

Сравнительное изучение фармакокинетики периндоприла и его метаболита с помощью разработанного метода ВЭЖХ/МС

Л.М. Красных¹, В.В. Смирнов^{1,2}, Е.А. Егоренков²,
Г.Ф. Василенко¹, С.П. Дементьев², Г.В. Раменская^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия
²Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова, 119991, Москва, Россия

Резюме: Периндоприл является пролекарством, из которого в организме образуется более активный метаболит периндоприлат. В результате проведенного исследования разработана быстрая и легко воспроизводимая методика совместного определения периндоприлата и его метаболита в плазме крови с применением ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором (LC-MS). Детектирование целевого соединения проводили в режиме ионизации при атмосферном давлении в электроспрее (API-ES) в негативной полярности в двух режимах: SIM1 по иону $m/z=368,10$ для периндоприла и SIM2 по иону $m/z=339,30$ для периндоприлата. Время удерживания периндоприла составило около 2,4 мин, для периндоприлата – около 1,4 мин. В качестве пробоподготовки использовался метод твердофазной экстракции. Предел количественного определения методики составил 1 нг/мл для периндоприла и 1 нг/мл для периндоприлата. Разработанный метод был применен для изучения фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов, содержащих периндоприл в дозе 8 мг. Значения всех рассчитанных параметров фармакокинетики статистически достоверно не отличались. Полученные доверительные интервалы попадают в интервал критерия биоэквивалентности (80–125% для AUC и 75–133% для C_{max} и C_{max}/AUC). Изучаемые препараты биоэквивалентны.

Ключевые слова: периндоприл; периндоприлат; ВЭЖХ-МС; фармакокинетика; биоэквивалентность.

Библиографическое описание: Красных ЛМ, Смирнов ВВ, Егоренков ЕА, Василенко ГФ, Дементьев СП, Раменская ГВ. Сравнительное изучение фармакокинетики периндоприла и его метаболита с помощью разработанного метода ВЭЖХ/МС. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (1): 21–25.

COMPARATIVE STUDY OF PERINDOPRIL AND PERINDOPRIL METABOLITE PHARMACOKINETICS USING THE HPLC/MS METHOD

L.M. Krasnykh¹, V.V. Smirnov^{1,2}, E.A. Egorenkov²,
G.F. Vasilenko¹, S.P. Dementyev², G.V. Ramenskaya^{1,2}

¹ Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia
² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

Abstract: Perindopril is a prodrug which is converted to an active metabolite perindoprilat in the human organism. The present study led to the development of a fast and easily reproducible procedure for simultaneous detection of perindoprilat and its metabolite in plasma using HPLC with mass-spectrometric detector (LC-MS). Detection of the target substance was performed using atmospheric pressure electrospray ionization (API-ES) techniques in negative polarity in two modes: SIM1, ion, $m/z=368,10$ for perindopril and SIM2, ion, $m/z=339,30$ for perindoprilat. Retention time of perindopril was about 2,4 min, for perindoprilat – about 1,4 min. Sample processing was performed using solid-phase extraction. The method's limit of quantification was equal to 1 ng/ml for perindopril and 1 ng/ml for perindoprilat. The developed procedure was used to analyse pharmacokinetics and bioequivalence of medicines containing 8 mg of perindopril. Values of all calculated pharmacokinetic parameters had no statistically meaningful differences. Confidence intervals obtained fall within bioequivalence criterion (80–125% for AUC and 75–133% for C_{max} and C_{max}/AUC). The medicines under analysis were found to be bioequivalent.

Key words: perindopril; perindoprilat; HPLC-MS; pharmacokinetics; bioequivalence.

Bibliographic description: Krasnykh LM, Smirnov VV, Egorenkov EA, Vasilenko GF, Dementyev SP, Ramenskaya GV. Comparative study of perindopril and perindopril metabolite pharmacokinetics using the HPLC/MS method. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2015; (1): 21–25.

Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) применяются в кардиологии в течение почти 30 лет. За это время благодаря большому количеству крупных исследований была доказана эффективность этой группы препаратов при лечении артериальной гипертензии (АГ), сердечной недостаточности (СН), дисфункции левого желудочка (ЛЖ), гипертонической и диабетической нефропатии [1].

В настоящее время к ингибиторам АПФ относятся большое количество лекарственных средств, различающихся по физико-химическим и фармакокинетическим свойствам. Большинство ингибиторов АПФ являются пролекарствами и превращаются в активные метаболиты в печени или желудочно-кишечном тракте. Пролекарства более липофильны и после превращения в активные метаболиты лучше проникают в органы-

мишени, однако у пациентов с заболеваниями и нарушениями функции печени наблюдается торможение активации ингибиторов АПФ при первом прохождении через нее, что необходимо учитывать при выборе препарата [2].

В связи с широким использованием ингибиторов АПФ в клинической практике на рынке постоянно появляются новые воспроизведенные препараты из данной фармакологической группы, которые нуждаются в клинических исследованиях или исследованиях биоэквивалентности, поэтому проблема разработки чувствительной, селективной, точной и быстрой методики определения лекарственных веществ и их метаболитов в организме является на сегодняшний день актуальной.

Периндоприл ([2S-[1[R*(R*)], 2альфа, 3а бета, 7а бета]]-1-[2-[[1-(Этоксикарбонил)бутил]амино]-1-оксопропил]-октагидро-1Н-индол-2-карбоновая кислота (в виде трет-бутиламиновой и аргининовой соли) – гипотензивное, сосудорасширяющее, кардиопротективное, натрийуретическое средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента. В настоящем исследовании изучали периндоприл в виде третбутиламиновой соли.

Эмпирическая формула C₁₉H₃₂N₂O₅. Молекулярная масса 368.

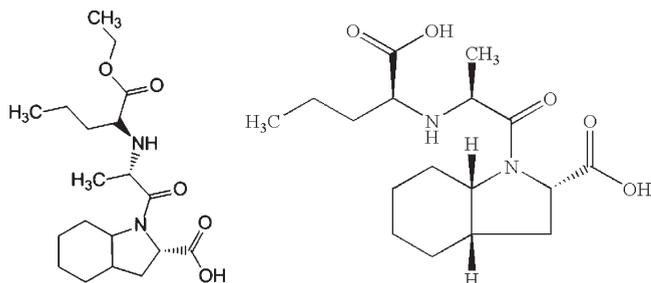


Рис. 1. Химические формулы периндоприла и периндоприлата

Периндоприл является пролекарством, из которого в организме образуется более активный метаболит периндоприлат. Средняя терапевтическая доза периндоприла 2–4 мг/сут, биодоступность составляет 65–95%, уменьшается на 35% при одновременном приеме пищи. Максимальная концентрация периндоприла в крови достигается через 1 ч, периндоприлата – через 3–4 ч [3].

В результате обзора литературы было найдено малое количество методик, посвященных обнаружению в биожидкости данных веществ. Большинство из методик основаны на методах радиоиммунного или газохроматографического анализа с масс-спектрометрическим детектированием ГХ/МС [6, 7, 8]. Для количественного определения периндоприла и периндоприлата в основном используется метод ВЭЖХ/МС/МС [4, 5]; методик же с использованием ВЭЖХ/МС в литературе не найдено.

В изученных методиках ВЭЖХ/МС/МС в качестве количественного определения использовался метод внутреннего стандарта (рамиприл) [4, 5]. В пробоподготовке использовался метод жидкостной [4] и твердофазной [5] экстракции.

Нами был выбран метод ВЭЖХ/МС, в связи с тем, что он более распространен, чем ВЭЖХ/МС/МС, и из-за относительной дешевизны анализа. Но при этом, с помощью него можно добиться необходимой чувствительности методики путем использования твердофазной

экстракции и последующего концентрирования в процессе пробоподготовки.

Целью настоящей работы было изучение сравнительной фармакокинетики препаратов, содержащих периндоприл. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- разработка воспроизводимого и чувствительного метода количественного определения периндоприла и его метаболита в плазме крови методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием;
- расчет фармакокинетических параметров периндоприла и его метаболита после перорального приема испытуемых препаратов;
- статистическая обработка полученных результатов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» (США), оснащенный вакуумным дегазатором, градиентным насосом, автосамплером и термостатом колонок, а также масс-спектрометрическим детектором «Agilent MS 6120» (США) с ионизацией при атмосферном давлении в электроспрее (API-ES).

Обработку данных проводили при помощи программного обеспечения ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США.

В качестве пробоподготовки использовался метод твердофазной экстракции. С помощью микропипетки переносили 750 мкл плазмы в микропробирку. К плазме прибавляли 20 мкл концентрированной ортофосфорной кислоты, 500 мкл воды и перемешивали на мешалке типа вортекс. Данные образцы переносили в картриджи для твердофазной экстракции, в которые предварительно добавляли 1 мл метанола с последующим добавлением 1 мл 2% водного раствора уксусной кислоты. Картридж с загруженным образцом промывали последовательно 2 мл воды, 5% водным раствором метанола и 1 мл воды. Для удаления водной части использовался вакуум в течение 5 мин. Периндоприл и периндоприлат элюировались метанолом объемом 0,5 мл. 50 мкл элюата помещали в автосемплер хроматографа.

Параметры хроматографической системы подбирали таким образом, чтобы получить необходимое разрешение пиков периндоприла и периндоприлата. Разделение происходило в изократическом режиме на колонке Zorbax Eclipse XDB-C18 150×4,6мм 5 мкм при температуре термостата 30°C. Подвижная фаза представляла собой смесь 0,1% раствора аммиака в воде деионизированной и метанола (20:80, об/об). Скорость подвижной фазы составила 0,6 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Параметры работы масс-спектрометрического детектора подбирали исходя из необходимости получения молекулярных ионов определяемых веществ. Детектирование осуществляли в негативной полярности в двух режимах: SIM1 по иону m/z=368,10 для периндоприла и SIM2 по иону m/z=339,30 для периндоприлата. Время удерживания периндоприла составило около 2,4 мин, для периндоприлата – около 1,4 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Валидация разработанной методики. В результате исследования была разработана методика совместного количественного определения периндоприла и его метаболита (периндоприлата) методом ВЭЖХ/МС. Данная методика прошла валидацию по основным параметрам согласно ре-

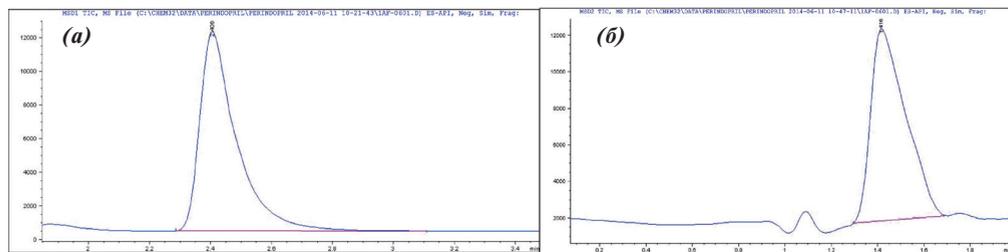


Рис.2. Типичные хроматограммы образцов плазмы крови, содержащих периндоприл (а) и периндоприлат (б)

комендациям по валидации аналитических методик. Была доказана селективность метода путем введения образца плазмы крови без исследуемых веществ со стандартным раствором периндоприла и со стандартным раствором периндоприлата. На хроматограммах образцов чистой плазмы отсутствовали пики, перекрывающиеся со временем удерживания периндоприла и периндоприлата. На хроматограммах образцов плазмы с прибавлением стандартного раствора периндоприла и периндоприлата масс-спектр и время удерживания пиков соответствовали и не изменялись (рис.2 а,б); прочие пики отсутствовали.

В качестве метода количественного определения использовали метод абсолютной калибровки. Методика показала линейную зависимость площади хроматографического пика веществ от концентрации в аналитическом диапазоне концентраций 1–500 нг/мл для периндоприла и 1–250 нг/мл для периндоприлата. На рисунке 3 приведены полученные калибровочные прямые и линейные уравнения с коэффициентами корреляции, значения которых составили более 0,99.

Отклонения калибровочных растворов от фактических значений составили не более 20% для первых точек и 15% для последующих.

Была доказана точность и прецизионность методики путем анализа 3 образцов плазмы крови с прибавлением стандартного раствора периндоприла до получения концентраций 1 нг/мл, 100 нг/мл и 500 нг/мл и стандартного раствора периндоприлата до получения концентраций 1 нг/мл, 100 нг/мл и 500 нг/мл. Каждый раствор хроматографировали 5 раз. Исследование проводи-

ли в течение 1-го дня (intra -day) и 2-го дня (inter-day). Для полученных значений концентраций были рассчитаны величины относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности (ϵ , %), приведенные в таблице 1.

Предел количественного определения (ПКО) методики определяли согласно данным линейности, правильности и прецизионности. За ПКО методики принималась минимальная концентрация периндоприлата в плазме, для которой возможно определение периндоприлата со значениями RSD и ϵ не более 20% в диапазоне линейной зависимости. Предел количественного определения методики составил 1 нг/мл для периндоприла и 1 нг/мл для периндоприлата.

Использование разработанной методики в исследовании сравнительной фармакокинетики препаратов периндоприла. Разработанный метод был применен для изучения фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов с действующим веществом периндоприл в дозе 8 мг производства Россия (1-T) и Германия (2-R) в соответствии с Методическими Указаниями «Проведение исследований биоэквивалентности лекарственных средств» [9]. В исследование были включены 24 добровольца. Фармакокинетическое исследование проводили открытым перекрестным рандомизированным методом в 2 этапа с интервалом между приемами препаратов 14 дней. Образцы крови в количестве 5 мл отбирали катетером из кубитальной вены за 15 мин до приема препарата и через 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24 и 48 ч после приема препарата. Анализ фармакокинетических данных и оценка

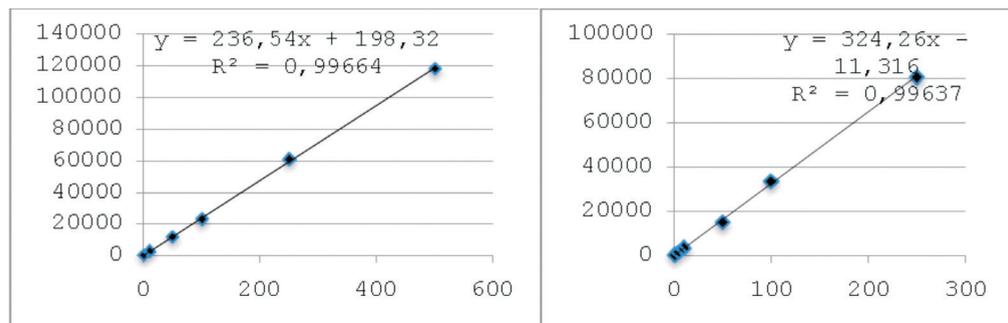


Рис.3. Калибровочные прямые для периндоприла (а) и периндоприлата (б)

Таблица 1

ТОЧНОСТЬ И ПРЕЦИЗИОННОСТЬ МЕТОДИКИ

Номер образца	Периндоприл				Периндоприлат			
	Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day	
	RSD, %	ϵ , %	RSD, %	ϵ , %	RSD, %	ϵ , %	RSD, %	ϵ , %
Образец 1	5,35	10,20	2,94	6,40	2,61	13,60	1,78	8,20
Образец 2	1,73	6,48	3,47	7,83	1,56	7,72	3,00	9,46
Образец 3	1,07	3,77	1,32	3,47	2,67	4,26	1,49	4,57

УСРЕДНЕННЫЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПЕРИНДОПРИЛА И ПЕРИНДОПРИЛАТА ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ПРИЕМА ПРЕПАРАТОВ В ДОЗЕ 8 МГ

Лекарственный препарат	C_{\max}^* , нг/мл	T_{\max} , ч	AUC^* , нг ч/мл	$T_{1/2}$, ч	C_{\max}/AUC^* , ч ⁻¹
Препарат 1-Т					
Периндоприл	225,32±33,45	0,76±0,21	434,63±48,75	6,13±3,39	0,522±0,080
Периндоприлат	24,56±3,05	5,29±0,55	444,42±130,23	22,27±11,71	0,076±0,015
Препарат 2-R					
Периндоприл	227,69±39,65	0,73±0,21	430,54±39,66	6,08±2,02	0,530±0,092
Периндоприлат	25,59±3,46	5,58±0,83	391,95±89,96	17,34±7,44	0,081±0,014

* для периндоприла использовалось значение AUC_{0-t} , для периндоприлата - $AUC_{0-\infty}$ (в соответствии с [9] при достаточной длительности наблюдения, когда $AUC_{0-t} > 80\% AUC_{0-\infty}$, для оценки полноты всасывания исследуемого препарата следует использовать значение AUC_{0-p} , а при условии, что $AUC_{0-t} < 80\% AUC_{0-\infty}$ - значение $AUC_{0-\infty}$).

биоэквивалентности исследуемых препаратов проведены в соответствии с действующими рекомендациями.

Фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью программы «R-statistics», пакет bear, модельно-независимым методом. Были рассчитаны следующие параметры: максимальная концентрация C_{\max} препаратов в крови (максимальное измеренное значение); время достижения максимальной концентрации T_{\max} ; площадь под фармакокинетической кривой AUC_{0-t} ; площадь под фармакокинетической кривой $AUC_{0-\infty}$; период полувыведения $T_{1/2}$; среднее время удержания препаратов в системном кровотоке MRT; относительная скорость всасывания C_{\max}/AUC . Для оценки исследуемого препарата рассчитывали f – относительную биодоступность исследуемой лекарственной формы периндоприла по отношению к сравниваемой, определяемую отношением $AUC, T/AUC, R$; f' – относительную степень всасывания периндоприла, определяемую отношением $C_{\max}, T/C_{\max}, R$; и f'' – относительную скорость всасывания периндоприла, определяемую отношением $(C_{\max}/AUC, T)/(C_{\max}/AUC, R)$.

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке тем же программным обеспечением. Рассчитывались следующие статистические параметры: среднее арифметическое значение, среднее геометрическое значение, стандартное отклонение среднего результата, границы доверительного интервала, проведено парное сравнение фармакокине-

тических параметров. Оценка биоэквивалентности проводилась применительно к параметрам AUC_{0-t} , C_{\max} и C_{\max}/AUC_{0-t} (натуральные и ln-преобразованные данные). Результаты расчетов фармакокинетических параметров изученных препаратов представлены в табл. 2.

Из таблицы видно, что значения всех рассчитанных параметров фармакокинетики статистически достоверно не отличаются.

90% доверительные интервалы для отношений средних параметров AUC , C_{\max} и C_{\max}/AUC составили 94,2–104,6%, 90,677–111,018% и 92,7–105,6% соответственно для периндоприла, и 90,8–104,5%, 97,1–111,4% и 78,8–101,5% для периндоприлата. Полученные доверительные интервалы попадают в интервал критерия биоэквивалентности (80–125% для AUC и 75–133% для C_{\max} и C_{\max}/AUC). Следовательно, изучаемые препараты эквивалентны.

Таким образом, в результате проведенного исследования разработана чувствительная, воспроизводимая методика совместного количественного определения периндоприла и периндоприлата в плазме крови методом ВЭЖХ-МС, отвечающая основным требованиям, предъявляемым к аналитическим методикам. Исходя из результатов, полученных при изучении сравнительной фармакокинетики препаратов, содержащих периндоприл, можно заключить, что препараты с данным действующим веществом отечественного и зарубежного производства являются биоэквивалентными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российские национальные рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии. Второй пересмотр. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2004; (6).
2. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. The seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. JAMA 2003; (289): 2560–72.
3. Жучкова ТВ, Лицарева ЕА, Самойлова ЕЛ, Спивак НЛ, ред. Справочник Видаль. М.: АстраФармСервис; 2003.
4. Nirogi RV et al. High-throughput quantification of perindopril in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study. Rapid Commun Mass Spectrom. 2006; 20(12): 1864–70.
5. Jain DS et al. First LC-MS/MS electrospray ionization validated method for the quantification of perindopril and its metabolite perindoprilat in human plasma and its application to bioequivalence study. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2006; 837(1–2): 92–100.
6. Louis WJ, Workman BS, Conway EL et al. Single-dose and steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of perindopril in hypertensive subjects. J Cardiovasc Pharmacol. 1992; 20(3): 505–11.

REFERENCES

1. Russian national guidelines for the diagnosis and treatment of hypertension. Second revision. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika 2004; (6) (in Russian).
2. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. The seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. JAMA 2003; (289): 2560–72.
3. Zhuchkova, Litsareva EA, Samoylova EL, Spivak NL, eds. Vidal handbook. Moscow: AstraFarmServis; 2003 (in Russian).
4. Nirogi RV et al. High-throughput quantification of perindopril in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study. Rapid Commun Mass Spectrom. 2006; 20(12): 1864–70.
5. Jain DS et al. First LC-MS/MS electrospray ionization validated method for the quantification of perindopril and its metabolite perindoprilat in human plasma and its application to bioequivalence study. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2006; 837(1–2): 92–100.
6. Louis WJ, Workman BS, Conway EL et al. Single-dose and steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of perindopril in hypertensive subjects. J Cardiovasc Pharmacol. 1992; 20(3): 505–11.

7. Van den Berg H, Resplandy G, de Bie AT et al. A new radioimmunoassay for the determination of the angiotensin-converting enzyme inhibitor perindopril and its active metabolite in plasma and urine: advantages of a lysine derivative as immunogen to improve the assay specificity. *J Pharm Biomed Anal.* 1991; 9(7): 517–24.
8. Maurer HH, Kraemer T, Arlt JW. Screening for the detection of angiotensin-converting enzyme inhibitors, their metabolites, and AT II receptor antagonists. *Ther Drug Monit.* 1998; 20(6): 706–13.
9. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания. Минздравсоцразвития РФ; 2008.
7. Van den Berg H, Resplandy G, de Bie AT et al. A new radioimmunoassay for the determination of the angiotensin-converting enzyme inhibitor perindopril and its active metabolite in plasma and urine: advantages of a lysine derivative as immunogen to improve the assay specificity. *J Pharm Biomed Anal.* 1991; 9(7): 517–24.
8. Maurer HH, Kraemer T, Arlt JW. Screening for the detection of angiotensin-converting enzyme inhibitors, their metabolites, and AT II receptor antagonists. *Ther Drug Monit.* 1998; 20(6): 706–13.
9. Conducting qualitative research of bioequivalence of drugs. Methodical instructions. The Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation; 2008 (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Красных Людмила Михайловна. Начальник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. биол. наук.

Смирнов Валерий Валерьевич. Ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук.

Василенко Галина Федоровна. Ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии.

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2.

Егоренков Евгений Андреевич. Аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии.

Дементьев Сергей Петрович. Доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, канд. фарм. наук.

Раменская Галина Владиславовна. Заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, д-р фарм. наук.

AUTHORS:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Krasnykh LM. Head of Clinical Pharmacokinetics Department of Clinical Pharmacology Center. Candidate of Biological Sciences.

Smirnov VV. Leading researcher of Clinical Pharmacokinetics Department of Clinical Pharmacokinetics Department of Clinical Pharmacology Center. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Vasilenko GF. Leading researcher of Clinical Pharmacokinetics Department of Clinical Pharmacology Center.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2 Trubetskaya Street, Moscow, 119991, Russian Federation.

Egorenkov EA. Postgraduate of Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry.

Dementiev SP. Associate Professor of Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Ramenskaya GV. Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Pharmaceutical Sciences.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Красных Людмила Михайловна; lkrasnykhLM59@mail.ru

Статья поступила 15.01.2015 г.

Принята к печати 10.02.2015 г.