

Разработка и валидация методики количественного определения соединений ГЗК-111 и ЦПГ в плазме крови крыс с использованием метода ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием

Подолько А. Л., Бочков П. О., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Грибакина О. Г., Шевченко Р. В., Жердев В. П.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Аннотация. Разработана методика количественного определения соединений ГЗК-111 и ЦПГ в плазме крови крыс. Анализ проводили с использованием совмещённого метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Методика линейна в диапазоне концентраций 25–1000 нг/мл для обоих соединений. Процент извлечения ГЗК-111 из плазмы крови составил 57,8 %. Нижний предел обнаружения для соединения ГЗК-111 составил 25 нг/мл. Процент извлечения соединения ЦПГ составил 42,5 %. Нижний предел обнаружения соединения ЦПГ также составил 25 нг/мл.

Ключевые слова: ГЗК-111; ЦПГ; количественное определение; высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия; плазма крови

Для цитирования:

Подолько А.Л., Бочков П.О., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Жердев В.П. Разработка и валидация методики количественного определения соединений ГЗК-111 и ЦПГ в плазме крови крыс с использованием метода ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 4. – С. 28–36. DOI: 10.37489/2587-7836-2019-4-28-36

HPLC-MS method development and validation for simultaneous quantitation of GZK-111 and CPG compounds in rat plasma

Podolko AL, Bochkov PO, Kolyvanov GB, Litvin AA, Gribakina OG, Shevchenko RV, Zherdev VP
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The technique of quantitative determination of GZK-111 and CPG compounds in rat blood plasma has been developed. The analysis was carried out using the combined method of high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. The method was linear in the concentration range of 25-1000 ng/ml for both compounds. Percentage of GZK-111 extraction from rat blood plasma was 57.8 %. The lower limit of detection for GZK-111 compound was 25 ng/ml. Percentage of extraction of CPG compound was 42.5 %. The lower limit of detection of CPG compound was also 25 ng/ml.

Keywords: GZK-111; CPG; quantitative determination; high-performance liquid chromatography-mass-spectrometry; blood plasma

For citations:

Podolko AL, Bochkov PO, Kolyvanov GB, Litvin AA, Gribakina OG, Shevchenko RV, Zherdev VP. HPLC-MS method development and validation for simultaneous quantitation of GZK-111 and CPG compounds in rat plasma. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;4:28–36. (In Russ). DOI: 10.37489/2587-7836-2019-4-28-36

Введение

Большое внимание медиков и фармакологов уделено проблеме нарушения когнитивных функций. Это связано с тем, что с увеличением продолжительности жизни вопрос сохранения интеллектуальных способностей становится актуальным. К причинам когнитивных расстройств относятся такие факторы, как нейродегенеративные и сосудистые заболевания головного мозга, нейроинфекции и другие патологии. Крайним проявлением тяжёлых когнитивных нарушений является деменция, которая приводит к развитию зависимости от окружающих, что особенно часто наблюдается у людей пожилого и старческого возраста, а также вызывает дополнительные трудности при диагностике и лечении сопутствующих заболеваний. Деменция наблюдается почти у 50 млн людей в мире. Ежегодно регистрируется около 10 млн новых случаев этого заболевания. По прогнозам специалистов, общее число людей с деменцией к 2050 г. достигнет 152 млн человек [1]. Поэтому поиск новых препаратов, эффективных

в терапии когнитивных нарушений, является важной задачей современной фармакологии.

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезирован этиловый эфир N-фенилацетилглицил-L-пролина (ГЗК-111) [2]. Данное соединение предположительно является пролекарством и метаболизируется в организме в нейропептид цикло-L-пролилглицин (ЦПГ), обладающий следующими видами активности: ноотропной [3], нейропротекторной [4], антигипоксической [5] и анксиолитической [6].

Целью настоящего исследования является разработка и валидация методики количественного определения соединений ГЗК-111 и ЦПГ в плазме крови крыс для последующего изучения экспериментальной фармакокинетики.

Материалы и методы

Фармацевтическая субстанция ГЗК-111 (этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина) (рис. 1). Про-

изводитель: ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (г. Москва, РФ). Номер серии – 435.

Фармацевтическая субстанция цикло-L-пролилглицин (ЦПГ) (рис. 2). Производитель: ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (г. Москва, РФ). Серия – КЗ-36.

Использованы следующие растворители и реактивы:

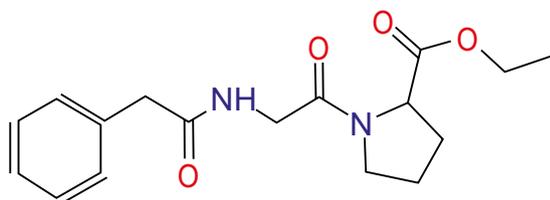


Рис. 1. Структурная формула ГЗК-111

вода ультрачистая «Panreac», «Applichem», ФРГ; аммония ацетат «Merck», ФРГ; кислота муравьиная 85 % «Acros Organics», РФ; ацетонитрил «J.T. Baker», США.

Исследование выполнено с использованием совмещённой системы высокоэффективного жидкостного хроматографа «Agilent 1200» («Agilent», США), с масс-селективным детектором типа ионная ловушка модели «Agilent 6310 Series LC/MSD Ion Trap» («Agilent», США). В составе оборудования дегазатор

Таблица 1

Условия хроматографического анализа соединений ГЗК-111 и ЦПГ в плазме крови

Параметр	Значение		
Колонка	UCT Selectra ETG (150×4,6мм; 5мкм)		
Температура	30 °С		
Режим элюирования	Градиентный		
Состав подвижной фазы	Представлен в табл. 2		
Скорость потока	0,8 мл/мин		
Режим ионизации	Режим положительной ионизации молекул на электроспрее		
Давление газораспылителя	40 psi		
Скорость осушающего газа	8 л/мин		
Температура осушающего газа	350 °С		
Тип детектирования	Соединение	Родительский ион	Дочерний ион
	ГЗК-111	319	144
	ЦПГ	155	-
Объём, вводимой пробы	15 мкл		
Время удерживания	Соединение	Время удерживания	
	ЦПГ	2,9 мин	
	ГЗК-111	7,1 мин	
Время анализа	10,5 мин		

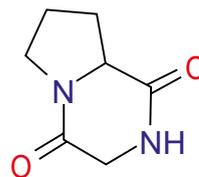


Рис. 2. Структурная формула ЦПГ

подвижной фазы, бинарный насос, система автоматического ввода пробы, термостат хроматографических колонок. Ионизацию молекул соединений ГЗК-111 и ЦПГ проводили в режиме положительной ионизации молекул на электроспрее при атмосферном давлении. Управление совмещённой системой ВЭЖХ-МС осуществлялось компьютером с системой обработки данных «ChemStation» (v.1.0).

Условия хроматографического анализа соединений ГЗК-111 и ЦПГ представлены в табл. 1.

Рабочую подвижную фазу, используемую для градиентного элюирования целевых компонентов, получали смешиванием растворов А и Б бинарным насосом хроматографа по следующей программе, представленной в табл. 2.

Таблица 2

Соотношение компонентов А и Б подвижной фазы в зависимости от времени, прошедшего с начала хроматографического анализа

Время, мин	Раствор А, %	Раствор Б, %
0,0	85	15
2,7	85	15
3,5	20	80
5,0	20	80
6,0	85	15
10,5	85	15

В настоящей методике матрицей для приготовления калибровочных стандартов служила плазма крови крыс с массой тела 180–220 г, полученных из питомника Филиал «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», (Московская обл.). Образцы крови получали методом декапитации интактных животных. Плазму крови получали центрифугированием образцов цельной крови при 3 500 об/мин в течение 10 мин. Образцы плазмы крови крыс хранили при –50 °С.

Пробоподготовка

Совместное извлечение целевых соединений ГЗК-111 и ЦПГ из образцов плазмы крови крыс проводили методом осаждения белков с последующей экстракцией белкового осадка ацетонитрилом. К образцам плазмы крови объёмом 250 мкл

добавляли 1 250 мкл ацетонитрилом, тщательно перемешивали на встряхивателе Vortex, после чего центрифугировали в течение 15 мин при скорости 6 000 об/мин. Надосадочную жидкость переносили в пробирки конические. К осадку добавляли 500 мкл ацетонитрила, помещали на орбитальный встряхиватель и проводили процедуру повторной экстракции в течение 20 мин. Органический слой отделяли, полученные экстракты совмещали и упаривали на водяной бане в токе воздуха при нагревании до 60 °С. Полученный сухой остаток растворяли в 250 мкл подвижной хроматографической фазы (соотношение компонентов А:Б = 40:60), фильтровали, после чего переносили в хроматографические виалы, оснащённые коническими пластиковыми вставками (внутренним объёмом 250 мкл). Полученные растворы помещали на устройство автоматического ввода хроматографа.

Приготовление сток-раствора (матричного раствора)

Матричные растворы соединений ГЗК-111 и ЦПГ с концентрацией 100 мкг/мл готовили растворением в воде точной навески (0,0100 г) соединений в мерной колбе вместимостью 100 мл.

Приготовление калибровочных стандартов

В работе использовали следующие калибровочные стандарты с равными концентрациями соединений

ГЗК-111 и ЦПГ в растворе: 25, 50, 75, 100, 125, 250, 500, 750 и 1 000 нг/мл.

Калибровочные стандарты для валидации были приготовлены путём последовательного разбавления матричного раствора интактной плазмой. Диапазон концентраций соединений ГЗК-111 и ЦПГ выбирался исходя из концентраций, ожидаемых в исследовании экспериментальной фармакокинетики.

Концентрации целевых соединений в анализируемых пробах определяли методом абсолютной калибровки.

Результаты и обсуждения

Валидацию методики проводили в соответствии с «Руководством по валидации аналитических методик для производителей лекарств» [7]. В приведённых выше условиях время удерживания соединения ЦПГ составило около 2,9 мин (рис. 3 а); время удерживания соединения ГЗК-111 составило около 7,1 мин (рис. 3 а).

Селективность

Для определения селективности были протестированы 6 образцов биологической матрицы (плазма крови) на возможность создания помех потенциально мешающими веществами (эндогенные компоненты плазмы крови, метаболиты, продукты деструкции и др.).

На рис. 3 представлены типичные хроматограммы интактной плазмы крови крыс (б) и экстракта плаз-

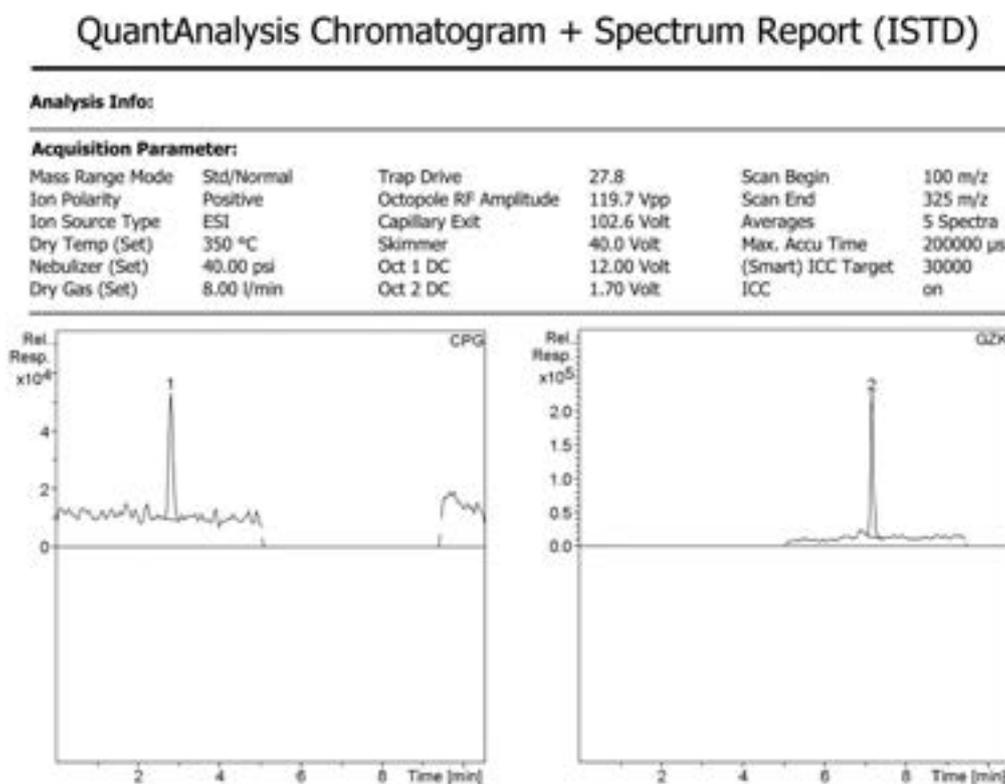


Рис. 3а. Хроматограмма плазмы крови, содержащей 25 нг/мл соединений ЦПГ и ГЗК-111

QuantAnalysis Chromatogram + Spectrum Report (ISTD)

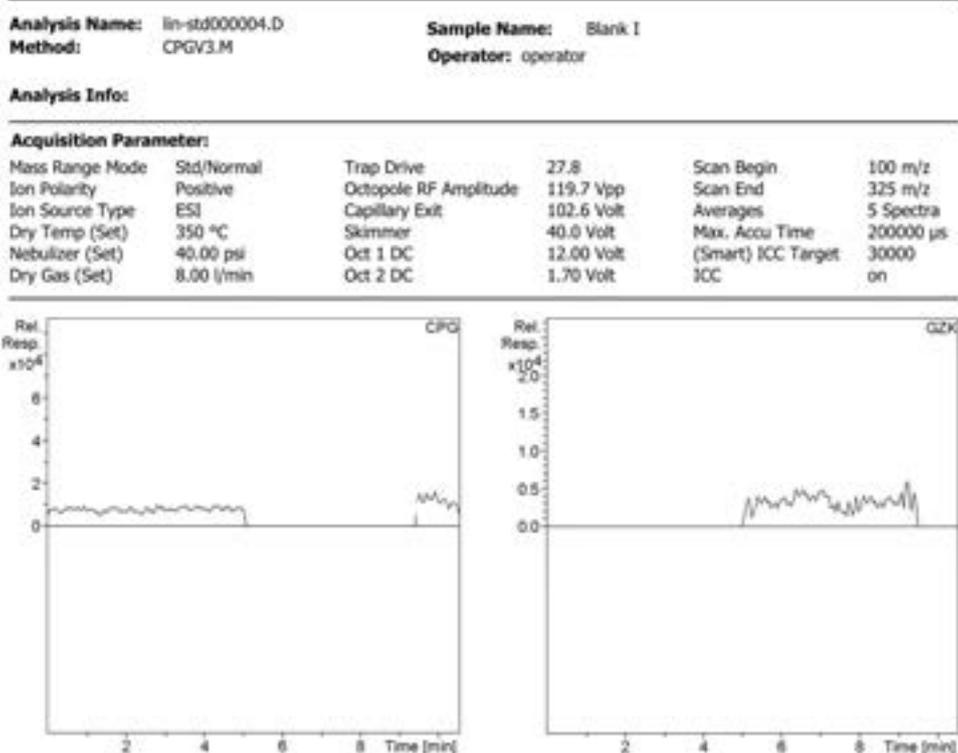


Рис. 3б. Хроматограмма интактной плазмы крови

мы крови, содержащего 25 нг/мл соединений ЦПГ и ГЗК-111(а). Из рис. 3 видно, что потенциально мешающие вещества не оказывают влияния на анализ целевых соединений.

Линейность и чувствительность

Калибровочная кривая построена с использованием 9 калибровочных стандартов, охватывающих ожидаемый диапазон концентраций соединений ЦПГ и ГЗК-111 в плазме крови крыс (25–1 000 нг/мл).

Самый низкий стандарт на калибровочной кривой ГЗК-111 и ЦПГ с концентрацией обоих соединений 25 нг/мл был принят в качестве предела количественного определения, т. к. были выполнены следующие условия.

Показания стандарта на нижнем пределе количественного определения (НПКО) были не менее чем в 5 раз выше показаний пробы интактной плазмы крови. Значение стандарта на уровне НПКО поддавались определению и были дискретными и воспроизводимыми с точностью 13,97 % для соединения ЦПГ и 15,15 % для соединения ГЗК-111 (оба значения не превышают 20 %), и воспроизводимостью 97,27 % для соединения ЦПГ и 95,14 % (оба значения входят в диапазон 80–120 %).

Предел обнаружения соединений ГЗК-111 и ЦПГ составил 25 нг/мл. Зависимость величины хроматографических пиков от концентраций калибровочных

стандартов соединений ГЗК-111 и ЦПГ соответственно в области измерения методики была линейной в рассматриваемом диапазоне концентраций.

Для описания изучаемой зависимости использовалась линейная аппроксимация типа $y = a + b \times x$. Данная зависимость признана приемлемой, поскольку коэффициент корреляции для всех 3 калибровок был выше 0,99.

Параметры калибровочных кривых (коэффициенты уравнения и коэффициенты корреляции) представлены в табл. 3 и 4.

Для оценки прецизионности результатов для обоих соединений были построены 3 калибровочные кривые и проведён обратный расчёт концентраций используемых стандартов по всем кривым и определены статистические характеристики.

Прецизионность результатов с учётом критериев приемлемости достигается во всем используемом интервале концентраций (табл. 5 и 6).

Критерии приемлемости по калибровочным стандартам:

1. Отклонения нижнего стандарта кривой от теоретической концентрации не более 20 %.
2. Отклонения всех остальных стандартов не более 15 %.

Таблица 3

Параметры калибровочных кривых ЦПГ в плазме крови крыс

Калибровочная кривая	a	b	r
1	28 367,28	10 128,14	0,998
2	194 470,71	9 212,77	0,999
3	181 248,58	9 223,60	0,998

Примечания: a – участок, отсекаемый от оси ординат; b – наклон кривой; r – коэффициент корреляции.

Таблица 4

Параметры калибровочных кривых ГЗК-111 в плазме крови крыс

Калибровочная кривая	a	b	r
1	2 133 392,07	31 255,72	0,995
2	1 914 246,12	38 085,22	0,995
3	1 934 116,66	31 714,81	0,993

Примечания: a – участок, отсекаемый от оси ординат; b – наклон кривой; r – коэффициент корреляции.

3. Не менее 75 % ненулевых стандартов, включая нижний и верхний калибровочный стандарт, должны удовлетворять вышеуказанным требованиям; все зна-

чения, которые не попадают в эти пределы, можно не учитывать, при условии, что они не изменяют установленную линейную модель.

Как видно из данных табл. 5 и 6 отклонения нижнего стандарта кривой от теоретической концентрации составили для соединения ЦПГ 2,73 %; для соединения ГЗК-111 – 4,86 %, т. е. для обоих соединений соответствующие значения составили менее 20 %. Отклонения всех остальных стандартов были менее 15 %, что также удовлетворяет критериям приемлемости.

Правильность и воспроизводимость внутри одной аналитической серии

Правильность и воспроизводимость внутри одной аналитической серии оценивались по результатам параллельных анализов образцов контроля качества (КК) с концентрациями соединений ГЗК-111 и ЦПГ 25, 75, 500 и 1 000 нг/мл. Каждый образец КК определялся в 6 повторениях. Расчёт концентраций образцов КК проводился по калибровочной кривой, полученной в составе той же аналитической серии. Данные по точности и прецизионности определения соединений ЦПГ и ГЗК-111 в плазме крови внутри одного цикла представлены в табл. 7 и 8 и удовлетворяют следующим критериям приемлемости: воспроизводимость –

Таблица 5

Концентрации стандартов соединения ЦПГ, рассчитанные по уравнениям калибровочных кривых

№/№ Калибровочной кривой	Стд. A2	Стд. B2	Стд. C2	Стд. D2	Стд. E2	Стд. F2	Стд. H2	Стд. J2	Стд. K2
1	21,94	54,68	89,64	112,39	106,29	243,45	534,64	737,24	994,73
2	29,79	41,61	70,37	89,92	141,33	277,80	557,02	714,44	1 009,33
3	26,92	47,65	53,56	77,60	152,74	262,69	487,39	701,49	991,48
\bar{x}	26,21	47,98	71,19	93,30	133,45	261,32	526,35	717,72	998,51
SD	3,97	6,54	18,06	17,64	24,21	17,21	35,55	18,10	9,50
CV %	15,15	13,63	25,36	18,90	18,14	6,59	6,75	2,52	0,95
% от теоретического	4,86	4,04	5,08	6,70	6,76	4,53	5,27	4,30	0,15

Примечание: в таблице приведены концентрации стандартных растворов и их статистические характеристики.

Таблица 6

Концентрации стандартов соединения ГЗК-111, рассчитанные по уравнениям калибровочных кривых

№/№ Калибровочной кривой	Стд. A2	Стд. B2	Стд. C2	Стд. D2	Стд. E2	Стд. F2	Стд. H2	Стд. J2	Стд. K2
1	21,94	54,68	89,64	112,39	106,29	243,45	534,64	737,24	994,73
2	29,79	41,61	70,37	89,92	141,33	277,80	557,02	714,44	1 009,33
3	26,92	47,65	53,56	77,60	152,74	262,69	487,39	701,49	991,48
\bar{x}	26,21	47,98	71,19	93,30	133,45	261,32	526,35	717,72	998,51
SD	3,97	6,54	18,06	17,64	24,21	17,21	35,55	18,10	9,50
CV %	15,15	13,63	25,36	18,90	18,14	6,59	6,75	2,52	0,95
% от теоретического	4,86	4,04	5,08	6,70	6,76	4,53	5,27	4,30	0,15

Примечание: в таблице приведены концентрации стандартных растворов и их статистические характеристики.

Таблица 7

Правильность и воспроизводимость определения соединения ЦПГ в плазме крови крыс внутри одного аналитического цикла

№/№ калибровочной кривой	25 нг/мл	75 нг/мл	500 нг/мл	1 000 нг/мл
2	20,00	84,58	527,15	978,28
	27,29	66,25	517,80	973,54
	24,38	86,33	483,34	1 285,16
	26,24	68,52	467,39	990,25
	21,97	90,09	467,79	1 175,41
	19,30	65,59	561,49	1 097,80
\bar{x}	23,19	76,89	504,16	1 083,41
SD	3,30	11,26	37,71	127,42
CV %	4,22	14,64	7,48	11,76
% от теоретического	7,22	2,52	0,83	8,34

Таблица 8

Точность и прецизионность определения соединения ГЗК-111 в плазме крови крыс внутри одного аналитического цикла

№/№ калибровочной кривой	25 нг/мл	75 нг/мл	500 нг/мл	1 000 нг/мл
2	19,44	87,87	462,91	1 120,28
	22,61	90,54	450,15	1 232,99
	28,66	75,94	574,20	945,16
	29,00	73,16	490,64	944,84
	20,82	72,13	517,79	931,10
	25,63	64,71	531,88	1 182,71
\bar{x}	24,36	77,39	504,59	1 059,51
SD	4,03	9,91	46,18	135,41
CV %	16,56	12,81	9,15	12,78
% от теоретического	2,57	3,19	0,92	5,95

средние значения концентрации образца КК не должны превышать 15 % от теоретической величины, за исключением значения на уровне нижнего количественного предела, где допускается отклонение не выше 20 %; правильность – С.V. % значений концентраций каждого образца КК не должен превышать 15 %, за исключением значений НПКО, где этот параметр не должен быть выше 20 % [7].

Степень извлечения

Степень извлечения соединений ЦПГ и ГЗК-111 из плазмы крови определялась путём сравнения площадей хроматографических пиков образцов контроля качества (принимались за 100 %) с площадями пиков тех же проб, которые подвергались процедуре пробоподготовки. Измерения каждого уровня концентрации стандартов (низкий – 25, средний – 250 и высокий – 500 нг/мл) проводили в трёх повторностях. Установлено, что процент извлечения соединений ЦПГ и ГЗК-111 из плазмы крови составил 42,5 и 57,8 %, соответственно.

Стабильность препарата после пробоподготовки

Для оценки стабильности соединений ЦПГ и ГЗК-111 в плазме крови использовались образцы контроля

качества с концентрацией целевых соединений 25 и 500 нг/мл, которые хранились при комнатной температуре и дневном свете после пробоподготовки в течение 8 ч. Далее проводили анализ образцов вместе со свежеприготовленными образцами в составе одной аналитической серии. Рассчитанные концентрации ЦПГ и ГЗК-111 после хранения при комнатной температуре сравнивали со средними значениями концентраций соединений в свежеприготовленных образцах контроля качества. Полученные значения должны были удовлетворять критерию приемлемости, т. е. разница между результатами анализа до и после хранения не превышает 15 %.

Из данных табл. 9 и 10 следует, что концентрации соединений ЦПГ и ГЗК-111 после хранения при комнатной температуре в течение 8 ч удовлетворяют критерию приемлемости.

Заключение

Проведена валидация аналитической методики количественного определения соединений ЦПГ и ГЗК-111 в плазме крови методом высокоэффективной жид-

Таблица 9

Краткосрочная стабильность соединения ЦПГ после пробоподготовки и хранения при комнатной температуре в течение 8 ч

Калибровочная кривая	Образцы после пробоподготовки		Свежеприготовленные образцы	
	25 нг/мл	500 нг/мл	25 нг/мл	500 нг/мл
2	20,00	527,15	24,58	578,28
	27,29	517,80	26,25	573,54
	24,38	583,34	26,33	485,16
	26,24	567,39	18,52	490,25
	21,97	567,79	20,09	575,41
	19,30	491,49	25,59	497,80
\bar{x}	23,19	542,49	23,56	533,41
SD	3,30	35,71	3,39	46,58
CV %	14,21	6,58	14,40	8,73
Разница, %	7,22	8,50	5,77	6,68

Таблица 10

Краткосрочная стабильность соединения ГЗК-111 после пробоподготовки и хранения при комнатной температуре в течение 8 ч

Калибровочная кривая	Образцы после пробоподготовки		Свежеприготовленные образцы	
	25 нг/мл	500 нг/мл	25 нг/мл	500 нг/мл
2	29,44	492,91	27,87	520,28
	22,61	550,15	30,54	532,99
	28,66	474,20	25,94	545,16
	29,00	590,64	23,16	544,84
	20,82	517,79	22,13	531,10
	25,63	531,88	24,71	482,71
\bar{x}	26,02	526,26	25,72	526,18
SD	3,64	41,57	3,11	23,25
CV %	14,00	7,90	12,09	4,42
Разница, %	4,10	5,25	2,90	5,24

костной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Нижний предел количественного определения соединения ЦПГ составил 25 нг/мл, ГЗК-111 – 25 нг/мл. Точность и прецизионность результатов анализа с учётом критериев приемлемости

соблюдались во всём интервале исследуемых концентраций для обоих соединений (25–1000 нг/мл). При комнатной температуре пробы стабильны после пробоподготовки на протяжении 8 ч.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Подолько Анна Леонидовна

ORCID ID: 0000-0003-2418-8055

SPIN-код: 4707-3068

м. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Podolko Anna

ORCID ID: 0000-0003-2418-8055

SPIN code: 4707-3068

Junior Research Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Бочков Павел Олегович

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN-код: 5576-8174

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Bochkov Pavel

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN code: 5576-8174

Candidate of Biological Sciences, Senior Research
Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Кольванов Геннадий Борисович

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN-код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Kolyvanov Gennadiy

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN code: 2538-8639

Doctor of Biological Sciences, Leading researcher
of the laboratory of pharmacokinetics FSBI
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литвин Александр Алексеевич

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN-код: 6193-5770

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Litvin Alexander

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN code: 6193-5770

Doctor of Biological Sciences, leading researcher
of the laboratory of pharmacokinetics FSBI
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Грибакина Оксана Геннадьевна

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN-код: 6266-8161

к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Gribakina Oхana

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN code: 6266-8161

Candidate of Biological Sciences, Research Officer
of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov
institute of Pharmacology», Moscow

Шевченко Роман Владимирович

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN-код: 1844-6202

к. м. н., н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Shevchenko Roman

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN code: 1844-6202

Candidate of Medical Sciences, Research Officer
of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov
institute of Pharmacology», Moscow

Жердев Владимир Павлович

Автор, ответственный за переписку

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией
фармакокинетики ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт фармакологии
имени В.В. Закусова», Москва

Zherdev Vladimir

Corresponding author

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN code: 2213-9592

Doctor of Medical Sciences, professor, Head of
laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov
institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
2. Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А., и др. Этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина метаболизируется до цикло-L-пролилглицина, проявляя сходный спектр нейрорепрессивной активности // *Хим.-фарм. ж.* — 2016. — Т. 50. — № 11. — С. 3–8. [Gudasheva TA, Kolyasnikova KN, Kuznetsova YeA, et al. Etilovyy efir N-fenilatsetil-glicsil-L-prolina metaboliziruyetsya do tsiklo-L-prolilglitsina, proyavlyaya skhodnyy spektr neyropsikhotropnoy aktivnosti. *Khim.-farm. zh.* 2016;50(11):3-8. (In Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-11-3-8
3. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-propylglycine in rat brain. *FEBS Lett.* 1996;391(1-2):149–152. DOI:10.1016/0014-5793(96)00722-3
4. Поварнина П.Ю., Колясникова К.Н., Николаев С.В., и др. Нейропептид циклопролилглицин проявляет нейропротективную активность при системном введении на модели неполной глобальной ишемии у крыс и в условиях глутаматной нейротоксичности *in vitro* // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* — 2015. — Т. 160. — № 11. — С. 600–603. [Povarnina PY, Kolyasnikova KN, Nikolayev SV, et al. Neuropeptid tsikloprolilglitsin proyavlyayet neyroprotektivnyuyu aktivnost' pri sistemnom vvedenii na modeli nepolnoy global'noy ishemii u krysi i v usloviyakh glutamatnoy neyrotoksichnosti *in vitro*. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny.* 2015;160(11):600–603. (In Russ).] DOI 10.1007/s10517-016-3241-5
5. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А., и др. Сходство цикло-пролилглицина с пираретамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам // *Эксперим. клин. фармакол.* — 2012. — Т. 75. — № 9. — С. 3–6. [Kolyasnikova KN, Gudasheva TA, Nazarova GA, et al. Skhodstvo tsiklo-prolilglitsina s pirarsetamom po antigipoksicheskomu i neyroprotekturnomu efektam. *Eksperim. klin. farmakol.* 2012;75(9):3–6 (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2012-75-9-3-6
6. Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У., Середенин С.Б. Анксиолитическая активность эндогенного ноотропного пептида циклопропилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* — 2001. — Т. 131. — № 5. — С. 547–550. [Gudasheva TA, Konstantinopol'skiy MA, Ostrovskaya RU, Seredenin SB. Anksioliticheskaya aktivnost' endogennoy nootropnoy peptida tsiklopropilglitsina v teste pripodnyatogo krestooobraznogo labirinta. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny.* 2001;131(5):547–550. (In Russ).]
7. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / под ред. В.В. Береговых — М.: Литтерра, 2008. — 132 с. [Validierung analytischer Verfahren der fictiven Firma "Muster" für die Arzneimittel-Herstellung (der Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller (BAH)), 2004. (In Russ).]