

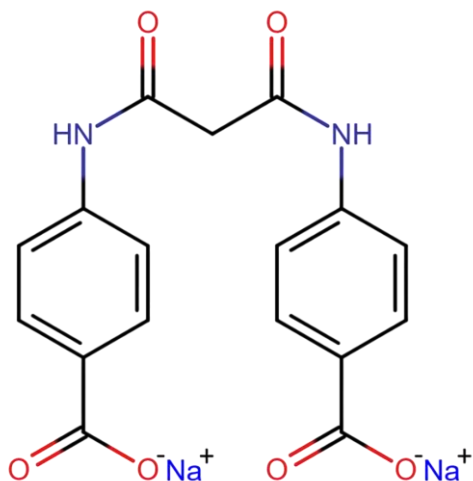
Особенности разработки методик определения производных малоновой кислоты в плазме крови человека для проведения исследований фармакокинетики

Карнакова Полина Константиновна

и. о. старшего химика-аналитика ООО «Центр фармацевтической аналитики»

Анализируемые вещества

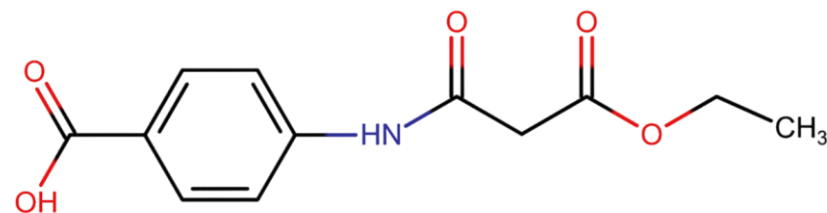
Инновационные лекарственные препараты, разработанные в СПХФУ



Малобен

(4,4'-(пропандиамидо)добензоат натрия)

Антистеатозное действие



Этмабен

(4-[(3-этоксипропанойл)амино]бензойная кислота)

Антиишемическое действие

Этапы исследования

- 1. Разработка методик** количественного определения малобена и этмабена в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС):
 1. разработка параметров масс-спектрометрического детектирования
 2. разработка параметров хроматографического разделения
 3. выбор аналитического диапазона с использованием оценочного подхода
- 2. Валидация методик** в соответствии с правилами проведения исследований биоэквивалентности в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС)
- 3. Апробация методик** при проведении фармакокинетических исследований препарата «Малобен» (таблетки, 60 мг, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) и препарата «Этмабен» (таблетки, покрытые оболочкой, 300 мг, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)
- 4. Изучение фармакокинетических параметров** исследуемых препаратов в рамках статистического этапа исследования

Разработка параметров масс-спектрометрического детектирования

- **Источник ионизации:** Электроспрей (ESI)
- **Распыляющий газ:** 3 мл/мин
- **Осушающий газ:** 20 мл/мин
- **Температура блока нагрева:** 400 °С
- **Температура линии десольватации:** 200 °С

Вещество	Режим ионизации	Ион-прекурсор, m/z	Дочерний ион, m/z	Напряжение на ESI, кВ
Этмабен	–	249,90	160,20 92,15	– 5
Малобен	–	341,15	118,05 136,10 162,20	– 5
Прометазин	+	284,95	197,95	+ 4,5

Разработка параметров масс-спектрометрического детектирования

- **Неподвижная фаза:** Luna C18, 100 Å, 50 x 2,00 мм, 5 мкм (Phenomenex, США)
- **Температура термостата:** 40 °С
- **Подвижная фаза:**
 - **Элюент А:** 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде
 - **Элюент В:** 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле
- **Скорость потока:** 1,00 мл/мин
- **Режим элюирования:** градиентный

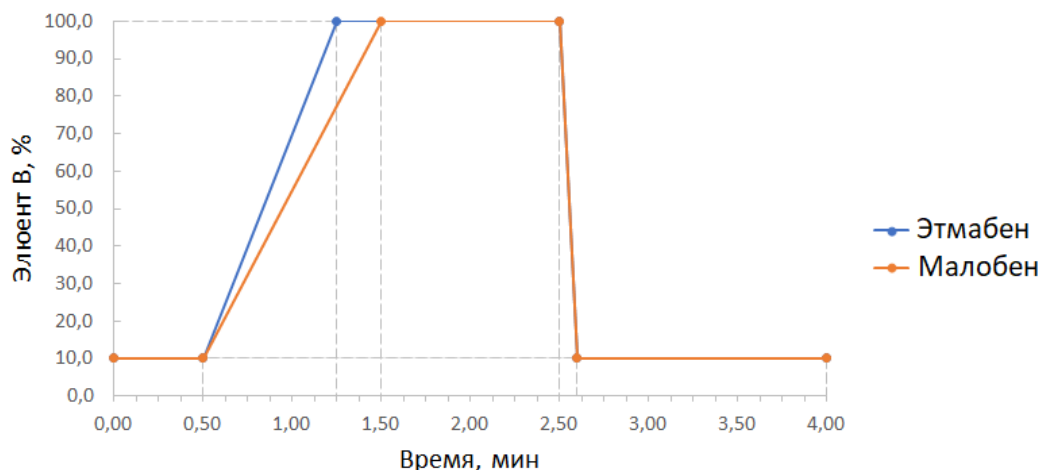


График градиента подвижной фазы

Оценочный подход в выборе аналитического диапазона

	Малобен	Этмабен
Оценочный диапазон	1,00 – 1000,00 нг/мл	5,00 – 1500,00 нг/мл
Аналитический диапазон	0,75 – 150,00 нг/мл	0,250 – 30,000 мкг/мл
Скорректированный аналитический диапазон	–	0,040 – 35,000 мкг/мл

Схема анализа

+ 10 мкл рабочего стандартного раствора
внутреннего стандарта прометазина

+ 400 мкл осадителя (ацетонитрил, 1:2)

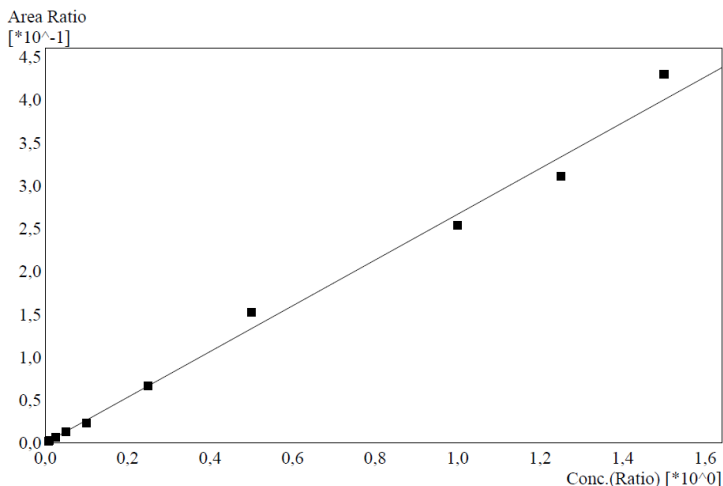


Валидация методики согласно требованиям решения № 85 ЕАЭС

Валидационный параметр	Этмабен		Малобен
	Полная валидация	Частичная валидация	Полная валидация
Селективность	+	+	+
Калибровочная кривая	+	+	+
Правильность (внутри циклов, между циклами)	+	+	+
Прецизионность (внутри циклов, между циклами)	+	+	+
НПКО	+	+	+
Степень извлечения	+	-	+
Эффект матрицы	+	-	+
Стабильность	+	-	+
Перенос пробы	+	-	+

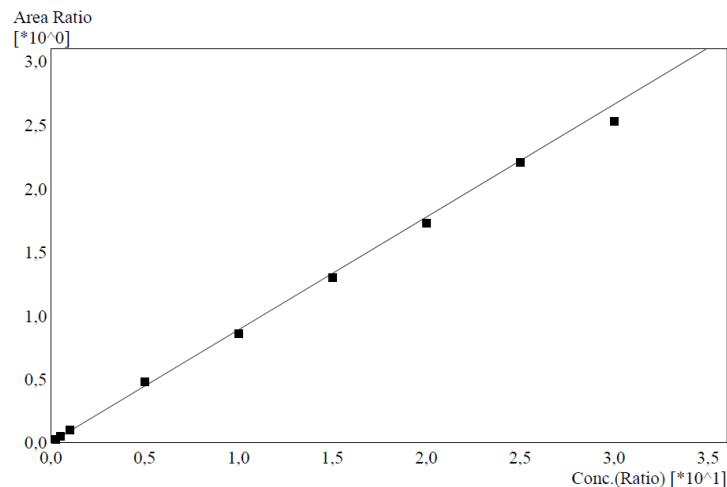
Валидация методики согласно требованиям решения № 85 ЕАЭС

Batch : C:\LabSolutions\Data\maloben\validation\val 1\val 1.lcb
Name : maloben
Quantitative Method : Internal Standard
Function : $f(x)=0,266550*x+0,000243354$
Rr1=0,9958293 Rr2=0,9916760
FitType : Linear



(1)

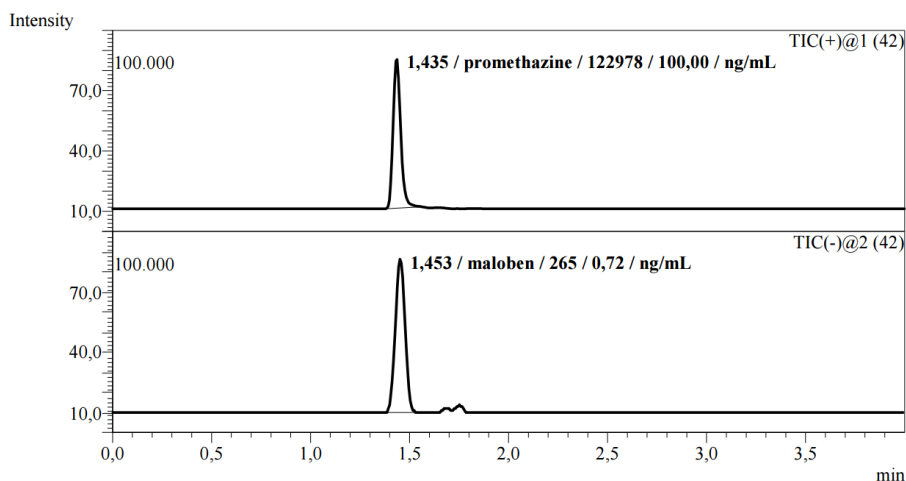
Batch : C:\LabSolutions\Data\etmaben\validation\val 1\val 1.lcb
Name : etmaben
Quantitative Method : Internal Standard
Function : $f(x)=0,0886085*x+0,00553852$
Rr1=0,9984071 Rr2=0,9968168
FitType : Linear



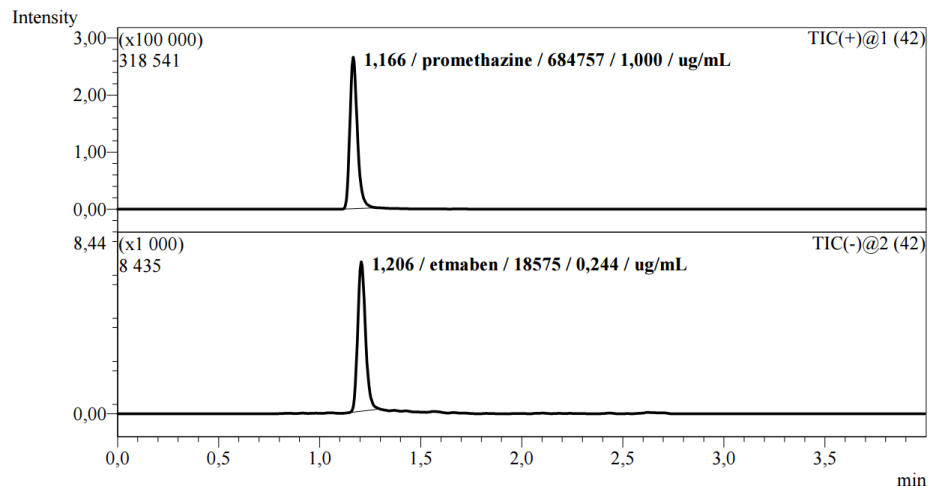
(2)

Калибровочный график для малобена (1) и этмабена (2) в координатах отношение площади пика аналита к площади пика внутреннего стандарта от отношения концентрации аналита к концентрации внутреннего стандарта

Валидация методики согласно требованиям решения № 85 ЕАЭС



(1)

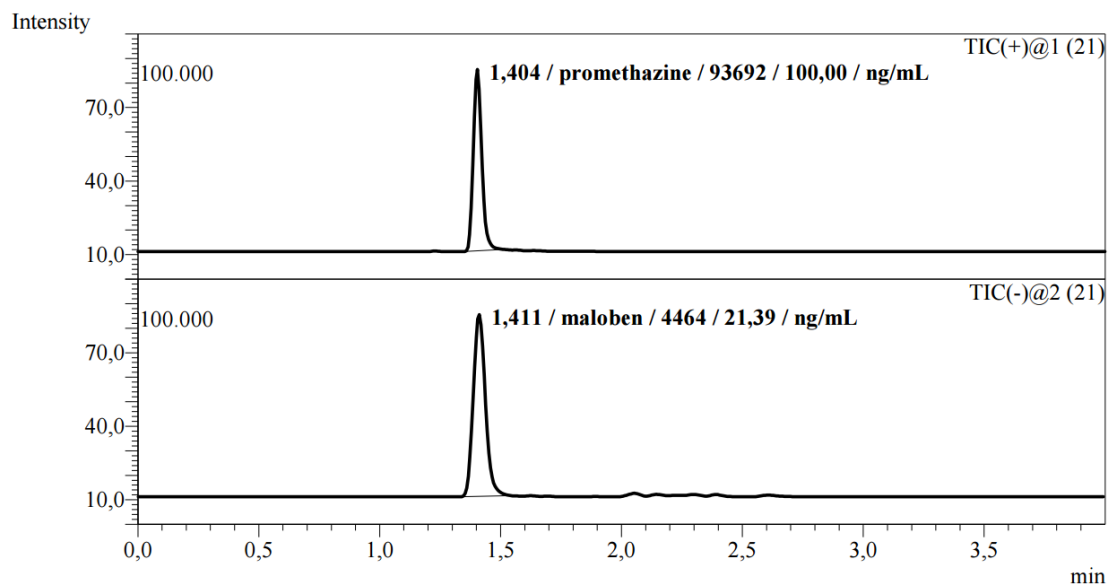


(2)

Хроматограмма модельного образца малобена (1) и этмабена (2)
на уровне нижнего предела количественного определения (НПКО)

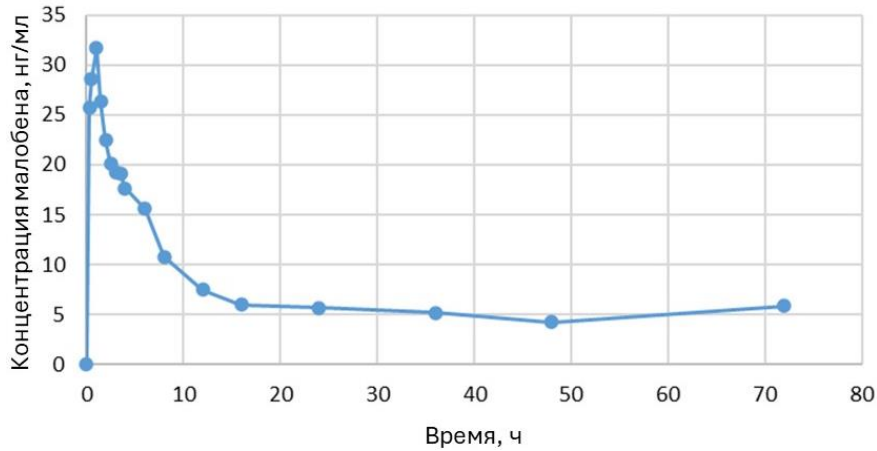
Аналитический этап исследования

I фаза клинического исследования (КИ) по изучению безопасности, переносимости и фармакокинетических (ФК) параметров различных доз препарата «Малобен, 60 мг» (таблетки, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) у здоровых добровольцев

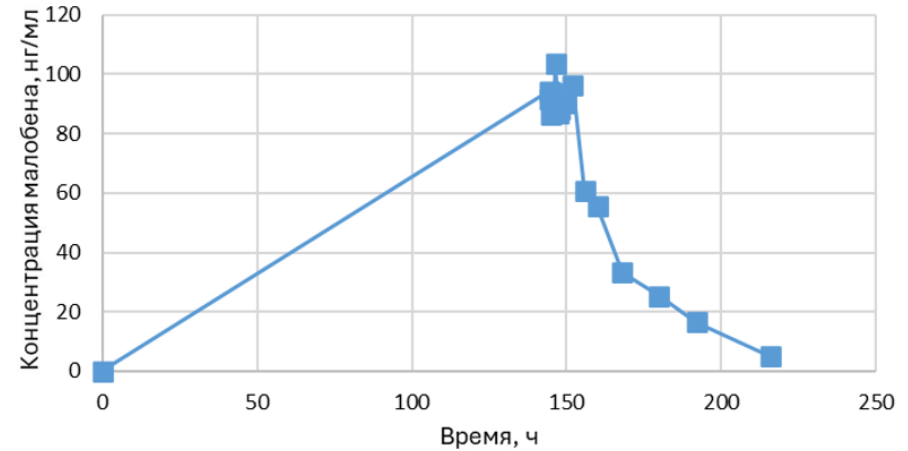


Хроматограмма образца плазмы крови добровольца спустя 3 часа после приема препарата «Малобен» в дозе 120 мг

Статистический этап исследования



(1)

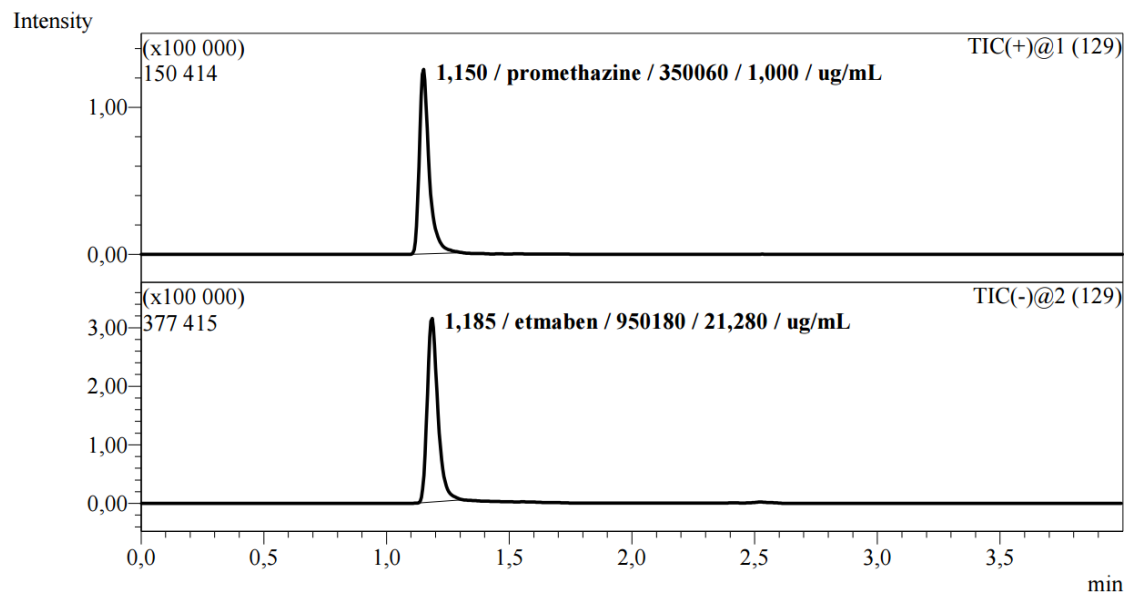


(2)

Индивидуальные фармакокинетические профили препарата «Малобен» (в линейном преобразовании), однократный прием (1) и многократный прием (2)

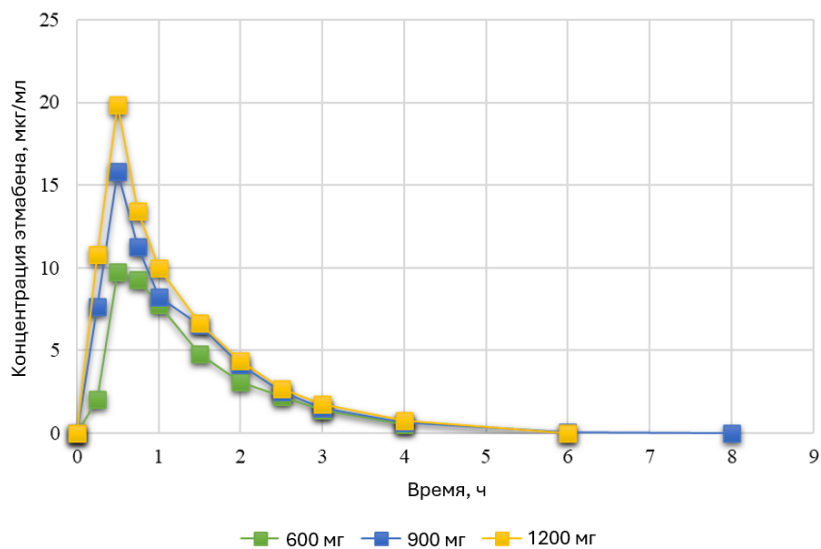
Аналитический этап исследования

I фаза КИ по изучению безопасности, переносимости и фармакокинетических (ФК) параметров различных доз препарата «Этмабен, 300 мг» (таблетки, покрытые оболочкой, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) у здоровых добровольцев

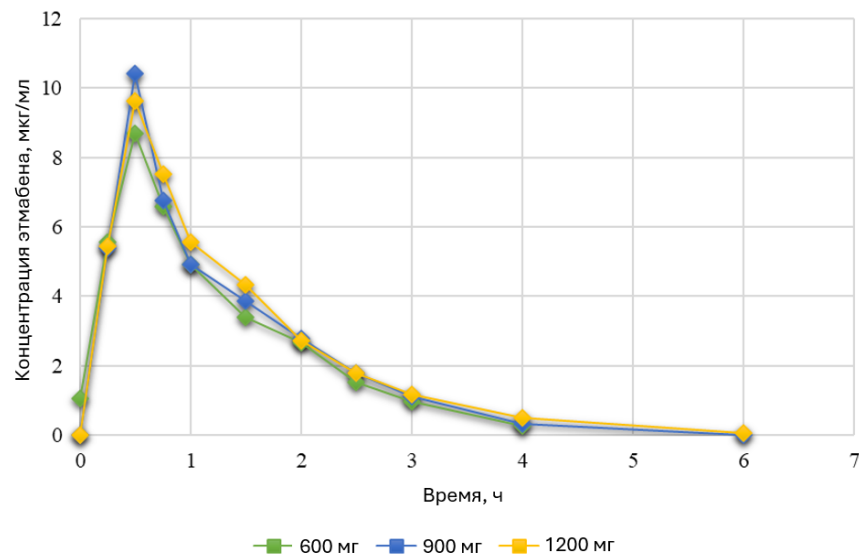


Хроматограмма образца плазмы крови добровольца спустя 30 минут после приема препарата «Этмабен» в дозе 1200 мг

Статистический этап исследования



(1)



(2)

Усредненные фармакокинетические профили препарата «Этмабен»,
однократный прием (1) и многократный прием, день 7 (2)

Спасибо за внимание!