

Разработка метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) для определения ривастигмина в плазме крови человека в клинических исследованиях сравнительной фармакокинетики

*М. С. ДОЛОВ^{1,2}, Л. А. ФИШГОЙТ¹, П. Д. СОБОЛЕВ², Е. П. ТКАЧ³

¹ Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

² Общество с Ограниченной Ответственностью «Экзакт Лабс», Москва, Россия

³ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, Москва Россия

Development of a High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS) Method to Determine the Presence of Rivastigmine in Human Plasma in Clinical Studies of Comparative Pharmacokinetics

*MAXIM S. DOLOV^{1,2}, LARISA A. FISHGOIT¹, PAVEL D. SOBOLEV², ELIZAVETA P. TKACH³

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Analytical center «Exacte Labs», Moscow, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Резюме

Основой проведения исследований биоэквивалентности является определение биодоступности действующего вещества лекарственного препарата в месте своего действия для установления концентрации лекарственного вещества в биологических жидкостях с помощью чувствительных аналитических методик. Используемая биоаналитическая методика должна обеспечить получение надёжных результатов, поддающихся удовлетворительной интерпретации. Для проведения исследования биоэквивалентности препаратов ривастигмина нами был разработан в 8 раз более чувствительный метод (по сравнению с данными в доступной литературе) количественного определения вышеуказанного активного вещества в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Извлечение ривастигмина из плазмы осуществляется преципитацией белков плазмы ацетонитрилом. Хроматографическое разделение ривастигмина и внутреннего стандарта осуществляли на колонке YMC Triart C18, 50×2,0 мм, (1,9 μm) в градиентном режиме элюирования со скоростью потока 0,5 мл/мин. В качестве подвижных фаз использовался 0,1% раствор гидроксида аммония и ацетонитрил. Нижний предел количественного определения метода составил 25 пг/мл.

Ключевые слова: ривастигмин; разработка метода ВЭЖХ-МС/МС; исследования биоэквивалентности

Для цитирования: Долов М. С., Фишгойт Л. А., Соболев П. Д., Ткач Е. П. Разработка метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) для определения ривастигмина в плазме крови человека в клинических исследованиях сравнительной фармакокинетики. *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 11–12: 22–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-22-28>.

Abstract

The basis for conducting bioequivalence studies is the determination of the bioavailability of the active substance of the drug at its place of action by establishing the concentration of the drug in biological fluids using sensitive analytical techniques. The bioanalytical technique used should provide reliable results which would lead to satisfactory level of interpretation. To investigate the bioequivalence of rivastigmine preparations, an 8 times more sensitive method (compared to the data in the available literature) for the quantitative determination of rivastigmine in human blood plasma by HPLC-MS/MS was developed. Rivastigmine is extracted from plasma by precipitation of plasma proteins with acetonitrile. Chromatographic separation of rivastigmine and the internal standard was carried out on a YMC Triart C18. 50×2.0 mm (1.9 μm)

© Коллектив авторов, 2022

*Адрес для корреспонденции: Ленинские горы, д. 1, МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия, 119991.
E-mail: dolovmaxim@gmail.com

© Team of Authors, 2022

*Correspondence to: 1 Leninskie gory, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia.
E-mail: dolovmaxim@gmail.com

column in a gradient elution mode with a flow rate of 0.5 ml/min. A 0.1% solution of ammonium hydroxide and acetonitrile were used as mobile phases. The lower limit of the quantitative determination of the method was 25 pg/ml.

Keywords: rivastigmine; development of a HPLC-MS/MS method; bioequivalence

For citation: Dolov M. S., Fishgoit L. A., Sobolev P. D., Tkach E. P. Development of a high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (hplc-ms/ms) method to determine the presence of rivastigmine in human plasma in clinical studies of comparative pharmacokinetics. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 11–12: 22–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-22-28>.

Введение

В основе разработки и регистрации воспроизведённых лекарственных препаратов лежат сравнительные фармакокинетические клинические исследования биоэквивалентности, которые позволяют экстраполировать полученные ранее результаты изучения эффективности и безопасности с референтного лекарственного препарата на воспроизведённые лекарственные препараты без необходимости изучения последних в крупномасштабных клинических исследованиях [1, 2].

Основой проведения исследований биоэквивалентности является определение биодоступности действующего вещества лекарственного препарата в месте своего действия с помощью установления концентрации лекарственного вещества в биологических жидкостях с помощью чувствительных аналитических методик [3]. Используемая биоаналитическая методика должна обеспечить получение надёжных результатов, поддающихся удовлетворительной интерпретации.

ВЭЖХ-МС/МС является одним из наиболее часто используемых методов для количественного определения лекарственных препаратов в различных биологических матрицах. Это связано с высокой степенью специфичности и чувствительности данного метода анализа, что особенно важно при работе с биологическими жидкостями (плазма, кровь, слюна).

До настоящего времени воспроизведённых препаратов ривастигмина в РФ не зарегистрировано, поэтому разработка и регистрация таких генериков является очень необходимой и своевременной с учётом того, что ривастигмин входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2022 г. [4], в Стандарт медицинской помощи пациентам пожилого и старческого возраста при когнитивных расстройствах (диагностика и лечение) [5], в Стандарт специализированной медицинской помощи при болезни Альцгеймера [6], в Стандарт первичной медико-санитарной помощи при органических, включая симптоматические, психических расстройствах, деменции при других болезнях, классифицированных в других рубриках [7].

Ривастигмин — селективный ингибитор ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы карбаматного типа, замедляет разрушение ацетил-

холина, вырабатываемого нейронами, улучшает симпатическую передачу. Препарат селективно увеличивает содержание ацетилхолина в коре головного мозга и гиппокампе и способствует улучшению холинергической нервной передачи. Ривастигмин применяется для лечения болезни Альцгеймера и деменции при болезни Паркинсона [8]. Оригинальным препаратом ривастигмина является Экселон®, Новартис Фарма АГ, Швейцария. Оригинальный препарат выпускается как в пероральных, так и в трансдермальных лекарственных формах.

Разработка надёжного и высокочувствительного аналитического метода, позволяющего определять ривастигмин в биологических жидкостях, в частности, в плазме крови, с учётом требований законодательства в части регистрации лекарственных средств по правилам Евразийского экономического союза (ЕАЭС), переход на которые осуществлён с 1 января 2021 г., является безусловно актуальной. Согласно требованиям законодательства ЕАЭС, нижний предел количественного определения (НПКО) методики должен обеспечивать определение концентрации лекарственного вещества на уровне не ниже 5% от максимальной концентрации в биологической жидкости (в случае ривастигмина — в плазме крови) [9].

Исследования фармакокинетики зарубежных воспроизведённых препаратов ривастигмина показывают, что максимальная концентрация в плазме крови при однократном приёме препарата, содержащего 3 мг действующего вещества, составляет около 6 нг/мл [10, 11]. Наиболее низкий показатель НПКО в опубликованных ранее работах составляет 0,2 нг/мл, что может оказаться недостаточным для достоверной статистической обработки данных исследований биоэквивалентности более низкой дозировки ривастигмина (1,5 мг). Поэтому была поставлена задача разработать метод, который имеет большую чувствительность по отношению к уже существующим (25 пг/мл (0,025 нг/мл)).

Материал и методы

В качестве матрицы использовали плазму крови здоровых добровольцев, не принимавших препарат, собранную в вакуумные пробирки с антикоагулянтом K₂EDTA. Для приготовления растворов исследуемого анализа и внутреннего стандарта были использованы стандартные образцы производства Toronto Research Chemicals, Канада.

Ривастигмина тартрат — белый или почти белый кристаллический порошок (рис. 1). Хорошо растворим в воде, растворим в этаноле и ацетонитриле, незначительно растворим в *n*-октаноле, слабо растворим в этилацетате. Коэффициент растворения при 37°C *n*-октанол/фосфатный буфер pH 7 равен 3,0. Молекулярная масса — 250,3 Да [12].

В качестве внутреннего стандарта был выбран атазанавир-d₅, подходящий по хроматографическим параметрам (близкое время удерживания, правильная форма пика), с молекулярной массой 709,9 Да (рис. 2).

Хроматографическое разделение с компонентами матрицы осуществляли с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Nexera XR (Shimadzu). В исследовании использовали аналитическую колонку YMC Triart C18 2,0×50 мм, 1,9 мкм. Элюирование проводили в градиентном режиме с использованием в качестве подвижных фаз ацетонитрила и раствора аммония гидроксида в воде деионизированной. Масс-спектрометрическое детектирование осуществляли при помощи системы QTrap 5500 (ABSciex) с электрораспылительным источником ионов.

Подбор условий масс-спектрометрического детектирования проводили при прямом вводе образца в раствор ацетонитрил/вода в соотношении 1/1 с добавкой 0,1% муравьиной кислоты. Прямой ввод исследуемых образцов в масс-хроматограф осуществляли с помощью шприцевого насоса диаметром 4,61 мм со скоростью 10 мкл/мин.

При разработке методики количественного определения ривастигмина подбирали оптимальные условия ВЭЖХ и масс-детектирования. Для этого проводили ввод стандартного раствора ривастигмина через ВЭЖХ систему для достижения оптимального времени удерживания и правильной формы пика. Также для достижения необходимой точности и воспроизводимости был подобран внутренний стандарт (атазанавир-d₅, см. рис. 2). Для количественного определения проводили построение калибровочного графика в диапазоне концентраций от 25 до 5000 нг/мл ривастигмина.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования осуществляли поиск материнского иона исследуемого образца путём его прямого ввода в масс-спектрометр с помощью шприцевого насоса. На этапе пробоподготовки получали раствор ривастигмина (100 нг/мл) в смеси ацетонитрил + вода в соотношении 1 : 1 с добавкой 0,1% муравьиной кислоты. На первом квадруполе в положительном режиме ионизации был обнаружен молекулярный ион [M+H]⁺ со значением *m/z* 251,1 (рис. 3).

На втором квадруполе в широком спектре энергии коллизии был получен спектр ионов-продуктов в диапазоне от 100 до 251 *m/z*. Частицы с меньшими массами были исключены из-за низкой специфичности. Достаточную интенсивность в данном режиме продемонстрировала лишь одна частица с *m/z* 206,0, которая и была выбрана для дальнейшего анализа. Спектр и структура иона-продукта представлены на рис. 4.

Для количественного определения с высокой специфичностью был выбран режим MRM с переходом 251,1>206,0. Следующим этапом исследования являлась оптимизация параметров источника ионизации. В ходе данного эксперимента раствор ривастигмина вводился в систему через ВЭЖХ систему. После проведения эксперимента

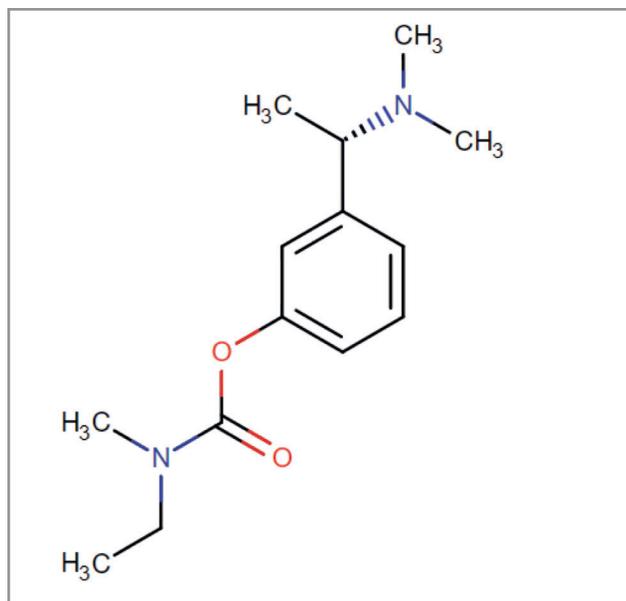


Рис. 1. Структурная формула ривастигмина [13].
Fig. 1. Structural formula of rivastigmine [13].

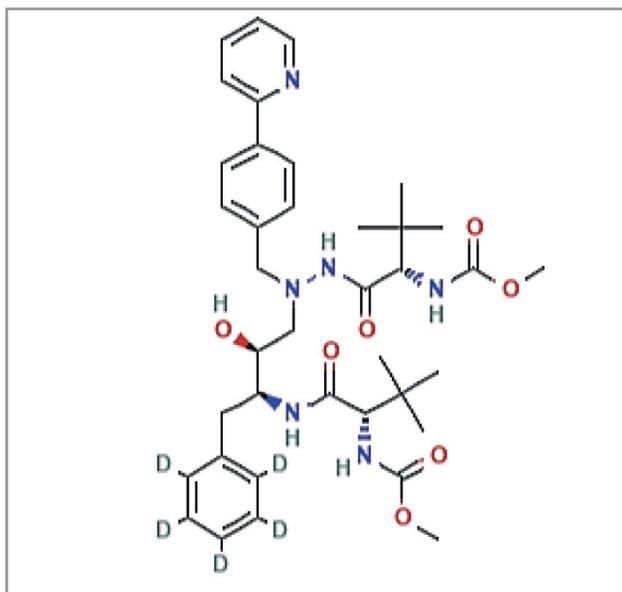


Рис. 2. Структурная формула атазанавира-d₅ [14].
Fig. 2. Structural formula of atazanavir-d₅ [14].

было установлено, что оптимальным напряжением электроспрея является 2000В, температура — 600°C, газ-завеса — 30 psi, газ-распылитель и газ-нагреватель — 50 psi.

Характеристики методов, опубликованных ранее в статьях по определению ривастигмина в различных матрицах с применением ВЭЖХ-МС/МС приведены в таблице.

В процессе подбора метода пробоподготовки было проверено влияние преципитирующего агента на отклик и форму пика ривастигмина. Данный эксперимент был проведён

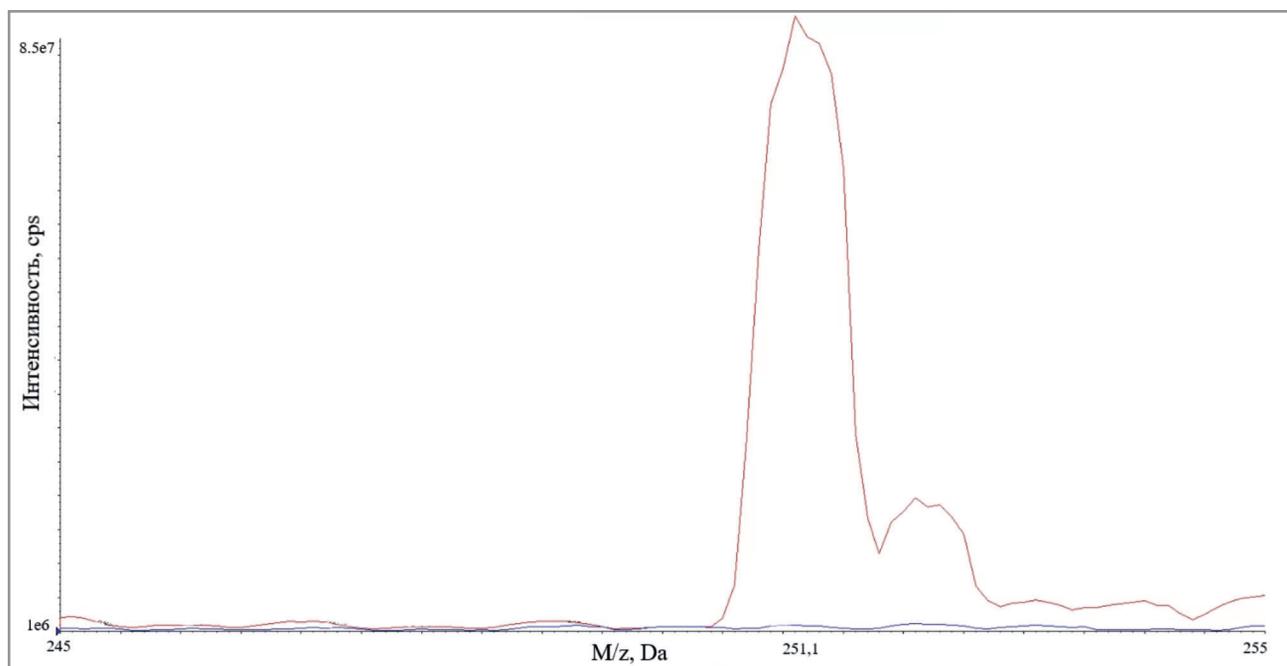


Рис. 3. Масс-спектр протонированной молекулы ривастигмина (в режиме сканирования положительных ионов $[M+H]^+$).

Красный спектр раствора ривастигмина 100 нг/мл, синий спектр растворителя).

Fig. 3. Mass spectrum of a protonated rivastigmine molecule (in $[M+H]^+$ positive ion scan mode).

Red — spectrum of 100 ng/mL rivastigmine solution, blue — solvent spectrum).

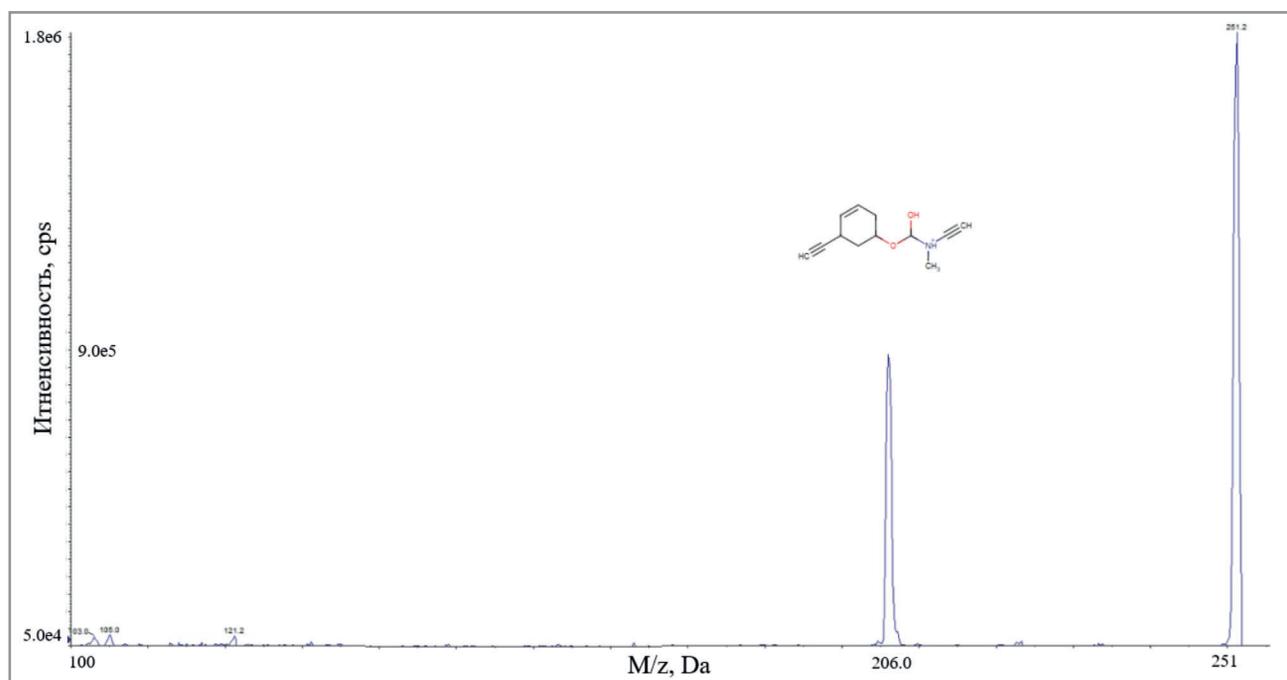


Рис. 4. Масс-спектр ионов-продуктов (в режиме сканирования положительных ионов, ион-предшественник m/z 251,1 Да).

Fig. 4. Mass spectrum of product ions (in positive ion scanning mode, precursor ion m/z 251.1 Da).

в хроматографических условиях, близких к опубликованым ранее [10] с использованием в качестве подвижных фаз ацетонитрила и воды с добавкой 0,1% муравьиной кислоты в соотношении 70/30. Обнаружено, что преци-

питация метанолом даёт более интенсивный сигнал, однако форма пика становится неудовлетворительной (рис. 5).

В указанных хроматографических условиях удержание ривастигмина является удовле-

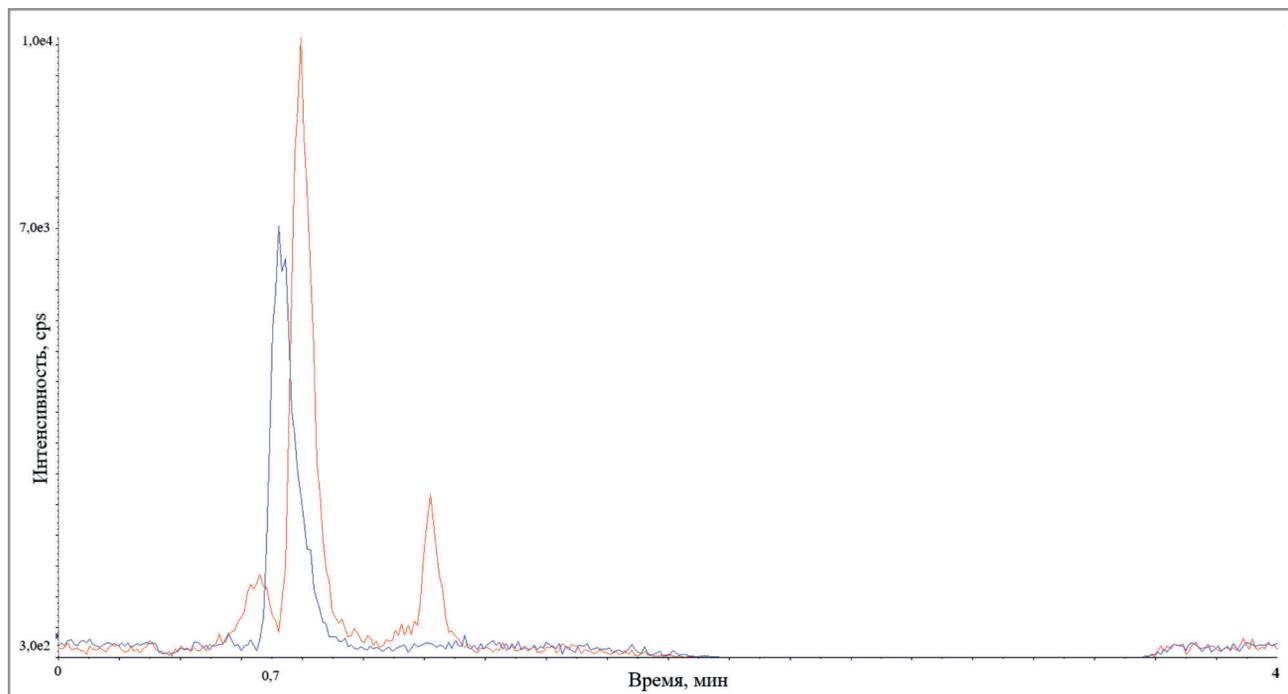


Рис. 5. Влияние осадителя на интенсивность отклика и форму пика ривастигмина (красная хроматограмма — преципитация метанолом, синяя хроматограмма — преципитация ацетонитрилом).

Fig. 5. Effect of the precipitant on the intensity of the response and the peak shape of rivastigmine (red chromatogram — precipitation with methanol, blue chromatogram — precipitation with acetonitrile).

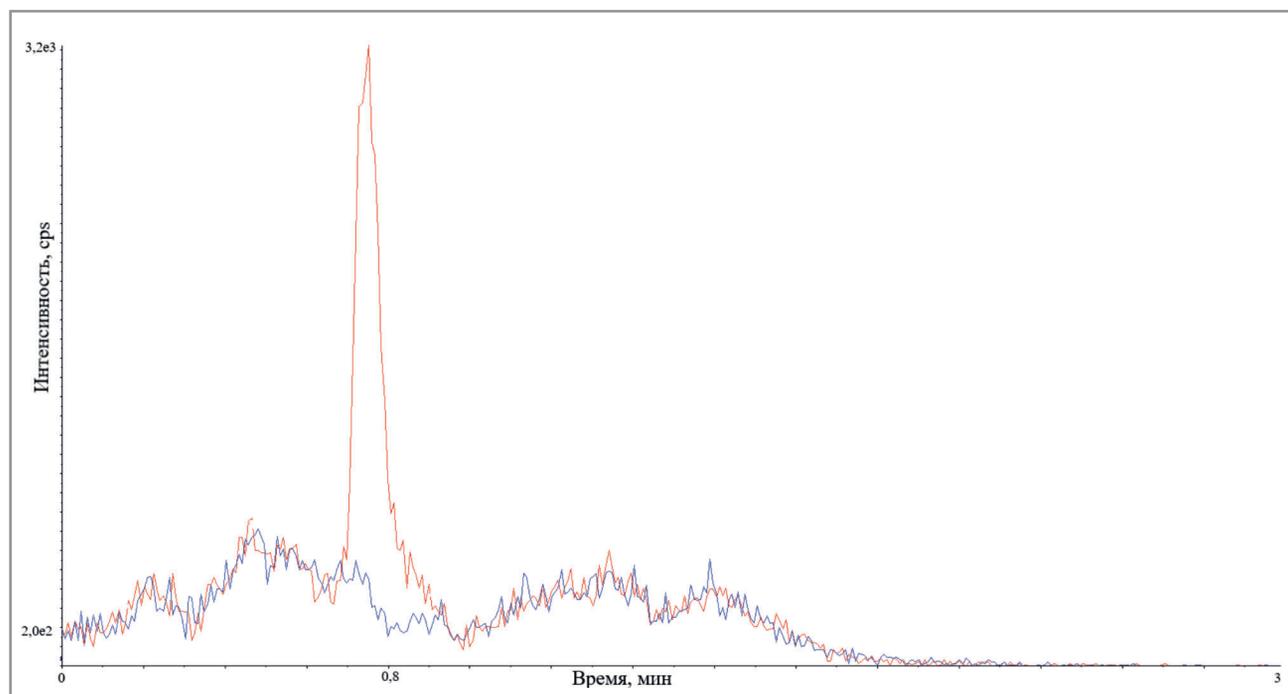


Рис. 6. Хроматограммы образцов плазмы крови человека (красная хроматограмма — образец с содержанием ривастигмина 25 пг/мл, синяя хроматограмма — холостой образец плазмы).

Fig. 6. Chromatograms of human blood plasma samples (red chromatogram — sample containing 25 pg/ml rivastigmine, blue chromatogram — blank plasma sample).

творительным. Однако высокое содержание водной фазы (70%) приводит к высокой степени переноса пробы после анализа образца с высокой концентрацией аналита, что не позволяет

разработать аналитический метод с широким диапазоном концентраций. Увеличение содержания органической фазы привело бы к потере удерживания аналита на хроматографической

Характеристика методов по определению ривастигмина Characteristics of methods for the determination of rivastigmine

Автор	Матрица	Хроматографические условия	НПКО
F. Pommier и соавт., 2003 [15]	Плазма человека	Purospher Star RP-18 (Merck) (55×2 мм, 3 мкм); Изократический режим, метанол/0,02 М ацетат аммония (55/45)	0,2 нг/мл
S. V. Frankfort и соавт., 2006 [16]	Плазма человека	Gemini C18 (150×2,0 мм, 5 мкм); Градиентный режим, начальное соотношение фаз: 10 мМ гидроксид аммония/метанол (50/50)	0,25 нг/мл
J. Bhatt и соавт., 2007 [10]	Плазма человека	Betabasic-8 (100 мм×4,6 мм). Изократический режим, 0,1% муравьиная кислота в воде/0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле (70/30)	0,2 нг/мл
K. Arumugam и соавт., 2011 [17]	Моча крыс	Kromasil KR-100 (250×4,6 мм, 5 мкм) Изократический режим, 20 мМ буферный раствор ацетата аммония (рН 6,5) / ацетонитрил (65/35)	50 нг/мл
Y. Sato и соавт., 2022 [18]	Плазма крыс	InertSustain C18 (50×1,5 мм, 3 мкм). Градиентный режим, начальное соотношение фаз: 0,1% муравьиная кислота в воде/ацетонитриле (80/20)	1 нг/мл

колонке и риску возникновения нежелательных эффектов матрицы при анализе образцов плазмы крови, полученных от разных добровольцев. Более того, чтобы избежать эффекта размытия хроматографического пика из-за конфликта фаз, образец после преципитации требуется разбавлять водой, чтобы приблизить содержание воды в пробе к 70%, что приводит к разбавлению пробы и понижению чувствительности метода.

На основании расчётного значения константы диссоциации ривастигмина ($pK_a=8,8$) были изменены подвижные фазы. Водная фаза была заменена на 0,1% раствор гидроксида аммония, органическая фаза на ацетонитрил. Данный подход позволил перевести молекулу ривастигмина в незаряженное состояние, что увеличило её гидрофобность и способность к удерживанию по обращено-фазовому механизму. Изменение рН подвижной фазы дало возможность без потери удерживания поднять содержание ацетонитрила до 70%, что в свою очередь значительно уменьшило эффект переноса пробы после анализа образца с высокой концентрацией аналита. Также появилась возможность анализировать неразбавленный супернатант после преципитации, не сталкиваясь с эффектом размытия хроматографического пика из-за конфликта фаз, что положительно сказалось на чувствительности. Хроматограммы холостого образца и образца с содержанием ривастигмина на уровне 25 нг/мл приведены на рис. 6.

Литература/References

1. Драницына М.А., Захарова Т.В., Ниязов Р.Р. Свойства процедуры двух односторонних тестов для признания биоэквивалентности лекарственных препаратов. Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. 2019; 3: 40–47. [Dranitsyna M.A., Zakharova T.V., Niyazov R.R. Svoystva protsedury dvukh odnostoronnikh testov dlya priznaniya bioekivalentnosti lekarstvennykh preparatov. Remedium. Zhurnal o Rossijskom Rynke Lekarstv I Meditsinskoj Tekhniki. 2019; 3: 40–47. (in Russian)]
2. Ниязов Р.Р., Рождественский Д.А., Васильев А.Н., Гавришина Е.В., Драницына М.А., Куличев Д.А. Регуляторные аспекты регистрации

Заключение

Согласно данным доступной литературы, основными методами определения ривастигмина в плазме крови является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией, а также газовая хроматография с масс-спектрометрией. Нами был разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией в 8 раз более чувствительный, который позволяет надёжно с высокой прецизионностью, правильностью и стабильностью определять ривастигмин в плазме крови человека при проведении исследований биоэквивалентности воспроизведённых препаратов ривастигмина, а также значительно снижает стоимостные затраты на пробоподготовку образцов с учётом нарушения поставок химических реагентов в сложившихся социально-экономических и политических условиях. Метод имеет в 8 раз более низкий предел количественного определения по сравнению с известными в литературе, что, учитывая высокую внутрииндивидуальную и межиндивидуальную вариабельность, позволит с большей достоверностью проводить статистическую обработку данных, получаемых в ходе проведения исследований биоэквивалентности. В рамках проведённой работы также были определены оптимальные методы пробоподготовки, позволяющие стабилизировать ривастигмин и облегчающие работу с биообразцами.

- воспроизведённых и гибридных лекарственных препаратов в Евразийском экономическом союзе. Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. 2018; 7–8: 6–19. [Niyazov R.R., Rozhdestvenskij D.A., Vasil'ev A.N., Gavrishina E.V., Dranitsyna M.A., Kulichev D.A. Regulyatornye aspekty registratsii vosproizvedennykh i gibridnykh lekarstvennykh preparatov v Evrazijskom ekonomicheskom sojuze. Remedium. Zhurnal o Rossijskom Rynke Lekarstv I Meditsinskoj Tekhniki. 2018; 7–8: 6–19. (in Russian)]
3. Постановление Правительства Российской Федерации от 29.12.2021 № 2544 «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности». [Postanovlenie Pravitel'stva Rossijskoj Federatsii

- от 29.12.2021 № 2544 «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности»». (in Russian)]
4. Распоряжение Правительства РФ от 12.10.2019 N 2406-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2020 год». [Распоряжение Правительст ва РФ от 12.10.2019 N 2406-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2020 год». (in Russian)]
 5. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 17 февраля 2022 года N 81н «Об утверждении стандарта медицинской помощи пациентам пожилого и старческого возраста при когнитивных расстройствах (диагностика и лечение)». [Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 17 февраля 2022 года N 81н «Об утверждении стандарта медицинской помощи пациентам пожилого и старческого возраста при когнитивных расстройствах (диагностика и лечение)». (in Russian)]
 6. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20 декабря 2012 г. № 1228н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при болезни Альцгеймера». [Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20 декабря 2012 г. № 1228н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при болезни Альцгеймера». (in Russian)]
 7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28 декабря 2012 г. № 1621н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при органических, включая симптоматические, психических расстройствах, деменции при других болезнях, классифицированных в других рубриках». [Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28 декабря 2012 г. № 1621н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при органических, включая симптоматические, психических расстройствах, деменции при других болезнях, классифицированных в других рубриках». (in Russian)]
 8. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Экселон, капсулы, Новартис Фарма АГ, Швейцария. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=55f3d412-750a-4b52-ad33-fc2561306088 (дата обращения 13 ноября 2022 г.). [Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Экселон, капсулы, Novartis Farma AG, Shveysariya. Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv Rossijskoj Federatsii. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=55f3d412-750a-4b52-ad33-fc2561306088 (дата обращения 13 ноября 2022 г.). (in Russian)]
 9. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. N 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». [Reshenie Soveta Evrazijskoj ekonomicheskoy komissii ot 3 noyabrya 2016 g. N 85 «Ob utverzhenii Pravil provedeniya issledovaniy bioekvivalentnosti lekarstvennykh preparatov v ramkakh Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza». (in Russian)]
 10. *Bhatt J, Subbaiah G, Kamli S. et al.* A rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the estimation of rivastigmine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007; 852 (1–2): 115–121. doi: 10.1016/j.jchromb.2007.01.003.
 11. *Amini H., Ahmadiani A.* High-performance liquid chromatographic determination of rivastigmine in human plasma for application in pharmacokinetic studies. *Iran J Pharm Res.* 2010; 9 (2): 115–121.
 12. Физико-химические свойства ривастигмина: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/rivastigmin-2281> (дата обращения 21.11.22). [Физико-химические свойства ривастигмина: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/rivastigmin-2281> (дата обращения 21.11.22). (in Russian)]
 13. Структурная формула ривастигмина: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77991> (дата обращения 22.11.22). [Структурная формула ривастигмина: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77991> (дата обращения 22.11.22)]
 14. Структурная формула атазанавира-d5: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/25241200#section=Other-Identifiers> (дата обращения 22.11.22). [Структурная формула атазанавира-d5: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/25241200#section=Other-Identifiers> (дата обращения 22.11.22)]
 15. *Pommier F, Frigola R.* Quantitative determination of rivastigmine and its major metabolite in human plasma by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003; 784 (2): 301–313. doi: 10.1016/s1570-0232(02)00816-4.
 16. *Frankfort S. V., Ouwehand M., van Maanen M. J., Rosing H., Tulner L. R., Beijnen J. H.* A simple and sensitive assay for the quantitative analysis of rivastigmine and its metabolite NAP 226-90 in human EDTA plasma using coupled liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006; 20 (22): 3330–3336. doi: 10.1002/rcm.2737.
 17. *Arumugam K., Chamallamudi M. R., Gilibili R. R. et al.* Development and validation of a HPLC method for quantification of rivastigmine in rat urine and identification of a novel metabolite in urine by LC-MS/MS. *Biomed Chromatogr.* 2011 25 (3): 353–361. doi: 10.1002/bmc.1455.
 18. *Sato Y, Michihara A., Nagatsuka Y., Yamamoto K., Shirakawa M., Katayama H.* High performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry for simultaneous determination of rivastigmine and its metabolite in rat plasma. *Acta Chromatographica.* 2022; 34 (4): 437–443. doi: 10.1556/1326.2021.00989

Информация об авторах

Долов Максим Сергеевич — Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова; Общество с Ограниченной Ответственностью «Экзактэ Лабс, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-1265-9673. Scopus Author ID: 57210957022

Фишгойт Лариса Александровна — к. х. н., доцент, старший научный сотрудник, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-1190-8957. Scopus Author ID: 6506597447

Соболев Павел Дмитриевич — Общество с Ограниченной Ответственностью «Экзактэ Лабс, Москва, Россия. Scopus Author ID: 57210957022

Ткач Елизавета Петровна — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, Москва Россия

About the authors

Maksim S. Dolov — Lomonosov Moscow State University, Analytical center «Exacte Labs», Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-1265-9673. Scopus Author ID: 57210957022

Larisa A. Fishgoit — Ph. D. in chemistry, Associate Professor, Senior Researcher, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-1190-8957. Scopus Author ID: 6506597447

Pavel D. Sobolev — Analytical center «Exacte Labs», Moscow, Russia. Scopus Author ID: 57210957022

Elizaveta P Tkach — Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia