

*На правах рукописи*



**КАРНАКОВА**  
**Полина Константиновна**

**БИОАНАЛИТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ  
ПРЕПАРАТОВ – ПРОИЗВОДНЫХ МАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург  
2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

**Комаров Тимофей Николаевич** доктор фармацевтических наук

Официальные оппоненты:

**Селиванова Ирина Анатольевна** доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), профессор кафедры химии

**Белоусов Михаил Валерьевич** доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармацевтического анализа

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Защита состоится «22» сентября 2026 года в 16.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.063.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте диссертационного совета (<http://dissovet.spcpu.ru>).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.063.01,  
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени (МАЗБП) является одним из наиболее распространенных заболеваний печени, ассоциированных с метаболическим синдромом. По данным международных эпидемиологических исследований, распространенность данного заболевания составляет около 25-35% и продолжает увеличиваться. Применение препаратов с метаболическим, гиполипидемическим, антистеатозным действием, направленным на ключевые звенья патогенеза заболевания, является перспективным направлением в терапии МАЗБП.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются ведущей причиной смертности во всем мире, включая Россию: ежегодно фиксируется около 18 млн смертей, при этом данный показатель продолжает увеличиваться. В структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы доминирующее место занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС). Рост числа смертей от ИБС может быть обусловлен недостаточной эффективностью существующих схем лечения, а также нерациональной фармакологической коррекцией метаболических нарушений миокарда. Одним из перспективных направлений фармакотерапии ИБС является применение препаратов, направленных на оптимизацию энергетического обмена миокарда, снижение выраженности ишемических повреждений и коррекцию метаболических нарушений.

В качестве перспективных препаратов для лечения данных заболеваний рассматриваются производные малоновой кислоты (ПМК). В исследованиях по изучению активности ПМК была обнаружена выраженная фармакологическая активность малобена и этмабена. Малобен продемонстрировал широкий спектр фармакологической активности (антистеатозная, антиоксидантная, антиапоптотическая, гиполипидемическая, гипохолестеринемическая, гипогликемизирующая и гликогеностатическая) и рассматривается как потенциальное средство для терапии МАЗБП. Этмабен обладает антиишемической, антиоксидантной, антигипоксической и кардиопротективной активностью и может использоваться для лечения ССЗ, в частности ИБС. Лекарственные средства, содержащие малобен и этмабен, ранее не применялись у человека, их фармакокинетика у человека также не была изучена. В рамках проведения фармакокинетических исследований данных ПМК у человека есть необходимость в разработке биоаналитических методик, применимых для количественного определения малобена и этмабена в биологических образцах человека.

**Степень разработанности темы исследования.** В работах Адамовой А.А., Генераловой Ю.Э., Тернинко И.И. и др. представлены методики контроля качества, включая методики определения родственных примесей в стандартных образцах (СО), активной фармацевтической субстанции (АФС) и готовой лекарственной форме (ГЛФ) малобена и этмабена, однако для проведения биоаналитических исследований данные методики не применимы. В исследованиях по изучению фармакокинетики малобена и этмабена количественное определение данных веществ в биообразцах животных проводилось с помощью хроматографических методик. В работе Елецкой Е.И., Семивеличенко Е.Д., Сипкиной Н.Ю. приводится информация о методике определения малобена в биообразцах животных, также Сипкиной Н.Ю., Генераловой Ю.Э. и Яковлевым И.П. запатентован способ количественного определения малобена в биологических объектах, однако данные методики имеют ограниченное применение, в связи с регуляторными требованиями, распространяющимися на проведение исследований фармакокинетики у человека,

а также особенностями проведения фазы I клинических исследований (КИ) препаратов с ранее не изученной фармакокинетикой. Информация о параметрах использованной методики определения этмабена в биобразцах животных, использованной в работе Гришиной А.Ю. и Карпова А.А., в доступных источниках не приводится.

В опубликованных рецензируемых источниках представлены многочисленные данные по изучению безопасности и эффективности малобена и этмабена, полученные в рамках доклинических исследований (ДКИ) в работах Белых М.А., Гришиной А.Ю., Ежовой А.О., Елецкой Е.И., Ивкина Д.Ю., Карпова А.А., Семивеличенко Е.Д., Титович И.А. Также в ДКИ была изучена фармакокинетика малобена и этмабена у лабораторных животных. Препараты малобена и этмабена ранее не были изучены в рамках КИ, значения фармакокинетических параметров малобена и этмабена у человека не определены.

**Цель диссертационной работы.** Разработка и валидация биоаналитических методик количественного определения ПМК – малобена и этмабена – для оценки фармакокинетических параметров препаратов на основе малобена и этмабена в рамках фазы I КИ.

**Задачи диссертационного исследования.**

1. Разработать биоаналитическую методику количественного определения малобена в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) и провести ее валидацию в соответствии с действующими регуляторными требованиями.

2. Провести количественное определение малобена в образцах плазмы крови добровольцев, включенных в клиническое исследование фазы I лекарственного препарата, содержащего малобен, на основании изученных концентраций малобена в образцах плазмы крови добровольцев рассчитать фармакокинетические параметры малобена в рамках клинического исследования фазы I лекарственного препарата малобена.

3. Разработать биоаналитическую методику количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС и провести ее валидацию в соответствии с действующими регуляторными требованиями.

4. Провести количественное определение этмабена в образцах плазмы крови добровольцев, включенных в клиническое исследование фазы I лекарственного препарата, содержащего этмабен, на основании изученных концентраций этмабена в плазме крови добровольцев рассчитать фармакокинетические параметры этмабена в рамках фазы I клинического исследования лекарственного препарата этмабена.

**Научная новизна исследования.** В исследовании впервые разработаны ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения малобена и этмабена в образцах плазмы крови человека для проведения биоаналитических исследований. Разработанные методики продемонстрировали свою пригодность для количественного определения малобена и этмабена в образцах плазмы крови человека в рамках проведения фармакокинетических исследований новых препаратов на основе ПМК. Впервые были определены концентраций малобена и этмабена в биобразцах добровольцев, а также оценены фармакокинетические параметры малобена и этмабена в рамках фазы I КИ.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработаны подходы к проведению исследований ПМК, а именно подходы к разработке и валидации методик

количественного определения малобена и этмабена в образцах плазмы крови человека с использованием современного метода инструментального анализа – ВЭЖХ-МС/МС. Представлен подход к выбору аналитических диапазонов биоаналитических методик при анализе инновационных веществ при отсутствии сведений об их фармакокинетике. Получены первые результаты оценки фармакокинетики ПМК малобена и этмабена у человека.

Подходы к проведению фармакокинетических исследований препаратов на основе малобена и этмабена использованы в научно-исследовательской деятельности ИЛ ЦККЛС ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Результаты исследований фармакокинетики препаратов малобена и этмабена у здоровых добровольцев использованы в научно-исследовательской деятельности Центра экспериментальной фармакологии СПХФУ Минздрава России (акт внедрения от 27.05.2026 г.).

Предложенные методологические основы и подходы к разработке, описанные в настоящей работе, внедрены в научно-практическую деятельность исследовательского центра Общества с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (акт внедрения от 22.09.2025 г.).

Методики определения малобена и этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС внедрены в образовательный процесс на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии в рамках дисциплин «Фармацевтическая химия» и «Токсикологическая химия»; результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую деятельность кафедры фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии (акт внедрения от 02.04.2026 г.).

**Методология и методы исследования.** Методология исследования базировалась на комплексном биоаналитическом подходе, включающем разработку биоаналитических методик, их последующую валидацию, а также их применение при проведении биоаналитических исследований. В качестве основного инструментального метода был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрией, сочетающий высокую чувствительность и селективность.

Обработка экспериментальных результатов осуществлялась методами математической статистики (метод наименьших квадратов, расчет относительной погрешности и относительного стандартного отклонения). Расчет фармакокинетических параметров проводился с использованием методов описательной статистики, дополнительно проводилась оценка пропорциональности фармакокинетических параметров и дозы с использованием степенной модели.

Исследование проведено в соответствии с действующими на территории Российской Федерации регуляторными требованиями, регламентирующими проведение биоаналитических исследований (Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, утверждены решением №85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.).

### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Результаты разработки и валидации методики количественного определения малобена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС.
2. Результаты разработки и валидации методики количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС.
3. Результаты адаптации подхода к выбору аналитических диапазонов для методик количественного определения веществ с ранее неизученной у человека фармакокинетикой на примере малобена и этмабена.
4. Результаты исследования фармакокинетики малобена у добровольцев после однократного и многократного приема исследуемого препарата «Малобен», таблетки, 60 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) в виде установленных фармакокинетических параметров и фармакокинетических профилей, а также результатов оценки дозовой пропорциональности основных фармакокинетических параметров.
5. Результаты исследования фармакокинетики этмабена у добровольцев после однократного и многократного приема исследуемого препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой, 300 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) в виде установленных фармакокинетических параметров и фармакокинетических профилей, а также результатов оценки дозовой пропорциональности основных фармакокинетических параметров.

**Степень достоверности и апробация работы.** Основные результаты работы доложены и обсуждены на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» в секции «Химия» в подсекции «Аналитическая химия» (Москва, 2024), на XIV Всероссийской научной конференции с международным участием Молодежного научного общества Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета «Молодая фармация – потенциал будущего» в секции «Стандартизация природных и синтетических лекарственных средств» (Санкт-Петербург, 2024), на конференции GLP-PLANET V в сессии «Фармацевтическая разработка и особенности ее аналитического сопровождения» (Санкт-Петербург, 2024), на конференции GLP-PLANET VI в сессии для студентов старших курсов и аспирантов «Наука – дело молодых» (Санкт-Петербург, 2025), на международном конгрессе «Разработка и регистрация лекарственных средств» в секции «Клинические, доклинические и «околоклинические» исследования: современные тенденции и перспективы» (Москва, 2025), на международном конгрессе «Разработка и регистрация лекарственных средств» в секции «Регистрационные исследования лекарственных средств: от лаборатории до досье» (Москва, 2026), на I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая химия: практическая реализация прикладной науки» в рамках международной выставки и форума по фармацевтике и биотехнологиям IPhEB 2026 в секции «Биоаналитические исследования на этапах разработки и регистрации лекарственных средств» (Санкт-Петербург, 2026).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 статьи опубликованы в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованные ВАК Минобрнауки России, из которых 3 статьи опубликованы в изданиях, включенных в наукометрическую базу данных Scopus.

**Связь задач исследования с планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в рамках тематики государственного задания «Многоцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование по оценке эффективности и безопасности препарата Малобен, таблетки 60 мг у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени» (регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР 125061106909-6, контракт № 056-03-2025-080/1 от 15 апреля 2025 г.).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 4: Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

**Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов.** Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. Лично автором была проведена разработка двух биоаналитических ВЭЖХ-МС/МС-методик (методики количественного определения малобена и методики количественного определения этмабена в плазме крови человека), их валидация, проведение анализа испытуемых образцов от здоровых добровольцев, а также проведение обработки полученных результатов. Вклад автора является основополагающим и составляет не менее 90%.

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 172 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 31 рисунком и 39 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (2 главы) и заключения, списка литературы, включающего 145 источников (из них 64 источника – на иностранных языках), приложения.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1. Обзор литературы

В первой главе рассмотрены перспективы использования производных малоновой кислоты – 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия (малобен) и 4-[(3-этоксипропаноил)амино]бензойной кислоты (этмабен) – в качестве средств для терапии МАЖБП и ИБС за счет выраженной фармакологической активности данных соединений. Обоснована актуальность изучения препаратов малобена и этмабена и необходимость в установлении их фармакокинетических параметров. Проведен обзор опубликованных методик определения малобена и этмабена и установлено отсутствие биоаналитических методик, пригодных для использования в фармакокинетических исследованиях малобена и этмабена у человека, что подчеркивает актуальность данного исследования.

Структурные формулы изучаемых соединений ПМК представлены на рисунках 1 и 2.

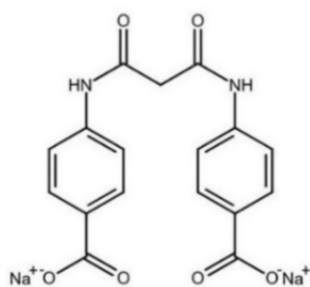


Рисунок 1 – Структурная формула малобена

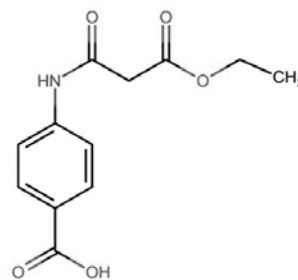


Рисунок 2 – Структурная формула этмабена

## Глава 2. Материалы и методы

### Объекты испытаний, реактивы и стандартные образцы:

- образцы интактной плазмы крови (ИПК), интактной гемолизной плазмы крови (ИГПК), интактной хилезной плазмы крови (ИХПК); образцы ИПК, ИГПК, ИХПК с прибавлением стандартных растворов и раствора внутреннего стандарта (ВС); образцы ИПК с прибавлением стандартных растворов и раствора ВС; образцы ИПК с прибавлением раствора ВС; образцы интактной плазмы крови с прибавлением стандартных растворов; стандартные растворы; образцы без влияния биологической матрицы с прибавлением стандартных растворов и раствора ВС; образцы без учета влияния степени извлечения с прибавлением стандартных растворов и раствора ВС; образцы плазмы крови от здоровых добровольцев с добавлением трикальевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (К<sub>3</sub>ЭДТА) в качестве антикоагулянта;
- ацетонитрил химически чистый, ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ, метанол особо чистый для градиентной ВЭЖХ, муравьиная кислота «98 % pure», вода деминерализованная;
- АФС малобена, 100,40% (СПХФУ); АФС этмабена, 99,50% (СПХФУ); СО прометазина гидрохлорида, 99,90% (Эталонный стандарт Фармакопеи США, Франция).

### Оборудование:

- высокоэффективный жидкостной хроматограф Nexera XR, оснащенный tandemным масс-спектрометрическим детектором LCMS-8040 (Shimadzu Corporation, Япония);
- аналитические весы GR-200 (A&D Company Ltd., Япония), вортекс-шейкеры Reax top (Heidolph, Германия), центрифуги медицинские CM-50M (СИА «ЭЛМИ», Латвия), центрифуга лабораторная Thermo IEC MicroCL 17 (Thermo Electron, Германия), центрифуга лабораторная Mikro 185 (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Германия), морозильник микропроцессорный, MM-180/20/35 (АО «ПОЗиС», Россия), морозильник медицинский, ММШ-350 (АО «ПОЗиС», Россия), морозильник низкотемпературный, DW-HL100 (Hefei Meiling, Китай), холодильник фармацевтический ХФ-400-2 «ПОЗиС» (АО «ПОЗиС», Россия), дозаторы пипеточные одноканальные «Техно» 1–10 мл, 10–100 мкл и 100–1000 мкл, «Блэк» 500–5000 мкл, «Лайт» 10–100 мкл (АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия), дозатор механический одноканальный «Sartorius mLine» 100 – 1000 мкл (АО «Сарториус Биохит Ликвид Хэндлинг», Финляндия), степперы электронные с зарядным стендом, Multipette E3/ E3x (Eppendorf, Германия), деминерализатор Hydrolab R5 (Hydrolab, Польша), ультразвуковая ванна 5DT (Stegler, Китай).

Программное обеспечение: LabSolutions, версия 5.91, Microsoft Excel, The R Project for Statistical Computing, версия 4.5.2 и версия 4.4.2.



### Глава 3. Результаты и обсуждения

#### Разработка ВЭЖХ-МС/МС-методик количественного определения малобена и этмабена в плазме крови человека

Разработка ВЭЖХ-МС/МС-методик определения малобена и этмабена состояла из последовательных шагов: разработки масс-спектрометрических параметров и разработки хроматографических параметров, включая подбор ВС, выбора способа пробоподготовки образцов к анализу, а также определения необходимых аналитических диапазонов методик. В связи со схожей структурой и физико-химическими свойствами малобена и этмабена разработка методик их определения были взаимосвязаны.

##### Подбор ВС:

- В качестве ВС был выбран прометазин, который в настоящее время не имеет широкого применения в медицинской практике, не является метаболитом малобена и этмабена, а также хорошо изучен в рамках предыдущих исследований, что позволяет учитывать его поведение при анализе и оптимизировать процесс исследования. Использование этмабена в качестве ВС в исследовании малобена и малобена в качестве ВС в исследовании этмабена оказалось невозможным из-за общих путей синтеза и наличия примесей малобена в АФС этмабена, а также примеси этмабена в АФС малобена.

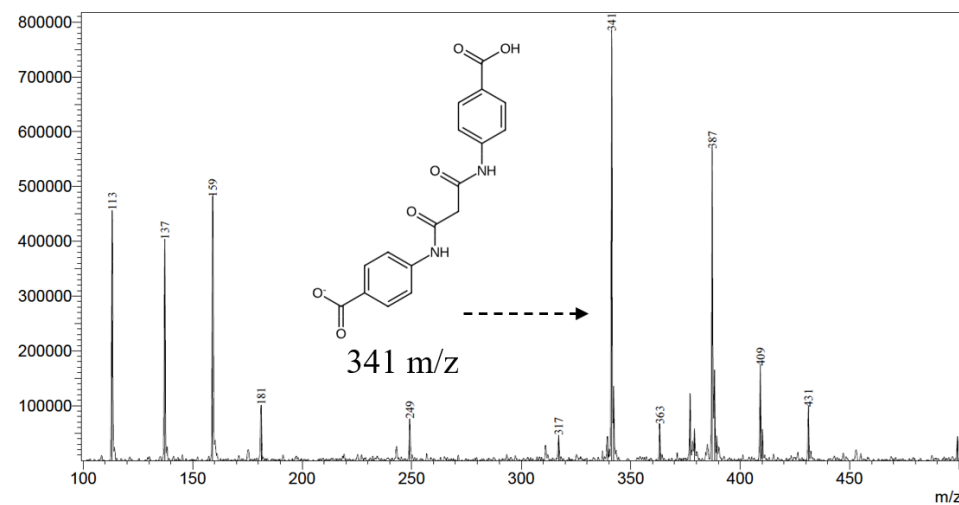
##### Разработка масс-спектрометрических параметров:

- Была выбрана электроспрей-ионизация, поскольку данный способ ионизации обеспечивает эффективную и мягкую ионизацию и подходит для широкого спектра соединений, что делает его предпочтительным по сравнению с другими способами ионизации, включая химическую ионизацию при атмосферном давлении. Выбранные параметры источника ионизации: скорость подачи осушающего газа – 20 л/мин, распыляющего газа – 3 л/мин, температура блока нагрева – 400 °С, в методике определения малобена была установлена температура линии десольватации на уровне 250 °С, в методике этмабена – на уровне 200 °С.

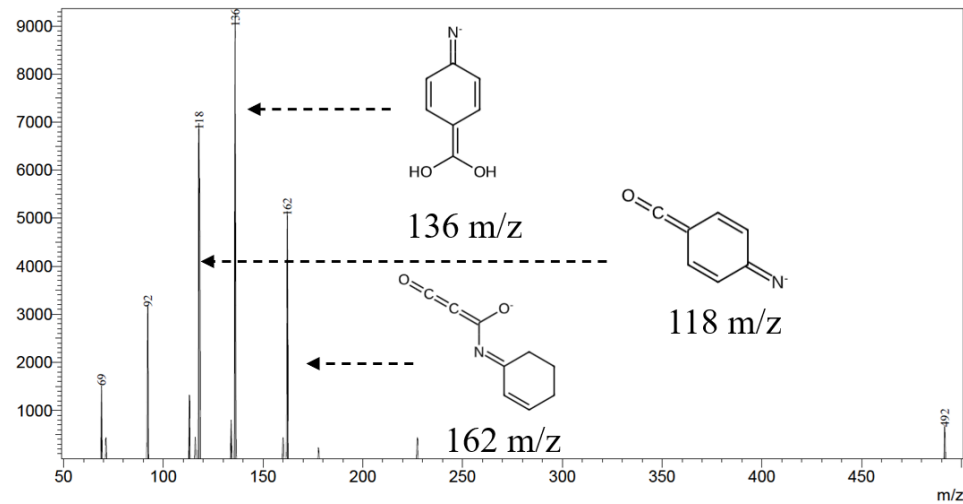
- Проводилось определение ионов прекурсоров на первом квадруполе (Q1) масс-спектрометра. Сканирование молекул проводилось в положительном и отрицательном режимах на Q1. Для малобена и этмабена был выбран отрицательный режим ионизации, для ВС – положительный режим. Были выбраны следующие однозарядные ионы-прекурсоры: для малобена – 341 m/z, для этмабена – 250 m/z, для прометазина – 285 m/z.

- После определения прекурсор-ионов проводилось детектирование ионов-продуктов на третьем квадруполе (Q3) масс-спектрометрического детектора, сравнивались значения ионов-продуктов при различных энергиях соударения. Были выбраны наиболее интенсивные и воспроизводимые ионы-продукты: для малобена – 136 m/z, 118 m/z и 162 m/z; для этмабена – 92 m/z и 160 m/z; для прометазина – 198 m/z.

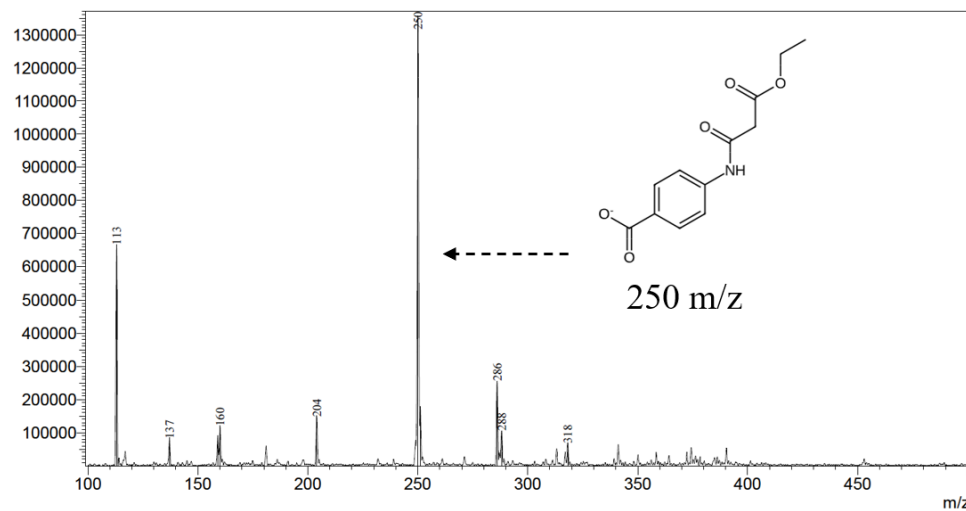
- Масс-спектры метанольных растворов малобена и этмабена (C = 200,000 мкг/мл), полученные при сканировании на Q1 и Q3 в отрицательном режиме, а также предполагаемые пути фрагментации, установленные с помощью веб-сервера «CFM-ID 4.0», представлены на рисунке 3.



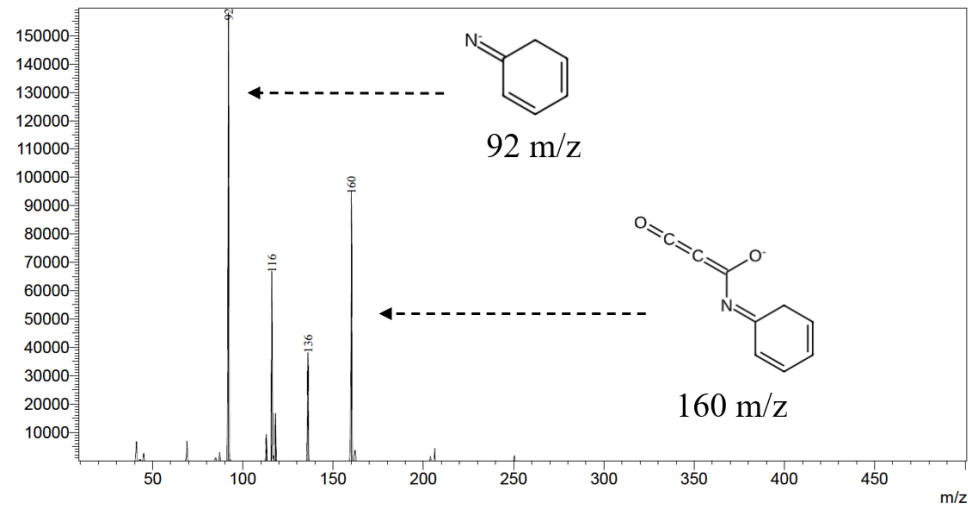
(a)



(b)



(c)



(d)

Рисунок 3 – Масс-спектры малобена (раствор малобена в метаноле,  $C = 200,000$  мкг/мл), полученные на Q1 (a) и Q3 (b) (отрицательный режим); масс-спектры этмалбена (раствор этмалбена в метаноле,  $C = 200,000$  мкг/мл), полученные на Q1 (c) и Q3 (d) (отрицательный режим)

• На основе значений прекурсор-ионов и продукт-ионов были выбраны переходы в режиме мониторинга множественных реакций (Multiple Reaction Monitoring, MRM). Для увеличения интенсивности сигналов подбирались напряжения на капилляре электроспрея, а также в оптической системе масс-спектрометрического детектора. Были получены следующие MRM-переходы:

- В методике количественного определения малобена:
  - $341,15\text{ m/z} \rightarrow 118,05\text{ m/z}$ ,  $341,15\text{ m/z} \rightarrow 136,10\text{ m/z}$ ,  $341,15\text{ m/z} \rightarrow 162,20\text{ m/z}$  (малобен);
  - $285,15\text{ m/z} \rightarrow 198,05\text{ m/z}$  (прометазин).
- В методике количественного определения этмабена:
  - $249,90\text{ m/z} \rightarrow 92,15\text{ m/z}$ ,  $249,90\text{ m/z} \rightarrow 160,20\text{ m/z}$  (этмабен);
  - $284,95\text{ m/z} \rightarrow 197,95\text{ m/z}$  (прометазин).

#### Разработка параметров хроматографического разделения:

• Была выбрана колонка Phenomenex Luna C18(2) (5 мкм, 50,00×2,00 мм). Время удерживания малобена и прометазина в методике количественного определения малобена составили около 1,4 мин, а этмабена и прометазина в методике количественного определения этмабена – около 1,2 мин (при мертвом времени колонки около 0,5 мин). Была достигнута хорошая симметрия пиков (tailing factor  $\leq 1,2$ ), а также разделение анализируемых веществ от эндогенных компонентов матрицы, ширина пиков на половине высоты не превышала 0,05. Пробоподготовка осуществлялась с помощью осаждения ацетонитрилом. Подвижная фаза состояла из 0,1% раствора муравьиной кислоты в воде (элюент А, по объему) и 0,1% раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле (элюент В, по объему). Был выбран распространенный в биоаналитических исследованиях градиентный режим элюирования. Градиенты в методике малобена и в методике этмабена имеют небольшие различия во времени подъема на 100% и представлены на рисунке 4.

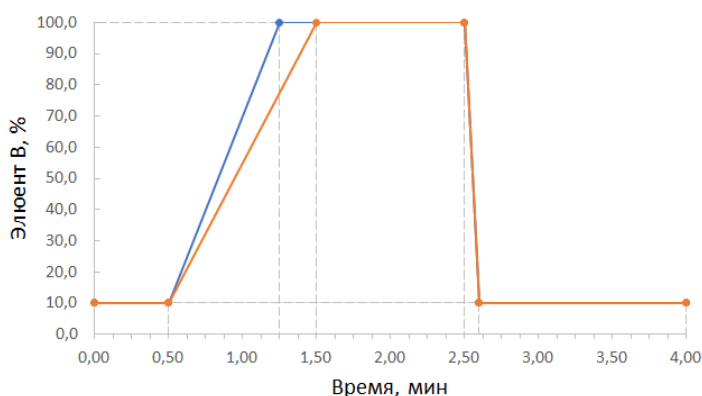


Рисунок 4 – Параметры градиентного элюирования, использованные в методиках определения малобена и этмабена

Для выбора аналитического диапазона использовался «оценочный» подход:

• В исследовании малобена были проанализированы образцы от нескольких добровольцев, принимающих минимальную изучаемую и максимальную изучаемую дозировку препарата «Малобен» (60 и 180 мг соответственно) при однократном и многократном режимах дозирования. Анализ образцов с целью определения ожидаемых значений максимальных концентраций в плазме крови ( $C_{\max}$ ) малобена проводился в рамках «оценочного» диапазона: 1,00–1000,00 нг/мл. По результатам предварительного анализа «оценочный» диапазон был

скорректирован. Выбранный аналитический диапазон для проведения полной валидации методики количественного определения малобена в плазме крови составил 0,75–150,00 нг/мл.

- В исследовании этмабена был использован аналогичный подход. Сначала были проанализированы образцы от нескольких добровольцев, принимающих минимальную изучаемую и максимальную изучаемую дозировку препарата «Этмабен» (600 мг и 1800 мг соответственно) при однократном и многократном режимах дозирования. «Оценочный» диапазон составил 5,00–1500,00 нг/мл. По результатам предварительного анализа было установлено, что ожидаемые  $C_{\text{max}}$  этмабена в плазме значительно выше, в связи с чем «оценочный» диапазон был скорректирован и составил 0,250–30,000 мкг/мл, после чего была проведена полная валидация методики количественного определения этмабена в плазме крови в рамках данного аналитического диапазона. Однако в процессе проведения аналитического исследования этмабена была определена необходимость провести доработку методики и расширить аналитический диапазон: снизить значение нижнего предела количественного определения (НПКО) методики до 0,040 мкг/мл и повысить верхний предел количественного определения (ВПКО) методики до 35,000 мкг/мл.

#### **Валидация методик количественного определения малобена и этмабена в плазме крови человека с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС**

Валидация разработанных биоаналитических методик проводилась в соответствии с Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках ЕАЭС (утверждены решением №85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.); Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London, 2012; Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2018.

Была проведена полная валидация ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения малобена в плазме крови. Для ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения этмабена в плазме крови была проведена полная, частичная валидация с целью расширения аналитического диапазона, а также валидационный цикл с дополнительной оценкой долгосрочной стабильности. В таблице 1 представлены сводные результаты оценки валидационных параметров вместе с критериями приемлемости. Примеры калибровочных кривых представлены на рисунках 5–6.

Таблица 1 – Результаты оценки валидационных параметров при проведении валидации методики определения малобена и методики определения этмабена

| Валидационный параметр | Критерии приемлемости                                                                                                                                 | Методика определения малобена                                                                                                               | Методика определения этмабена                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Линейность             | г не более 0,99,<br>-20 % ≤ E, % ≤ 20 %<br>для калибровочного образца (КО) уровня №1 и 15 % ≤ E, % ≤ 15 % для остальных образцов для не менее 75 % КО | Аналитический диапазон:<br>0,75-150 нг/мл<br>цикл 1: -13,00 ≤ E, % ≤ 14,40<br>цикл 2: -11,36 ≤ E, % ≤ 12,40<br>цикл 3: -9,33 ≤ E, % ≤ 14,00 | Аналитический диапазон 1:<br>0,250-30,000 мкг/мл<br>Аналитический диапазон 2:<br>0,040-35,000 мкг/мл<br>цикл 1: -4,96 ≤ E, % ≤ 9,40<br>цикл 2: -12,09 ≤ E, % ≤ 7,70<br>цикл 3: -11,92 ≤ E, % ≤ 13,40<br>цикл 4: -7,95 ≤ E, % ≤ 10,00 |

| Валидационный параметр                          | Критерии приемлемости                                                                                                                                                                         | Методика определения малобена                                                                                                                                                                                                                                     | Методика определения этмабена                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                 |                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                   | <i>цикл 5: <math>-9,41 \leq E, \% \leq 8,33</math></i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| НПКО                                            | $RSD \leq 20 \%$ ,<br>$-20 \% \leq E, \% \leq 20 \%$                                                                                                                                          | $RSD = 5,10 \%$ , $E = -5,07 \%$                                                                                                                                                                                                                                  | $RSD = 7,54 \%$ , $E = 3,84 \%$<br>(аналитический диапазон 1),<br>$RSD = 10,42 \%$ , $E = -0,50 \%$<br>(аналитический диапазон 2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Правильность<br>(внутри цикла, между циклами)   | $-20 \% \leq E, \% \leq 20 \%$<br>для образцов контроля<br>качества (КК) на<br>уровне LLOQ и<br>$-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$<br>для остальных<br>образцов                                   | <i>цикл 1: <math>-14,35 \leq E, \% \leq 11,73</math></i><br><i>цикл 2: <math>2,76 \leq E, \% \leq 10,39</math></i><br><i>цикл 3: <math>-13,26 \leq E, \% \leq 6,13</math></i><br><i>между циклами 1-3:</i><br><i><math>-6,50 \leq E, \% \leq 6,07</math></i>      | <i>цикл 1: <math>-6,91 \leq E, \% \leq 6,51</math></i><br><i>цикл 2: <math>2,93 \leq E, \% \leq 8,60</math></i><br><i>цикл 3: <math>-7,62 \leq E, \% \leq 6,64</math></i><br><i>цикл 4: <math>-11,28 \leq E, \% \leq -0,17</math></i><br><i>цикл 5: <math>-8,72 \leq E, \% \leq 7,91</math></i><br><i>между циклами 1-3:</i><br><i><math>-2,31 \leq E, \% \leq 5,87</math></i><br><i>между циклами 1-4:</i><br><i><math>-11,28 \leq E, \% \leq 5,87</math></i><br><i>между циклами 1-5:</i><br><i><math>-11,28 \leq E, \% \leq 6,17</math></i> |
| Прецизионность<br>(внутри цикла, между циклами) | $RSD \leq 20 \%$ для<br>образцов КК на<br>уровне LLOQ, $RSD \leq 15 \%$ для остальных<br>образцов                                                                                             | <i>цикл 1: <math>0,61 \leq RSD, \% \leq 5,10</math></i><br><i>цикл 2: <math>1,66 \leq RSD, \% \leq 13,54</math></i><br><i>цикл 3: <math>1,94 \leq RSD, \% \leq 13,13</math></i><br><i>между циклами 1-3:</i><br><i><math>10,28 \leq RSD, \% \leq 11,55</math></i> | <i>цикл 1: <math>4,38 \leq RSD, \% \leq 7,77</math></i><br><i>цикл 2: <math>2,93 \leq RSD, \% \leq 6,98</math></i><br><i>цикл 3: <math>2,40 \leq RSD, \% \leq 5,99</math></i><br><i>цикл 4: <math>3,51 \leq RSD, \% \leq 10,42</math></i><br><i>цикл 5: <math>3,72 \leq RSD, \% \leq 7,57</math></i><br><i>между циклами 1-3:</i><br><i><math>4,43 \leq RSD, \% \leq 8,97</math></i><br><i>между циклами 1-4 и 1-5:</i><br><i><math>3,51 \leq RSD, \% \leq 10,42</math></i>                                                                    |
| Селективность                                   | На бланковых<br>образцах площадь<br>аналита не более 20%<br>от средних значений<br>площадей на образцах<br>КК уровня LLOQ,<br>площадь ВС не более<br>5% от средних<br>значений площадей<br>ВС | не более 18,97 % для малобена,<br>не более 0,09 % для прометазина                                                                                                                                                                                                 | не более 9,43 % для этмабена;<br>не более 0,85 % для<br>прометазина (аналитический<br>диапазон 1), не более 17,50 %<br>для этмабена, 0,89 % для<br>прометазина (аналитический<br>диапазон 2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Пригодность СО                                  |                                                                                                                                                                                               | для малобена: 3,94 %,<br>для прометазина: 0,02 %                                                                                                                                                                                                                  | для этмабена: 3,00 %,<br>для прометазина: 0,74 %                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Перенос пробы                                   |                                                                                                                                                                                               | не более 19,60 % для малобена;<br>0 % для прометазина                                                                                                                                                                                                             | не более 17,06 % для этмабена,<br>не более 1 % для прометазина                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Степень извлечения<br>(СИ)                      | $RSD \leq 15 \%$                                                                                                                                                                              | Среднее значение СИ: 84,82 %,<br>$RSD = 12,29 \%$                                                                                                                                                                                                                 | Среднее значение СИ: 90,26 %,<br>$RSD = 12,81 \%$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Эффект матрицы                                  | $RSD \leq 15 \%$                                                                                                                                                                              | $RSD (L) = 9,74 \%$ ,<br>$RSD (H) = 10,32 \%$                                                                                                                                                                                                                     | $RSD (L) = 10,29 \%$ ,<br>$RSD (H) = 4,63 \%$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| «Настольная»<br>стабильность                    | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$                                                                                                                                                                | при комнатной температуре:<br>$E (L) = 10,93 \%$ , $E (H) = -0,71 \%$                                                                                                                                                                                             | при комнатной температуре:<br>$E (L) = -5,89 \%$ , $E (H) = -14,72 \%$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| «Постпрепаративная»<br>стабильность             | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$                                                                                                                                                                | при хранении в автосамплере<br>хроматографа в течение 79 часов:<br>$E (L) = -4,80 \%$ , $E (H) = -11,30 \%$                                                                                                                                                       | при хранении в автосамплере<br>хроматографа в течение<br>29 часов: $E (L) = 11,01 \%$ ,<br>$E (H) = -4,97 \%$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Стабильность при<br>заморозке-разморозке        | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$                                                                                                                                                                | при трехкратной заморозке-<br>разморозке (в течение не менее                                                                                                                                                                                                      | при пятикратной заморозке-<br>разморозке (не менее 60 часов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| Валидационный параметр                  | Критерии приемлемости          | Методика определения малобена                                                                                                                  | Методика определения этмабена                                                                                                                       |
|-----------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |                                | 36 часов при замораживании при $-42,5 \pm 7,5$ °C и не менее 6 часов при размораживании при $20 \pm 5$ °C): E (L) = -10,84 %, E (H) = -10,55 % | при замораживании при $-42,5 \pm 7,5$ °C, не менее 10 часов при размораживании при $20 \pm 5$ °C): E (L) = 1,68 %, E (H) = -2,92 %                  |
| Стабильность исходных растворов аналита | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$ | в течение 149 дней при $-42,5 \pm 7,5$ °C: E (L) = -9,24 %, E (H) = -13,88 %                                                                   | в течение 112 дней при $-42,5 \pm 7,5$ °C: E (L) = 5,23 %, E (H) = -7,33 %                                                                          |
| Стабильность рабочих растворов аналита  | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$ | в течение 149 дней при $-42,5 \pm 7,5$ °C: E (L) = -8,18 %, E (H) = -12,74 %                                                                   | в течение 112 дней при $-42,5 \pm 7,5$ °C: E (L) = 2,45 %, E (H) = -7,27 %                                                                          |
| Долгосрочная стабильность при -20°C     | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$ | при $-20 \pm 5$ °C в течение 149 дней: E (L) = -9,60 %: E (H) = -12,95 %                                                                       | при $-20 \pm 5$ °C в течение 112 дней: E (L) = -1,36 %, E (H) = -4,16 %<br>при $-20 \pm 5$ °C в течение 234 дней: E (L) = -1,36 %, E (H) = -9,25 %  |
| Долгосрочная стабильность при -80°C     | $-15 \% \leq E, \% \leq 15 \%$ | при $-75 \pm 10$ °C в течение 149 дней: E (L) = -9,33 %: E (H) = -11,05 %                                                                      | при $-75 \pm 10$ °C в течение 112 дней: E (L) = 7,68 %, E (H) = -5,71 %<br>при $-75 \pm 10$ °C в течение 234 дней: E (L) = -6,05 %, E (H) = -7,69 % |

Примечание: r – коэффициент корреляции, E – относительная погрешность, RSD – относительное стандартное отклонение, L – нижний уровень, LLOQ – нижний предел количественного определения, H – верхний уровень

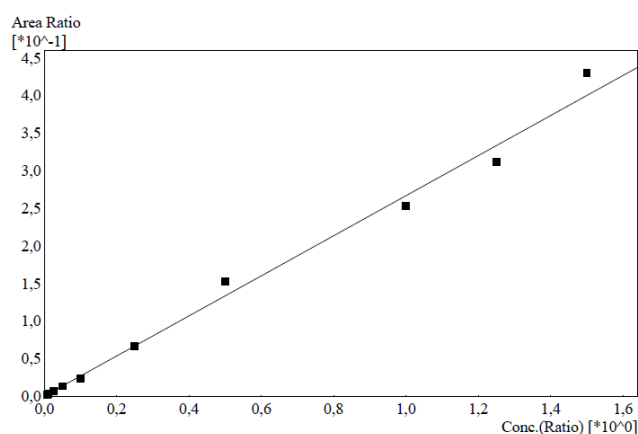


Рисунок 5 – Пример калибровочного графика для малобена в координатах отношение площади пика малобена к площади пика прометазина от отношения концентрации малобена к концентрации прометазина в плазме крови

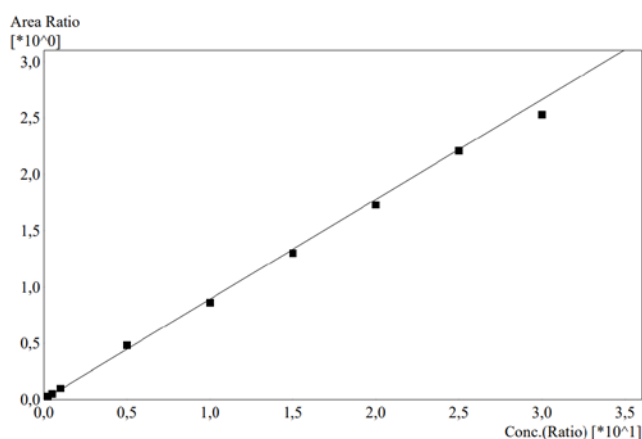


Рисунок 6 – Пример калибровочного графика для этмабена в координатах отношение площади пика этмабена к площади пика прометазина от отношения концентрации этмабена к концентрации прометазина в плазме крови

### Практическое применение методики определения малобена в ходе проведения исследования фармакокинетики (ФК) препарата малобена

Разработанная и валидированная ВЭЖХ-МС/МС-методика количественного определения малобена в плазме крови человека была применена при изучении концентраций малобена в образцах добровольцев в рамках клинического исследования препарата «Малобен», таблетки, 60 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) по протоколу № СРНУ-4DN-01-2022. Исследование включало в себя несколько этапов:

- в рамках этапа I изучалось однократное применение исследуемого препарата (ИП): добровольцы когорты 1 получали по 60 мг малобена однократно, когорты 2 – по 120 мг однократно, когорты 3 – по 180 мг однократно;
- в рамках этапа II изучалось многократное применение ИП: добровольцы когорты 4 получали суточную дозу 60 мг (1 таблетка 60 мг один раз в сутки), когорты 5 – суточную дозу 120 мг (1 таблетка 60 мг два раза в сутки с интервалом 6 часов), когорты 6 – суточную дозу 180 мг (1 таблетка 60 мг три раза в сутки с интервалом 4 часа).

Был проведен анализ 864 образцов от 24 рандомизированных добровольцев. Пример хроматограммы, полученный при анализе исследуемого образца от добровольца представлен на рисунке 7.

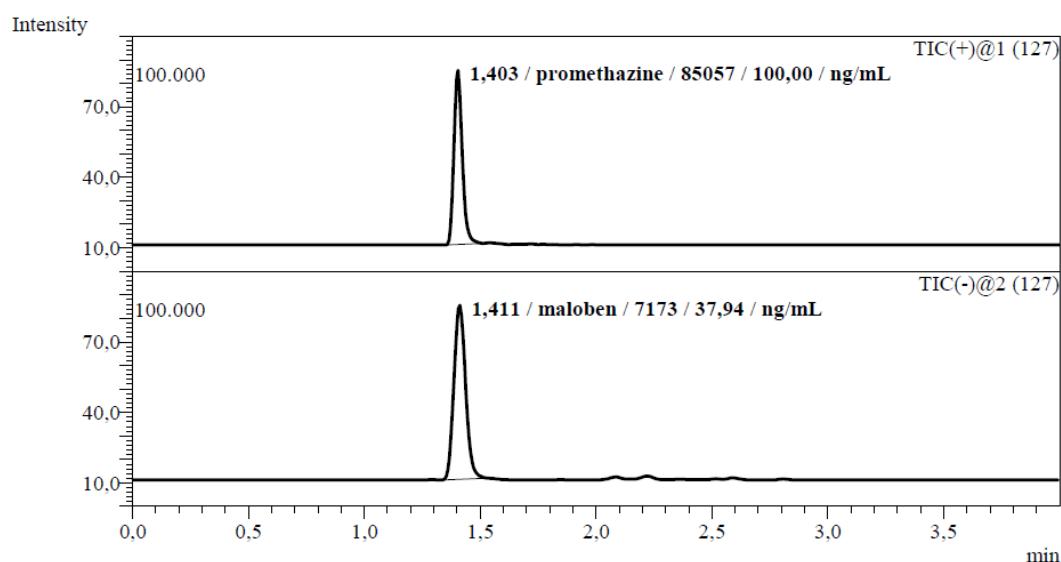


Рисунок 7 – Пример хроматограммы добровольца спустя 12 ч после приема малобена в суточной дозе 120 мг (первый сектор TIC(+))@1 хроматограммы – детекция прометазина; второй сектор TIC(-))@2 хроматограммы – детекция малобена)

На основании концентраций, полученных при анализе образцов плазмы крови добровольцев после приема ИП «Малобен», таблетки, 60 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) был проведен фармакокинетический анализ. Были изучены фармакокинетические параметры препарата малобена при однократном и многократном режимах дозирования, а также проведена оценка дозовой пропорциональности. Усредненные фармакокинетические профили малобена в линейной шкале после однократного приема ИП в дозах 60, 120 и 180 мг в когортах 1–3, а также после многократного приема ИП в суточных дозах 60, 120 и 180 мг в когортах 4–6 представлены на рисунке 8. Результаты оценки фармакокинетических параметров малобена после однократного и многократного приема ИП в когортах 1–6 представлены в таблице 2.

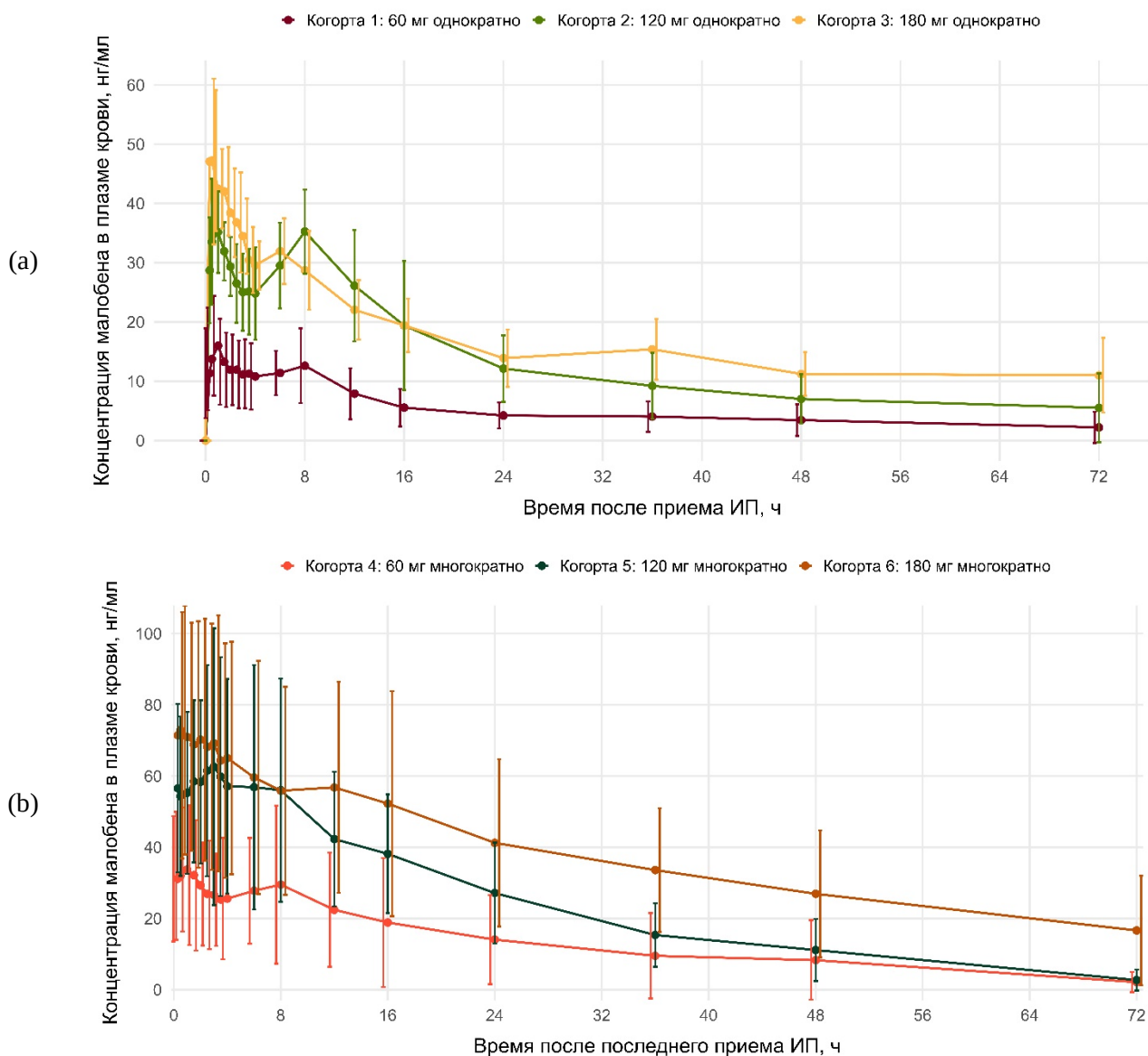


Рисунок 8 – Усредненные ФК профили малобена (в линейных координатах) после приема препарата «Малобен», таблетки, 60 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) при однократном приеме (а) и многократном приеме в течение 7 дней (б)

Таблица 2 – Сводная таблица фармакокинетических параметров малобена после однократного и многократного приема исследуемого препарата в когортах 1–6

| Режим дозирования           | Однократное           |                       |                       |
|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Доза, когорта               | 60 мг, когорта 1      | 120 мг, когорта 2     | 180 мг, когорта 3     |
| ФК параметр                 |                       |                       |                       |
| $C_{max}$ , нг/мл           | 18,09 ± 8,06 [8]      | 41,36 ± 5,63 [8]      | 51,81 ± 11,05 [8]     |
| $t_{max}$ , ч               | 6 (0,5-8) [8]         | 0,75 (0,33-16) [8]    | 0,5 (0,33-8) [8]      |
| $AUC_{(0-t)}$ , нг·ч/л      | 348,59 ± 200,65 [8]   | 938,32 ± 344,95 [8]   | 1177,13 ± 221,81 [8]  |
| $AUC_{(0-\infty)}$ , нг·ч/л | 623,05 ± 390,08 [8]   | 1171,68 ± 471,89 [8]  | 1666,93 ± 596,25 [8]  |
| $k_{el}$ , ч <sup>-1</sup>  | 0,028 ± 0,026 [8]     | 0,038 ± 0,017 [8]     | 0,035 ± 0,020 [8]     |
| $t_{1/2}$ , ч               | 47,38 ± 33,50 [8]     | 22,26 ± 12,33 [8]     | 26,92 ± 17,53 [8]     |
| MRT, ч                      | 68,16 ± 42,00 [8]     | 36,75 ± 24,89 [8]     | 50,71 ± 20,35 [8]     |
| $V_d$ , л                   | 7041,79 ± 4033,42 [8] | 3469,10 ± 1339,08 [8] | 4012,01 ± 1408,07 [8] |
| Cl, л/ч                     | 160,67 ± 146,40 [8]   | 120,98 ± 55,73 [8]    | 117,95 ± 32,56 [8]    |



| Режим дозирования           | Множественный                  |                                 |                                 |
|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Доза, когорта               | Суточная доза 60 мг, когорта 4 | Суточная доза 120 мг, когорта 5 | Суточная доза 180 мг, когорта 6 |
| ФК параметр                 |                                |                                 |                                 |
| $C_{\max}$ , нг/мл          | 37,93 ± 20,98 [8]              | 70,83 ± 37,37 [8]               | 78,98 ± 37,03 [8]               |
| $t_{\max}$ , ч              | 0,75 (0,33-8) [8]              | 2 (0,33-8) [8]                  | 0,5 (0,33-16) [8]               |
| $AUC_{(0-t)}$ , нг·ч/л      | 3142,22 ± 2091,08 [8]          | 5714,73 ± 2482,56 [8]           | 7799,02 ± 3829,67 [8]           |
| $AUC_{(0-\infty)}$ , нг·ч/л | 3228,41 ± 2141,08 [8]          | 5789,32 ± 2539,34 [8]           | 8970,72 ± 5143,42 [8]           |
| $k_{el}$ , ч <sup>-1</sup>  | 0,052 ± 0,028 [8]              | 0,057 ± 0,018 [8]               | 0,032 ± 0,025 [8]               |
| $t_{1/2}$ , ч               | 16,61 ± 7,33 [8]               | 13,09 ± 3,89 [8]                | 33,68 ± 20,79 [8]               |
| MRT, ч                      | 151,87 ± 4,39 [8]              | 150,59 ± 2,70 [8]               | 165,53 ± 14,99 [8]              |
| $V_d$ , л                   | 535,60 ± 301,80 [8]            | 442,07 ± 190,62 [8]             | 996,54 ± 378,55 [8]             |
| Cl, л/ч                     | 23,71 ± 10,66 [8]              | 25,74 ± 14,53 [8]               | 28,54 ± 20,07 [8]               |

Примечание: Для всех параметров, кроме  $t_{\max}$ , приведены значения Mean ± SD [n] (Mean – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, n – размер выборки). Для параметра  $t_{\max}$  приведены значения Median (Min – Max) [n] (Median – медиана, Max – максимальное значение, Min – минимальное значение, n – размер выборки).

Фармакокинетические кривые во всех когортах имеют схожий вид. Отмечается наличие двух фаз элиминации малобена. С увеличением дозы от 60 до 180 мг при однократном приеме ИП препарата наблюдалось увеличение как значения  $C_{\max}$ , так и общей экспозиции ( $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ ). Медианные значения  $t_{\max}$  сокращались с увеличением дозы в когортах 1–3. Значения  $t_{1/2}$ , Cl, MRT и  $V_d$  варьировались между когортами без выраженной дозозависимости. Среднее значение Cl при однократном приеме ИП оставалось на уровне 117,95–160,67 л/ч. Средние значения  $V_d$  при однократном приеме ИП изменялись в пределах от 3469,10 л до 7041,79 л, что значительно превышает общий объем циркулирующей крови и свидетельствует об обширном распределении малобена в периферических тканях. После многократного приема ИП в течение 7 дней в суточных дозах от 60 до 180 мг также отмечалось увеличение значений  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ . Медианное время достижения  $C_{\max}$  между дозами при многократном приеме ИП варьировалось от 0,5 ч до 2 ч. В параметрах  $t_{1/2}$ , MRT, Cl и  $V_d$  закономерностей, связанных с увеличением суточной дозы, не выявлено. Средние значения  $V_d$  после многократного приема ИП находились в диапазоне от 442,07 л до 996,54 л. Средний клиренс составил 23,71–28,54 л/ч, указывая на более медленное выведение препарата из плазмы при многократном дозировании. Среднее значение MRT возросло по сравнению с однократным дозированием, отражая накопление препарата при многократном применении.

При однократном приеме ИП 90% ДИ коэффициента  $\beta$  параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  находились в интервалах дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров. При многократном приеме ИП 90% ДИ коэффициента  $\beta$  параметров  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  находились в интервалах дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность ФК параметров для  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ .

### **Практическое применение методики определения этмабена в ходе проведения ФК-исследования препарата этмабена**

Разработанная и валидированная ВЭЖХ-МС/МС-методика количественного определения этмабена в плазме крови человека была применена при изучении концентраций этмабена в образцах добровольцев в рамках клинического исследования препарата «Этмабен», таблетки,

покрытые оболочкой, 300 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) по протоколу № СРНУ-MLA-01-2022. Исследование включало в себя несколько этапов:

- на этапе I оценивались фармакокинетические параметры после однократного применения ИП: добровольцы когорты 1 получали по 600 мг этмабена однократно, когорты 2 – по 900 мг однократно, когорты 3 – по 1200 мг однократно;
- на этапе II оценивались фармакокинетические параметры после многократного применения ИП: добровольцы когорты 4 получали суточную дозу 600 мг (по 2 таблетки 300 мг один раз в сутки), когорты 5 – суточную дозу 900 мг (по 2 таблетки 300 мг утром и 1 таблетке 300 мг вечером с интервалом 12 часов), когорты 6 – суточную дозу 1200 мг (по 2 таблетки 300 мг два раза в сутки с интервалом 12 часов).

Был проведен анализ 1680 образцов от 48 рандомизированных добровольцев. Пример хроматограммы, полученный при анализе исследуемого образца от добровольца представлен на рисунке 9.

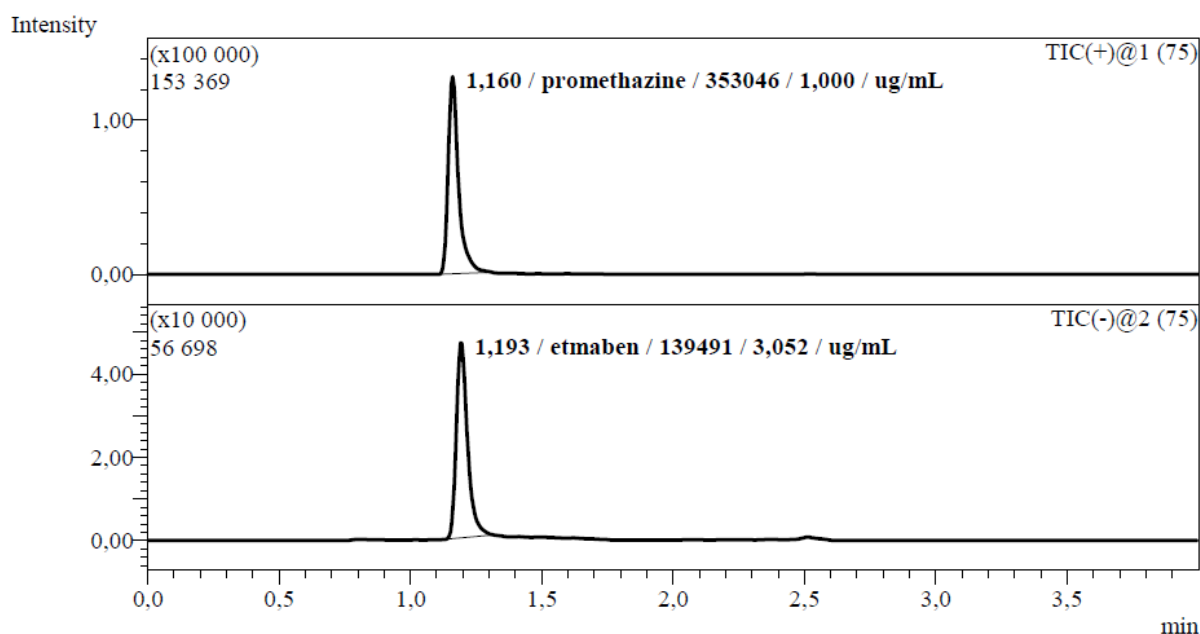


Рисунок 9 – Пример хроматограммы добровольца спустя 3 ч после однократного приема этмабена в дозе 1200 мг (первый сектор TIC(+))@1 хроматограммы – детекция прометазина; второй сектор TIC(-))@2 хроматограммы – детекция этмабена)

На основании концентраций, полученных при анализе образцов плазмы крови добровольцев после приема ИП был проведен фармакокинетический анализ. Были изучены фармакокинетические параметры препарата этмабена при однократном и многократном режимах дозирования, а также проведена оценка дозовой пропорциональности. Результаты оценки фармакокинетических параметров этмабена при однократном и многократном применении ИП представлены в таблице 3 и таблице 4 соответственно. Для всех параметров, кроме  $T_{max}$ , приведены значения  $Mean \pm SD$  [n] ( $Mean$  – среднее арифметическое,  $SD$  – стандартное отклонение,  $n$  – размер выборки). Для параметра  $T_{max}$  приведены значения  $Median$  ( $Min - Max$ ) [n] ( $Median$  – медиана,  $Max$  – максимальное значение,  $Min$  – минимальное значение,  $n$  – размер выборки).

Таблица 3 – Сводная таблица фармакокинетических параметров этмабена после однократного приема натошак исследуемого препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой, 300 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) в дозах 600 мг, 900 мг и 1200 мг

| Доза, когорта<br>ФК параметр | 600 мг, когорта 1   | 900 мг, когорта 2   | 1200 мг, когорта 3  |
|------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| $C_{\max}$ , мкг/мл          | 11,359 ± 4,666 [8]  | 16,020 ± 6,899 [8]  | 19,871 ± 4,415 [8]  |
| $T_{\max}$ , ч               | 0,5 (0,5-0,75) [8]  | 0,5 (0,5-1,5) [8]   | 0,5 (0,5-0,5) [8]   |
| $AUC_{(0-t)}$ , мкг·ч/л      | 14,545 ± 4,779 [8]  | 20,104 ± 8,664 [8]  | 23,469 ± 6,809 [8]  |
| $AUC_{(0-\infty)}$ , мкг·ч/л | 15,141 ± 4,809 [8]  | 20,559 ± 8,656 [8]  | 24,168 ± 6,789 [8]  |
| $k_{el}$ , ч <sup>-1</sup>   | 0,952 ± 0,148 [8]   | 0,987 ± 0,125 [8]   | 0,898 ± 0,107 [8]   |
| $T_{1/2}$ , ч                | 0,746 ± 0,129 [8]   | 0,713 ± 0,098 [8]   | 0,781 ± 0,090 [8]   |
| MRT, ч                       | 1,527 ± 0,272 [8]   | 1,365 ± 0,198 [8]   | 1,300 ± 0,149 [8]   |
| $V_d$ , л                    | 46,221 ± 15,818 [8] | 50,079 ± 16,130 [8] | 59,214 ± 15,531 [8] |
| Cl, л/ч                      | 42,602 ± 10,954 [8] | 50,113 ± 18,217 [8] | 52,808 ± 13,302 [8] |

Таблица 4 – Сводная таблица фармакокинетических параметров этмабена после многократного приема натошак исследуемого препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) в дозах 600 мг, 900 мг и 1200 мг в день 1, день 3, день 5 и день 7

| ФК параметр<br>Доза,<br>когорта, день |        | $C_{\max}$ ,<br>мкг/мл | $T_{\max}$ , ч      | $AUC_{(0-t)}$ ,<br>мкг·ч/л | $AUC_{(0-\infty)}$ ,<br>мкг·ч/л | $AUC_{(0-\tau)}$ ,<br>мкг·ч/мл | $k_{el}$ , ч <sup>-1</sup> | $T_{1/2}$ , ч     | MRT, ч            |
|---------------------------------------|--------|------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|
| 600 мг,<br>когорта 4                  | День 1 | 10,930 ± 2,602 [8]     | 0,5<br>(0,25-1) [8] | 12,509 ± 2,344 [8]         | 12,970 ± 2,369 [8]              | N/A                            | 0,964 ± 0,123 [8]          | 0,730 ± 0,097 [8] | 1,254 ± 0,169 [8] |
|                                       | День 3 | 10,005 ± 3,439 [8]     | 0,5 (0,5-0,75) [8]  | N/A                        | N/A                             | 10,683 ± 1,674 [8]             | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 5 | 9,818 ± 3,034 [8]      | 0,5 (0,25-0,75) [8] | N/A                        | N/A                             | 11,624 ± 2,444 [8]             | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 7 | 9,194 ± 3,305 [8]      | 0,5 0,25-0,5) [8]   | 11,708 ± 2,079 [8]         | 12,259 ± 2,241 [8]              | N/A                            | 1,053 ± 0,149 [8]          | 0,672 ± 0,111 [8] | 1,330 ± 0,296 [8] |
| 900 мг,<br>когорта 5                  | День 1 | 11,002 ± 3,109 [8]     | 0,5 (0,5-0,75) [8]  | 14,483 ± 2,994 [8]         | 14,940 ± 2,982 [8]              | N/A                            | 0,832 ± 0,167 [8]          | 0,874 ± 0,236 [8] | 1,474 ± 0,347 [8] |
|                                       | День 3 | 2,708 ± 1,461 [8]      | 1,5 (0,5-2,5) [8]   | N/A                        | N/A                             | 4,075 ± 0,765 [8]              | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 5 | 3,279 ± 1,498 [8]      | 0,625 (0,5-3) [8]   | N/A                        | N/A                             | 4,854 ± 1,160 [8]              | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 7 | 10,406 ± 2,580 [8]     | 0,5 (0,5-0,5) [8]   | 12,787 ± 3,205 [8]         | 13,159 ± 3,120 [8]              | N/A                            | 1,043 ± 0,209 [8]          | 0,698 ± 0,198 [8] | 1,357 ± 0,282 [8] |
| 1200 мг,<br>когорта 6                 | День 1 | 11,284 ± 2,609 [8]     | 0,5 (0,5-0,75) [8]  | 14,011 ± 2,308 [8]         | 14,090 ± 2,336 [8]              | N/A                            | 0,964 ± 0,245 [8]          | 0,748 ± 0,131 [8] | 1,393 ± 0,363 [8] |
|                                       | День 3 | 4,572 ± 1,226 [8]      | 0,875 (0,5-2,5) [8] | N/A                        | N/A                             | 8,937 ± 1,913 [8]              | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 5 | 5,241 ± 1,061 [8]      | 1 (0,5-2,5) [8]     | N/A                        | N/A                             | 9,247 ± 2,048 [8]              | N/A                        | N/A               | N/A               |
|                                       | День 7 | 10,247 ± 2,204 [8]     | 0,5 (0,5-1,5) [8]   | 13,757 ± 3,130 [8]         | 13,911 ± 3,080 [8]              | N/A                            | 0,960 ± 0,093 [8]          | 0,729 ± 0,074 [8] | 1,399 ± 0,255 [8] |

Примечание: N/A – не применимо.

Усредненные фармакокинетические профили (в линейных координатах) значений концентраций этмабена при однократном и многократном применении ИП в различных дозах приведены на рисунках 10–11.

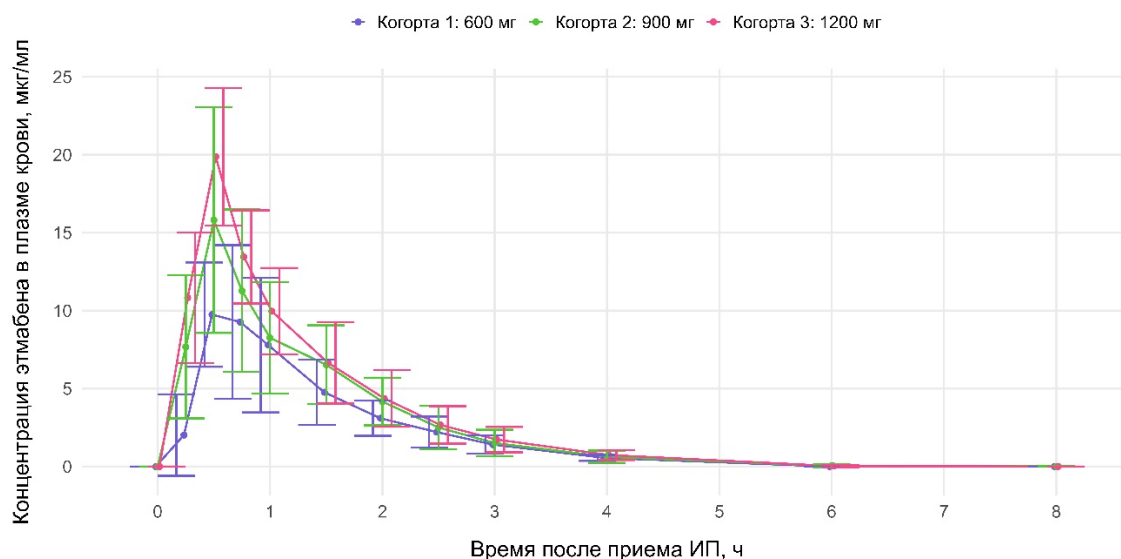


Рисунок 10 – Усредненные ФК профили этмабена (в линейных координатах) после однократного приема препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой, 300 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)

В исследовании фармакокинетики этмабена у добровольцев при пероральном приеме препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой, 300 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) натошак в дозах 600 мг, 900 мг и 1200 мг было установлено, что при однократном режиме дозирования с эскалацией дозы препарата наблюдалось увеличение  $C_{\max}$  этмабена в плазме крови. Препарат быстро абсорбируется из желудочно-кишечного тракта в системный кровоток:  $T_{\max}$  достигалась в течение 0,5 ч. Как при однократном, так и при многократном режимах дозирования среднее значение  $T_{1/2}$  составляло менее 1 ч, что указывает на высокую скорость выведения препарата из организма. Невысокие значения площадей под кривыми «концентрация – время» (AUC), немного превышающие  $C_{\max}$ , свидетельствуют о том, что общее количество доступного этмабена на протяжении времени ограничено. При однократном применении среднее значение объема распределения  $V_d$  составляет более 45 л, что свидетельствует о способности этмабена легко проникать в ткани. Однако высокий общий клиренс подтверждает, что этмабен быстро удаляется из плазмы, что в сочетании с коротким периодом полувыведения также может указывать на небольшую продолжительность его действия. Среднее время удерживания лекарственного вещества в плазме (MRT) является важным фармакокинетическим параметром, отражающим среднюю продолжительность времени, в течение которого вещество находится в организме до элиминации. MRT составило не более  $1,527 \pm 0,272$  ч, с учетом высокой скорости выведения, это также указывает на кратковременное действие препарата. При многократном дозировании с эскалацией дозы в день 3 и день 5 наблюдалось снижение  $C_{\max}$  и небольшое увеличение  $T_{\max}$ , что, в сочетании с низкими значениями  $AUC_{(0-t)}$ , свидетельствует об отсутствии кумуляции этмабена. При однократном приеме ИП 90% ДИ коэффициента  $\beta$  параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  находились в интервалах дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров. При многократном приеме ИП 90% ДИ коэффициента  $\beta$  параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  выходили за интервалы дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров при многократном дозировании в день 7 не установлена.

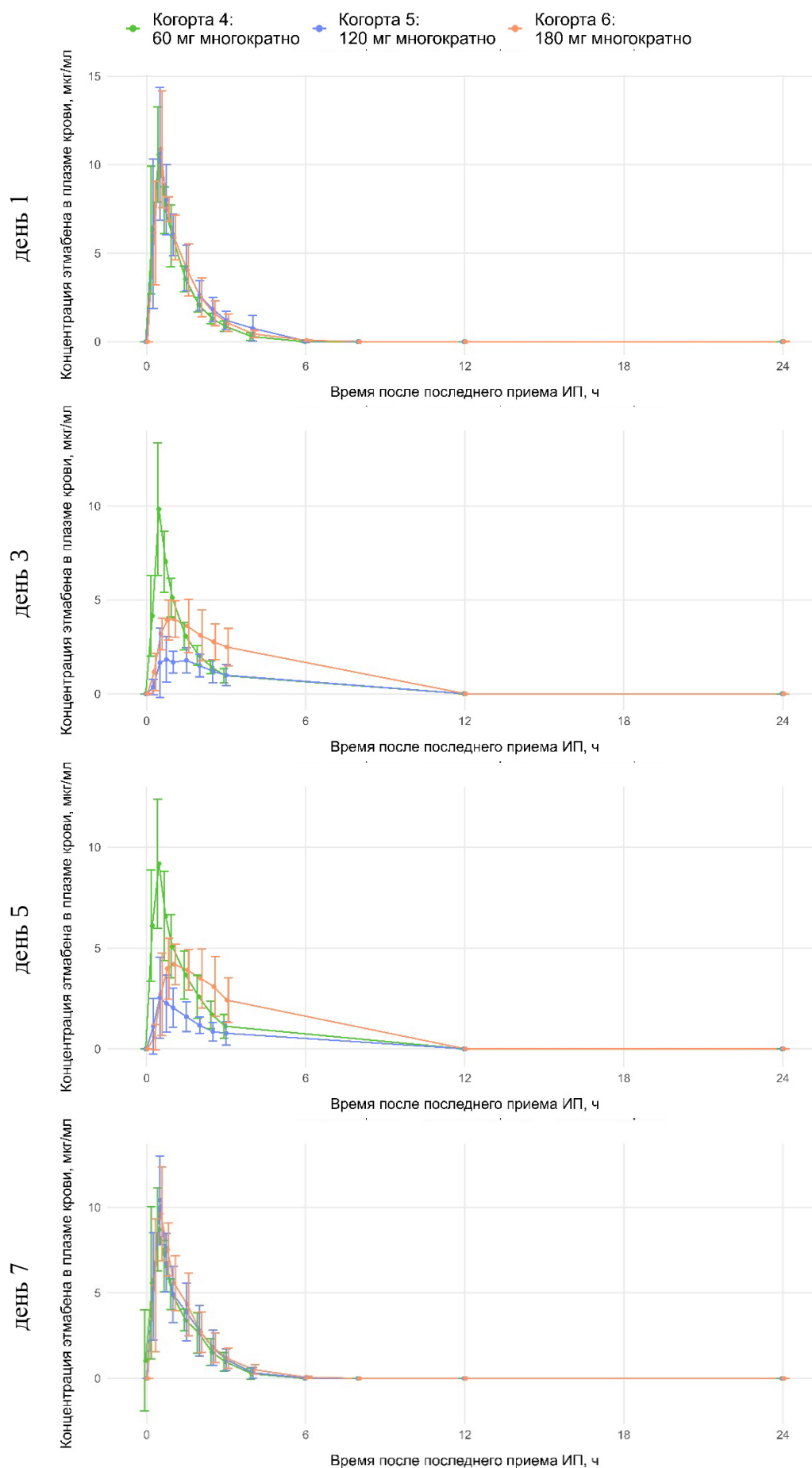


Рисунок 11 –  
Усредненные ФК  
профили этмабена  
(в линейных  
координатах) после  
многократного  
приема препарата  
«Этмабен»,  
таблетки,  
покрытые  
оболочкой, 300 мг  
(ФГБОУ ВО  
СПХФУ  
Минздрава России)  
в течение 7 дней

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые разработана биоаналитическая методика количественного определения малобена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Методика отличается высокой чувствительностью с нижним пределом количественного определения 0,75 нг/мл, отличается коротким временем анализа пробы (составляющим 4 минуты), имеет нетрудоемкий способ пробоподготовки (осаждением ацетонитрилом) и доступный внутренний стандарт (прометазин). Проведена полная валидация данной методики в соответствии с требованиями решения №85 Совета ЕЭК, а также в соответствии с рекомендациями FDA и ЕМА по параметрам линейность, правильность и прецизионность (внутри циклов и между циклами), нижний предел количественного определения, селективность, пригодность СО, матричный эффект, степень извлечения, перенос пробы, стабильность. Подтвержденный аналитический диапазон методики составил 0,75–150,00 нг/мл для малобена в плазме крови. Все валидационные параметры соответствовали критериям приемлемости, что позволяет использовать ее при проведении аналитической части исследования препаратов малобена.

2. Разработанная и валидированная методика использована при проведении количественного определения малобена в 864 образцах плазмы крови 24 здоровых добровольцев, включенных в клиническое исследование фазы I лекарственного препарата на основе малобена. Методика была успешно апробирована в аналитическом этапе исследования в ходе анализа 7 аналитических циклов и продемонстрировала высокий процент воспроизводимости данных, оцененный в ходе повторного выборочного анализа с результатом 85,45%. На основе определенных концентраций малобена в плазме крови добровольцев оценены основные ( $C_{\max}$ ,  $t_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$ ) и дополнительные ( $t_{1/2}$ ,  $k_{el}$ ,  $MRT$ ,  $V_d$ ,  $Cl$ ) фармакокинетические параметры малобена в рамках клинического исследования фазы I лекарственного препарата «Малобен», таблетки, 60 мг (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). С увеличением дозы от 60 до 180 мг при однократном приеме исследуемого препарата наблюдалось увеличение как значения  $C_{\max}$  (от  $18,09 \pm 8,06$  нг/мл до  $51,81 \pm 11,05$  нг/мл), так и общей экспозиции  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  (от  $348,59 \pm 200,65$  нг·ч/л и  $623,05 \pm 390,08$  нг·ч/л до  $1177,13 \pm 221,81$  нг·ч/л и  $1666,93 \pm 596,25$  нг·ч/л соответственно). Медианные значения  $t_{\max}$  сокращались с увеличением дозы при однократном приеме от 6 ч до 0,5 ч. После многократного приема исследуемого препарата в течение 7 дней в суточных дозах от 60 до 180 мг также отмечалось увеличение значений  $C_{\max}$  (от  $37,93 \pm 20,98$  нг/мл до  $78,98 \pm 37,03$  нг/мл),  $AUC_{(0-t)}$  (от  $3142,22 \pm 2091,08$  нг·ч/л до  $7799,02 \pm 3829,67$  нг·ч/л) и  $AUC_{(0-\infty)}$  (от  $3228,41 \pm 2141,08$  нг·ч/л до  $8970,72 \pm 5143,42$  нг·ч/л). Медианное время достижения  $C_{\max}$  между дозами при многократном приеме ИП варьировалось от 0,5 ч до 2 ч. При однократном приеме установлена дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ . При многократном приеме в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность только для  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ . Возможно применение данной методики в рамках фармакокинетических исследований на последующих фазах клинических исследований препарата малобена, полученные в ходе данного исследования данные о фармакокинетике малобена позволяют перейти к следующим этапам КИ препарата малобена на пациентах.

3. Разработана биоаналитическая методика количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Данная методика характеризуется коротким

временем анализа пробы (4 минуты), широким аналитическим диапазоном (от 0,040 мкг/мл до 35,000 мкг/мл) и использованием нетрудоемкого способа пробоподготовки (осаждения ацетонитрилом), что позволяет использовать ее для анализа большого количества образцов. Проведена валидация данной методики в соответствии с действующими регуляторными требованиями (Решение №85 Совета ЕЭК, руководства FDA и EMA). В рамках полной валидации были оценены линейность в диапазоне 0,250–30,000 мкг/мл, правильность, прецизионность, нижний предел количественного определения, селективность, пригодность СО, матричный эффект, степень извлечения, перенос пробы, стабильность. В рамках полной валидации был валидирован для этмабена в плазме крови. В рамках частичной валидации в связи необходимости в расширении аналитического диапазона были оценены следующие параметры: линейность в диапазоне 0,040–35,000 мкг/мл, правильность, прецизионность, нижний предел количественного определения, селективность.

4. Разработанная и валидированная ВЭЖХ-МС/МС-методика количественного определения этмабена в образцах плазмы крови здоровых добровольцев была успешно апробирована при анализе 1680 образцов плазмы крови от 48 рандомизированных добровольцев в рамках 17 аналитических циклов. Данная методика может быть использована на последующих этапах КИ препарата этмабена. На основе определенных концентраций этмабена в плазме крови добровольцев оценены основные и дополнительные фармакокинетические параметры этмабена в рамках фазы I клинического исследования лекарственного препарата этмабена. С увеличением дозы от 600 до 1200 мг при однократном приеме исследуемого препарата наблюдалось увеличение значения  $C_{\max}$  (от  $11,359 \pm 4,666$  мкг/мл до  $19,871 \pm 4,415$  мкг/мл),  $AUC_{(0-t)}$  (от  $14,545 \pm 4,779$  мкг·ч/л до  $23,469 \pm 6,809$  мкг·ч/л) и  $AUC_{(0-\infty)}$  (от  $15,141 \pm 4,809$  мкг·ч/л до  $24,168 \pm 6,789$  мкг·ч/л). Препарат быстро абсорбируется в системный кровоток, медианное значение  $T_{\max}$  при однократном приеме исследуемого препарата достигалась в течение 0,5 ч. Как при однократном, так и при многократном режимах дозирования среднее значение  $T_{1/2}$  составляло менее 1 ч, что указывает на высокую скорость выведения препарата из организма. При многократном дозировании с эскалацией дозы наблюдалось снижение  $C_{\max}$  и небольшое увеличение  $T_{\max}$ , что, в сочетании с низкими значениями  $AUC_{(0-t)}$ , свидетельствует об отсутствии кумуляции этмабена. При однократном приеме препарата «Этмабен» в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$ . При многократном приеме препарата «Этмабен», таблетки, покрытые оболочкой (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) дозовая пропорциональность основных фармакокинетических параметров  $C_{\max}$ ,  $AUC_{(0-t)}$  и  $AUC_{(0-\infty)}$  при многократном дозировании в день 7 не установлена. Полученные фармакокинетические данные позволяют перейти к следующим этапам КИ на пациентах.

#### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованные ВАК Минобрнауки России*

1. Карнакова, П. К. Разработка и валидация биоаналитической методики количественного определения малобена в плазме человека методом хромато-масс-спектрометрии / П. К. Карнакова, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Е. С. Ветрова, М. О. Попова, И. И. Тернинко, Д. Ю. Ивкин, И. Е. Шохин, И. А. Наркевич // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2026. – Т. 29, № 5. – С. 113–124.

2. **Карнакова, П. К.** Изучение фармакокинетики препарата «Малобен» при однократном и многократном дозировании у добровольцев / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, Н. С. Багаева, Д. Ю. Ивкин, О. А. Арчакова, И. Е. Шохин, И. А. Наркевич // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2025. – Т. 14, № 4. – С. 280-294.

3. **Карнакова, П. К.** Изучение фармакокинетики производного малоновой кислоты этмабена в рамках I фазы клинического исследования / **П. К. Карнакова**, К. К. Карнакова, Т. Н. Комаров, Н. С. Багаева, М. О. Попова, Д. Ю. Ивкин, О. А. Арчакова, И. Е. Шохин, И. А. Наркевич // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13, № 4. – С. 259-271.

4. **Карнакова, П. К.** Разработка и валидация методики количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Д. Ю. Ивкин, Е. С. Ветрова, И. И. Тернинко, И. Е. Шохин, И. А. Наркевич // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13, № 1. – С. 257-271.

#### *Другие публикации*

5. **Карнакова, П. К.** Исследования фармакокинетики препаратов малобена и этмабена – производных малоновой кислоты / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Н. С. Багаева, И. Е. Шохин // Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы и перспективы современной фармации: интеграция науки, образования и практики», 20.05.2025 / Северо-Осетинская государственная медицинская академия. – Владикавказ: Изд-во СОГМА, 2025. – С. 118-123.

6. **Карнакова, П. К.** Проведение фармакокинетического исследования нового антистеатозного препарата малобена / **П. К. Карнакова** // Сборник материалов XV Всероссийской научной конференции с международным участием молодежного научного общества «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 07.04.2025 / Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФУ, 2025. – С. 313-316.

7. Карлина, М. В. Фармацевтическая разработка и особенности ее аналитического сопровождения / М. В. Карлина, В. М. Косман, О. А. Арчакова, Н. С. Багаева, И. А. Валуев, Ю. В. Власенко, **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, В. Г. Лужанин, А. М. Львов, А. Г. Никифорова, А. С. Пепельшева, Д. А. Рождественский, А. В. Соколов, А. Г. Солодовников, И. И. Тернинко, В. А. Хазанов, И. Е. Шохин, Н. С. Юдина // Консультант GLP-Planet 2024. Мнение фармацевтической отрасли. – Санкт-Петербург : Акционерное общество «Научно-производственное объединение «Дом фармации», 2024. – С. 25-48.

8. **Карнакова, П. К.** Определение малобена в плазме крови человека с целью изучения фармакокинетики / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Н. С. Багаева, И. Е. Шохин // Сборник материалов III Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы», Томск, 18.09.2024 – 20.09.2024 / Сибирский государственный медицинский университет. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2024. – С. 250-252.

9. **Карнакова, П. К.** Особенности разработки методики количественного определения малобена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров. // Сборник материалов Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2024», секция «Химия», Москва, 12.04.2024 – 26.04.2024 / Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. – Москва : Изд-во «Перо». – С. 49.

10. **Карнакова, П. К.** Особенности разработки ВЭЖХ-МС/МС методики количественного определения этмабена в плазме крови человека для фармакокинетического исследования / **П. К. Карнакова** // Сборник материалов XIV Всероссийской научной конференции с международным участием молодежного научного общества «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 28.03.2024 – 02.04.2024 / Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФУ, 2024. – С. 617-622.

11. **Карнакова, П. К.** Разработка методики количественного определения нового лекарственного препарата этмабен в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС / **П. К. Карнакова**, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, М. О. Попова, И. Е. Шохин // Сборник трудов X международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации», 07.12.2023 – 08.12.2023 / Южно-Казахстанская медицинская академия. – Шымкент: Изд-во ЮКМА, 2023. – С. 103-105.