО.

Оценка селективности методики и эффекта переноса была основана на сравнении значений сигналов анализируемого вещества и ВС на холостых образцах и образцах, приготовленных на уровне НПКО. В ходе изучения селективности проводили анализ проб, приготовленных на основе интактной, гемолизной и гиперлипидемической сыворотки крови. Пригодность стандартного образца определялась дополнительно с использованием проб, не содержащих анализируемое вещество или ВС.

Степень извлечения рассчитывали путем сравнения площадей пиков семаглутида и ВС до и после их экстракции из сыворотки (интактной, гемолизной, гиперлипидемической). Отсутствие влияния биологической матрицы на количественное определение семаглутида и лираглутида было доказано путем сопоставления

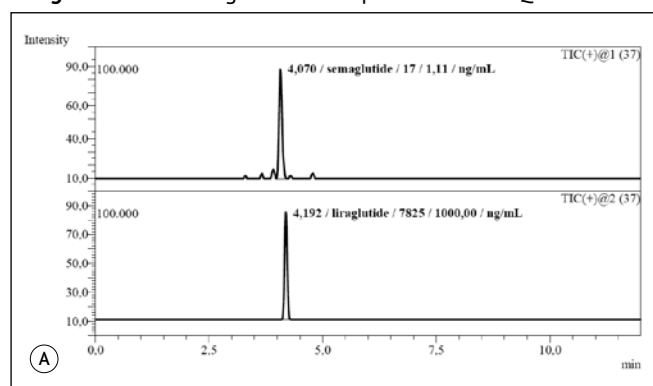
● **Рисунок 1.** Калибровочный график 3-го валидационного цикла

● **Figure 1.** Calibration curve of the 3rd validation cycle

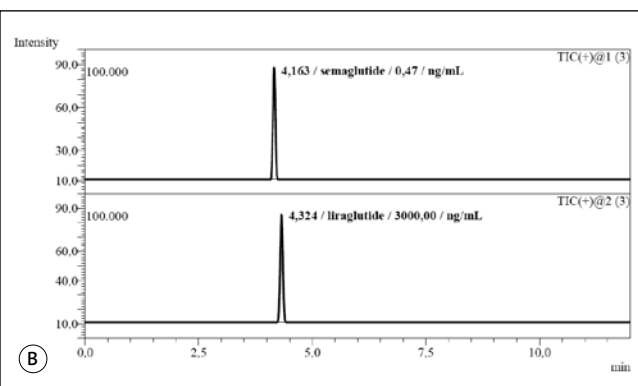


● **Рисунок 2.** Хроматограммы модельных образцов на уровне нижнего предела количественного определения

● **Figure 2.** Chromatograms of samples at the LLOQ level



А – образец на уровне 1,00 нг/мл, В – на уровне 0,50 нг/мл



сигнала анализируемого вещества и ВС в пробах, приготовленных с учетом и без учета биологической матрицы (интактной, гемолизной, гиперлипидемической сыворотки крови).

Правильность и прецизионность были определены по результатам анализа пяти образцов для каждого уровня контроля качества и НПКО (образцы LLOQ, L, M1, M2, M3, H) (табл. 1) внутри каждого валидационного цикла. Помимо этого, было проведено сравнение полученных результатов оценки правильности и прецизионности между разными валидационными циклами для всех концентраций уровней контроля качества и НПКО, использовавшихся в исследовании. Правильность оценивалась по результатам рассчитанного значения относительной погрешности (E, %), прецизионность – по полученному значению относительного стандартного отклонения (RSD, %).

Результаты оценки всех валидационных параметров, исследуемых в рамках пяти валидационных циклов, соответствовали критериям приемлемости. В табл. 3 приведены рассчитанные данные, полученные в ходе изучения калибровочной кривой, правильности и прецизионности при проведении полной и частичной валидаций, вместе с соответствующими критериями приемлемости.

ПРИМЕНЕНИЕ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ

Разработанная и валидированная нами методика была успешно апробирована в двух исследованиях по изучению сравнительной фармакокинетики, биоэквивалентности, безопасности и переносимости препаратов, содержащих семаглутид, – GP40331 и Вегови® в концентрациях 0,68 мг/мл (доза 0,25 мг) и 3,2 мг/мл (доза 0,5 мг) у здоровых добровольцев.

В рамках двух проведенных фармакокинетических исследований было проанализировано более 3 400 образцов от добровольцев. В каждом из фармакокинетических исследований был проведен повторный выборочный анализ 5–10% образцов от добровольцев с целью определения сопоставимости результатов первичного и повторного анализов. Относительная погрешность результатов анализов не превышала 20% не менее чем для 85,29% и 90,44% проб, что соответствует требованиям нормативной документации и подтверждает воспроизводимость результатов. На рис. 3 приведены хроматограммы анализа образцов сыворотки крови добровольцев, принимавших участие в данных исследованиях, после введения препарата в дозе 0,25 мг и в дозе 0,5 мг соответственно.

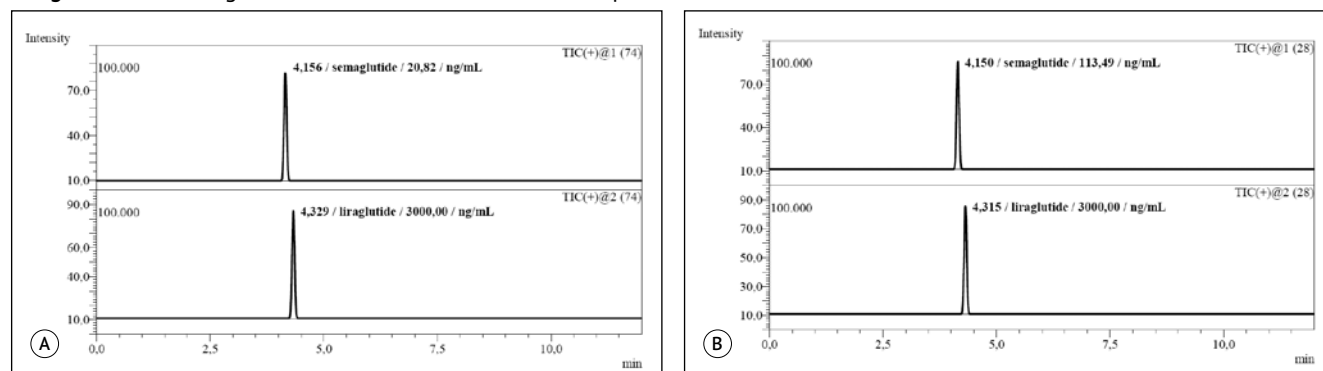
● **Таблица 3.** Выборочные результаты проведения полной и частичной валидации

● **Table 3.** Selected results of full and partial validation

Валидационный параметр	Результат оценки параметра при полной валидации	Результат оценки параметра при частичной валидации		Критерий приемлемости
	Аналитический диапазон: 1,00–200,00 нг/мл	Аналитический диапазон: 0,50–200,00 нг/мл	Аналитический диапазон: 1,00–800,00 нг/мл	
Калибровочная кривая	-14,70 % ≤ E ≤ 14,11 %	-10,80 % ≤ E ≤ 13,14 %	-14,77 % ≤ E ≤ 10,80 %	-15,00 % ≤ E ≤ 15,00 %; -20,00 % ≤ E ≤ 20,00 % (для НПКО)
Правильность внутри цикла	-10,34 % ≤ E ≤ 14,10 %	-3,95 % ≤ E ≤ 2,80 %	-11,27 % ≤ E ≤ 12,60 %	
Правильность между циклами	-6,76 % ≤ E ≤ 11,11 %	-10,99 % ≤ E ≤ 10,90 %	-10,99 % ≤ E ≤ 10,90 %	
Прецизионность внутри цикла	RSD ≤ 14,92 %	RSD ≤ 10,36 %	RSD ≤ 9,88 %	RSD ≤ 15,00 %; RSD ≤ 20,00 % (для НПКО)
Прецизионность между циклами	RSD ≤ 13,42 %	RSD ≤ 12,39 %	RSD ≤ 12,39 %	

● **Рисунок 3.** Хроматограммы образцов сыворотки крови добровольцев

● **Figure 3.** Chromatograms of volunteer's blood serum samples



A – спустя 10 ч после введения препарата семаглутида в дозе 0,25 мг; B – спустя 96 ч после введения препарата семаглутида в дозе 0,5 мг

Результаты исследований фармакокинетики препаратов GP40331 и Вегови® в концентрациях 0,68 мг/мл (доза 0,25 мг) и 3,2 мг/мл (доза 0,5 мг) у здоровых добровольцев были опубликованы в отдельной работе [35].

ВЫВОДЫ

В ходе настоящего исследования была разработана и валидирована ВЭЖХ-МС/МС- методика для количественного определения семаглутида в сыворотке крови человека. Валидация методики проводилась в соответствии с требованиями нормативной документации по проведению исследований биоэквивалентности, действующими на

территории Российской Федерации, а также с учетом международных рекомендаций. Данная методика была успешно применена в двух биоаналитических исследованиях по изучению биоэквивалентности препаратов GP40331 (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Вегови® (Ново Нордиск А/С, Дания) в концентрациях 0,68 мг/мл и 3,2 мг/мл. Методика обеспечивает воспроизводимое количественное определение семаглутида в сыворотке крови и может использоваться для проведения фармакокинетических исследований других препаратов семаглутида.



Поступила / Received 20.08.2024

Поступила после рецензирования / Revised 15.09.2024

Принята в печать / Accepted 15.09.2024

Список литературы / References

- Gregg E, Buckley J, Ali MK, Davies J, Flood D, Mehta R et al. Improving health outcomes of people with diabetes mellitus: global target setting to reduce the burden of diabetes mellitus by 2030. *Lancet*. 2023;401(10384):1302–1312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00001-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00001-6).
- Викулова ОК, Дедов ИИ, Шестакова МВ, Железнякова АВ, Исаков МА, Сазонова ДВ, Мокрышева НГ. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010–2022 гг. *Сахарный диабет*. 2023;26(2):104–123. <https://doi.org/10.14341/DM13035>. Vikulova OK, Dedov II, Shestakova MV, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Sazonova DV, Mokrysheva NG. Diabetes mellitus in the Russian Federation: dynamics of epidemiological indicators according to the Federal Register of Diabetes Mellitus for the period 2010–2022. *Diabetes Mellitus*. 2023;26(2):104–123. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/DM13035>.
- Дедов ИИ, Шестакова МВ, Галстян ГР. Распространенность сахарного диабета 2-го типа у взрослого населения России (исследование NATION). *Сахарный диабет*. 2016;19(2):104–112. <https://doi.org/10.14341/DM2004116-17>. Dedov II, Shestakova MV, Galstyan GR. The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study). *Diabetes Mellitus*. 2016;19(2):104–112. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/DM2004116-17>.
- Дедов ИИ, Шестакова МВ, Майоров АО, Шамхалова МШ, Сухарева ОЮ, Галстян ГР и др. Сахарный диабет 2-го типа у взрослых: клинические рекомендации. М.; 2018. 228 с. Режим доступа: https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/specialists/science/clinic-recommendations/saharnyy_diabet_2_tipa_u_vzroslykh.pdf.
- Шестакова МВ, Шестакова ЕА, Скляник ИА, Стафеев ЮС. Ожирение и сахарный диабет-всегда ли вместе? *Терапевтический архив*. 2022;94(10):1131–1135. <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.10.201880>. Shestakova MV, Shestakova EA, Sklyanik IA, Stafeyev IuS. Obesity and diabetes – are they always together? *Terapevticheskii Arkhiv*. 2022;94(10):1131–1135. (In Russ.) <https://doi.org/10.26442/00403660.2022.10.201880>.
- Nauck MA, Wefers J, Meier JJ. Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(8):525–544. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00113-3).
- Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019;74(10):e177–e232. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.03.010>.
- Шестакова МВ, Шамхалова МШ, Галстян ГР, Рутякина ЛА. Пероральный семаглутид – новая инновационная опция в терапии сахарного диабета 2-го типа. *Сахарный диабет*. 2021;24(3):273–281. <https://doi.org/10.14341/DM12790>. Shestakova MV, Shamkhalova MSh, Galsyan GR, Ruyankina LA, Suplotova LA. Oral semaglutide: the innovation in type 2 diabetes management. *Diabetes Mellitus*. 2021;24(3):273–281. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/DM12790>.
- «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 9-й выпуск. *Сахарный диабет*. 2019;22(151):1–144. <https://doi.org/10.14341/DM2019151>. "Algorithms of specialized medical care for patients with diabetes mellitus" edited by I.I. Dedov, M.V. Shestakova, A.Yu. Mayorov. 9th edition. *Diabetes Mellitus*. 2019;22(151):1–144. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/DM2019151>.
- ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D et al. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of care in diabetes – 2023. *Diabetes Care*. 2023;46(1 Suppl.):S140–S157. <https://doi.org/10.2337/dc23-S009>.
- Кобалава ЖД, Кохан ЕВ. Семаглутид в терапии сахарного диабета 2-го типа: доказательная база, кардиопротективные механизмы и клинические рекомендации. *Кардиология*. 2020;60(9):122–133. <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.9.n1274>. Kobalava ZhD, Kokhan EV. Semaglutide for the Management of type 2 Diabetes: Clinical Evidence, Cardioprotective Effects, and Guidelines. *Kardiologiya*. 2020;60(9):122–133. (In Russ.) <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.9.n1274>.
- Карпов ЮА, Старостина ЕГ. Семаглутид (Оземпик) с точки зрения эндокринолога и кардиолога: возможности аналогов глюкагоноподобного пептида-1 далеко не исчерпаны. *Атмосфера. Новости кардиологии*. 2019;(4):3–17. Режим доступа: https://atmosphere-ph.ru/modules/Magazines/articles/cardio/ac_4_2019_03.pdf. Karpov YuA, Starostina EG. Semaglutide (Ozempic) from the point of view of endocrinologist and cardiologist: the possibilities of glucagon-like peptide-1 analogues are far from exhausted. *Atmosphere. Cardiology News*. 2019;(4):3–17. (In Russ.) Available at: https://atmosphere-ph.ru/modules/Magazines/articles/cardio/ac_4_2019_03.pdf.
- Jain AB, Kanters S, Khurana R, Kisseck J, Severin N, Stafford SG. Real-world effectiveness analysis of switching from liraglutide or dulaglutide to semaglutide in patients with type 2 diabetes mellitus: the retrospective REALISE-DM study. *Diabetes Ther*. 2021;12(2):527–536. <https://doi.org/10.1007/s13300-020-00984-x>.
- Lau DC, Batterham RL, le Roux CW. Pharmacological profile of once-weekly injectable semaglutide for chronic weight management. *Exp Rev Clin Pharmacol*. 2022;15(3):251–268. <https://doi.org/10.1080/17512433.2022.2070473>.
- Mahapatra MK, Karuppasamy M, Sahoo BM. Therapeutic potential of semaglutide, a newer GLP-1 receptor agonist, in abating obesity, non-alcoholic steatohepatitis and neurodegenerative diseases: A narrative review. *Pharm Res*. 2022;39(6):1233–1248. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03302-1>.
- Wang ZJ, Li XR, Chai SF, Li WR, Li S, Hou M et al. Semaglutide ameliorates cognition and glucose metabolism dysfunction in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease via the GLP-1R/SIRT1/GLUT4 pathway. *Neuropharmacology*. 2023;240:109716. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109716>.
- Atri A, Feldman HH, Hansen CT, Honore JB, Johannsen P, Knop FK et al. Evoke and evoke+: design of two large-scale, double-blind, placebo-controlled, phase 3 studies evaluating the neuroprotective effects of semaglutide in early Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2022;18:e062415. <https://doi.org/10.1002/alz.062415>.
- Scheltens P, Atri A, Feldman H, Hansson O, Knop F, Sano M et al. Baseline Characteristics from Evoke and Evoke+: Two Phase 3 Randomized Placebo-controlled Trials of Oral Semaglutide in Patients with Early Alzheimer's Disease (P11-9.013). *Neurology*. 2024;102(1):3350. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000205079>.
- Tzoulis P, Baldeweg SE. Semaglutide for weight loss: unanswered questions. *Front Endocrinol*. 2024;15:1382814. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1382814>.

20. Аметов АС, Шохин ИЕ, Рогожина ЕА, Бодрова ТГ, Невретдинова МЕ, Белый ПА и др. Сравнительный анализ физико-химических свойств, биоэквивалентности, безопасности и переносимости отечественного семаглутида. *Фармация и фармакология*. 2023;11(4):324–346. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2023-11-4-324-346>.
- Ametov AS, Shokhin IE, Rogozhina EA, Bodrova TG, Nevretdinova ME, Bely PA et al. Comparative analysis of physicochemical properties, bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic semaglutide. *Farmatsiya i Farmakologiya*. 2023;11(4):324–346. (In Russ.) <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2023-11-4-324-346>.
21. Wang L, Ding J, Zhu C, Guo B, Yang W, He W et al. Semaglutide attenuates seizure severity and ameliorates cognitive dysfunction by blocking the NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome in pentylenetetrazole-kindled mice. *Int J Mol Med*. 2021;48(6):1–15. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.5052>.
22. Schneider EL, Hangasky JA, Fernandez RDV, Ashley GW, Santi DV. The limitation of lipidation: conversion of semaglutide from once-weekly to once-monthly dosing. *bioRxiv*. 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.08.10.607458>.
23. Арефьева АН, Банко ВВ, Садовских МО, Носков СМ. Первый препарат семаглутида в Российской Федерации: результаты открытого рандомизированного исследования фармакокинетики. *Медицинский совет*. 2023;17(16):77–82. <https://doi.org/10.21518/ms2023-312>.
- Arefeva AN, Banko VV, Sadovskikh MO, Noskov SM. Pharmacokinetics of first semaglutide drug in Russian Federation: results of open-label randomized clinical trial. *Meditsinskiy Sovet*. 2023;17(16):77–82. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2023-312>.
24. Oh HS, Choi M, Lee TS, An Y, Park EJ, Kim TH et al. Pharmacokinetics and brain distribution of the therapeutic peptide liraglutide by a novel LC–MS/MS analysis. *J Anal Sci Technol*. 2023;14(1):19. <https://doi.org/10.1186/s40543-023-00382-5>.
25. Liu D, Gu J, Shao W, Pang J, Qian X, Jin T. Comparison of beneficial metabolic effects of liraglutide and semaglutide in male C57BL/6J mice. *Can J Diabetes*. 2022;46(3):216–224. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2021.08.012>.
26. Petralli G, Raggi F, Zoppo AD, Rovera C, Salvati A, Brunetto MR, Solini A. Response to semaglutide of non-drinker subjects with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2024;16(1):103. <https://doi.org/10.1186/s13098-024-01344-6>.
27. Аметов АС, Шохин ИЕ, Рогожина ЕА, Бодрова ТГ, Невретдинова МЕ, Белый ПА и др. Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3):255–276. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276>.
- Ametov AS, Shokhin IE, Rogozhina EA, Bodrova TG, Nevretdinova ME, Bely PA et al. Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide. *Farmatsiya i Farmakologiya*. 2023;11(3):255–276. (In Russ.) <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276>.
28. Ahmed A, Zafar SB, Zafar SHA, Gondal A. Development of reverse phase ultra-high performance liquid chromatography for the identification of semaglutide. *Pakistan J Sci*. 2024;76(2):328–334. <https://doi.org/10.57041/pjs.v76i02.1162>.
29. Vollmer AC, Waggmann L, Weber AA, Meyer MR. Simultaneous analysis of antihyperglycemic small molecule drugs and peptide drugs by means of dual liquid chromatography high-resolution mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med*. 2023;61(7):1300–1308. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1316>.
30. Pinho AR, Fortuna A, Falcão A, Santos AC, Seica R, Esteves C et al. Comparison of ELISA and HPLC-MS methods for the determination of exenatide in biological and biotechnology-based formulation matrices. *J Pharm Anal*. 2019;9(3):143–155. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.02.001>.
31. John H, Walden M, Schäfer S, Genz S, Forssmann WG. Analytical procedures for quantification of peptides in pharmaceutical research by liquid chromatography–mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2004;378(4):883–897. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-2298-y>.
32. Lee TS, Park EJ, Choi M, Oh HS, An Y, Kim T et al. Novel LC-MS/MS analysis of the GLP-1 analog semaglutide with its application to pharmacokinetics and brain distribution studies in rats. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2023;1221:123688. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123688>.
33. Dong S, Gu Y, Wei G, Si D, Liu C. Determination of liraglutide in rat plasma by a selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method: Application to a pharmacokinetics study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018;1091:29–35. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.05.020>.
34. Arbouche N, Blanchot A, Raul JS, Kintz P. Semaglutide and health risk: Development and validation of a LC-HRMS method for testing semaglutide in whole blood and application to real cases. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2024;1242:124187. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124187>.
35. Носков СМ, Арефьева АН, Банко ВВ, Радаева КС, Gefen МЛ, Арчакова ОА и др. Препарат семаглутида для лечения ожирения: результаты двух открытых рандомизированных исследований фармакокинетики. *Медицинский совет*. 2024;18(16):8–14. <https://doi.org/10.21518/ms2024-346>.
- Noskov SM, Arefeva AN, Banko VV, Radaeva KS, Gefen ML, Archakova OA et al. Semaglutide for the treatment of obesity: results of two open randomized pharmacokinetic studies. *Meditsinskiy Sovet*. 2024;18(16):8–14. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2024-346>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – П.К. Карнакова, О.А. Арчакова, И.Е. Макаренко, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин

Написание текста – П.К. Карнакова, Е.С. Ветрова

Разработка методики – П.К. Карнакова, О.А. Арчакова, Т.Н. Комаров

Валидационный и аналитическая часть исследования – П.К. Карнакова, Е.С. Ветрова, П.А. Карпова, А.Е. Князева, О.А. Арчакова, Т.Н. Комаров

Организационная часть биоаналитического исследования – Макаренко И.Е., О.А. Арчакова, А.Н. Арефьева, В.В. Банко, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин

Обсуждение результатов – И.Е. Макаренко, О.А. Арчакова, Н.С. Багаева, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин

Сбор и обработка материала – П.К. Карнакова, Е.С. Ветрова

Обзор литературы – П.К. Карнакова, Е.С. Ветрова

Редактирование – П.К. Карнакова, А.Н. Арефьева, В.В. Банко, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин

Утверждение окончательного варианта статьи – А.Н. Арефьева, В.В. Банко, И.Е. Макаренко, Т.Н. Комаров, И.Е. Шохин

Contribution of authors:

Concept of the article – Polina K. Karnakova, Olga A. Archakova, Igor E. Makarenko, Timofey N. Komarov, Igor E. Shokhin

Text development – Polina K. Karnakova, Evgeniya S. Vetrova

Method development – Polina K. Karnakova, Olga A. Archakova, Timofey N. Komarov

Validation and analytical part of the study – Polina K. Karnakova, Evgeniya S. Vetrova, Polina A. Karpova, Alina E. Knyazeva, Olga A. Archakova, Timofey N. Komarov

Organizational part of the bioanalytical research – Igor E. Makarenko, Olga A. Archakova, Anna N. Arefeva, Veniamin V. Banko, Timofey N. Komarov, Igor E. Shokhin

Discussion of results – Igor E. Makarenko, Olga A. Archakova, Natalia S. Bagaeva, Timofey N. Komarov, Igor E. Shokhin

Collection and processing of materials – Polina K. Karnakova, Evgeniya S. Vetrova

Literature review – Polina K. Karnakova, Evgeniya S. Vetrova

Editing – Polina K. Karnakova, Anna N. Arefeva, Veniamin V. Banko, Timofey N. Komarov, Igor E. Shokhin

Approval of the final version of the article – Anna N. Arefeva, Veniamin V. Banko, Igor E. Makarenko, Timofey N. Komarov, Igor E. Shokhin

Информация об авторах:

Карнакова Полина Константиновна, и.о. старшего химика-аналитика лаборатории биоаналитических исследований исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0002-7518-0777>; p.karnakova@cpha.ru

Ветрова Евгения Сергеевна, химик-аналитик лаборатории биоаналитических исследований исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0003-2219-5964>; e.vetrova@cpha.ru

Карпова Полина Андреевна, химик-аналитик лаборатории биоаналитических исследований исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0001-6777-5976>; p.karpova@cpha.ru

Князева Алина Евгеньевна, младший химик-аналитик лаборатории биоаналитических исследований исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0009-0009-1985-6590>; a.knyazeva@cpha.ru

Арчакова Ольга Александровна, заведующая лабораторией биоаналитических исследований исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>; o.archakova@cpha.ru

Багаева Наталья Сергеевна, руководитель отдела биостатистики исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; n.bagaeva@cpha.ru

Арефьева Анна Николаевна, медицинский научный советник, ЗАО «Фарм-Холдинг»; 198515, Россия, Санкт-Петербург, поселок Стрельна, ул. Связи, д. 34а; <https://orcid.org/0000-0003-3178-3581>; Anna.Arefeva@geropharm.com

Банко Вениамин Валерьевич, младший медицинский научный советник, ЗАО «Фарм-Холдинг»; 198515, Россия, Санкт-Петербург, поселок Стрельна, ул. Связи, д. 34а; <https://orcid.org/0000-0002-4738-1969>; Veniamin.Banko@geropharm.com

Макаренко Игорь Евгеньевич, к.м.н., руководитель медицинского департамента, ЗАО «Фарм-Холдинг»; 198515, Россия, Санкт-Петербург, поселок Стрельна, ул. Связи, д. 34а; <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>; Igor.Makarenko@geropharm.com

Комаров Тимофей Николаевич, к.фарм.н., директор исследовательского центра, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет; 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14а; начальник отдела фармацевтических технологий НОРЦ «Фармация», Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы; 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; t.komarov@cpha.ru

Шохин Игорь Евгеньевич, д.фарм.н., генеральный директор, ООО «Центр фармацевтической аналитики»; 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8; <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>; i.shohin@cpha.ru

Information about the authors:

Polina K. Karnakova, Acting Senior Analytical Chemist at the Bioanalytical Research Laboratory of the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7518-0777>; p.karnakova@cpha.ru

Evgeniya S. Vetrova, Analytical Chemist at the Bioanalytical Research Laboratory of the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2219-5964>; e.vetrova@cpha.ru

Polina A. Karpova, Analytical Chemist at the Bioanalytical Research Laboratory of the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6777-5976>; p.karpova@cpha.ru

Alina E. Knyazeva, Junior Analytical Chemist at the Bioanalytical Research Laboratory of the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0009-0009-1985-6590>; a.knyazeva@cpha.ru

Olga A. Archakova, Head of the Bioanalytical Research Laboratory, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>; o.archakova@cpha.ru

Natalia S. Bagaeva, Head of the Biostatistics Department at the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; n.bagaeva@cpha.ru

Anna N. Arefeva, Medical Advisor, CJSC "Pharm Holding"; 34a, Svyazi St., Strelina Settlement, St Petersburg, 198515, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3178-3581>; Anna.Arefeva@geropharm.com

Veniamin V. Banko, Junior Medical Advisor, CJSC "Pharm Holding"; 34a, Svyazi St., Strelina Settlement, St Petersburg, 198515, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4738-1969>; Veniamin.Banko@geropharm.com

Igor E. Makarenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Medical Department, CJSC "Pharm Holding"; 34a, Svyazi St., Strelina Settlement, St Petersburg, 198515, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>; Igor.Makarenko@geropharm.com

Timofey N. Komarov, Cand. Sci. (Pharm.), Director of the Research Center, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, St Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; 14a, Professor Popov St., St Petersburg, 197022, Russia; Head of the Department of Pharmaceutical Technologies of the Scientific and Educational Resource Centre "Pharmacy", Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; 6, Miklukho-Maklai St., Moscow, 117198, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; t.komarov@cpha.ru

Igor E. Shohin, Dr. Sci. (Pharm.), Chief Executive Officer, LLC "Center of Pharmaceutical Analytics"; 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>; i.shohin@cpha.ru