

На правах рукописи

ЯКУШЕВ ВАДИМ АЛЕКСАНДРОВИЧ

Биофармацевтическое исследование препаратов метопролола сукцината

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2015

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» («РУДН») Министерства образования и науки РФ, в испытательной лаборатории ООО «КоАЛ Фарманализ», в Научно-образовательном центре (Центре коллективного пользования) РУДН.

Научный руководитель:

Фитилев Сергей Борисович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей и клинической фармакологии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Плетенева Татьяна Вадимовна, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»

Официальные оппоненты:

Магницкая Ольга Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» МЗ РФ

Гармонов Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита состоится «___» _____ 2015 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте www.volgmed.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2015 г

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических
наук

Бугаева Любовь Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Согласно российским и зарубежным рекомендациям (стандартам) по лечению и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний селективные β -адреноблокаторы являются одной из лидирующих групп препаратов для лечения артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, аритмии и хронической сердечной недостаточности [Оганов Р.Г., 2007; Чазова И.Е., Мычка Б.В., 2009; J. Lindenfeld, 2010].

Высокая клиническая значимость данной фармакологической группы доказана в серии крупных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследований, продемонстрировавших эффективность и безопасность β -адреноблокаторов по снижению смертности и morbidity среди больных с высокой и низкой степенью риска сердечно-сосудистых осложнений [Кобалава Ж.Д., 2003; Белоусов Ю.Б., 2006. J. Wikstrand, 2014].

Все это способствует неуклонному росту социального спроса на β -адреноблокаторы практически во всех странах мира, независимо от экономического состояния и уровня организации здравоохранения, а также повышает значимость современных требований, предъявляемых к качеству лекарственного средства.

В связи с этим в фармацевтических компаниях ведутся исследования по разработке, производству и контролю качества наиболее востребованных лекарственных препаратов, значительная часть которых – воспроизведенные лекарственные средства [IMS Health, Frost & Sullivan, 2011].

На отечественном рынке к дополнительному стимулированию бурного роста сегмента дженериков и оптимизации алгоритмов анализа качества лекарств ведет реализация стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации (РФ) до 2020 г. «Фарма-2020» и присоединение России к Всемирной Торговой Организации.

Несмотря на очевидную экономическую рентабельность дженериков в настоящее время нельзя сказать, что система экспертных оценок соответствия воспроизведенных лекарственных средств (ЛС) оригинальным препаратам сложилась окончательно и не имеет слабых сторон. В РФ многогранная проблема качества дженериков исторически стоит особенно остро [Мешковский А.П., 2006; Марцевич С.Ю., 2010].

Помимо организационных сложностей проведения исследований биоэквивалентности (БЭ) [Мелихов О.Г., 2013; Кукес В.Г., 2011] не менее важным является совершенствование методов оценки фармацевтической эквивалентности и биофармацевтического анализа как для всестороннего контроля на этапах разработки, производства и регистрации лекарственного препарата, так и для рутинного пострегистрационного мониторинга качества фармацевтических субстанций и готовых лекарственных форм [Дегтерев Е.В. 2002].

К любому методу используемому для фармацевтического анализа в настоящее время предъявляются высокие требования точности (воспроизводимость и правильность полученных результатов), специфичности и чувствительности, а также экспрессности при минимальных затратах реактивов и анализируемых образцов.

Указанному комплексу требований отвечают инструментальные методы анализа, в том числе хроматографические и спектрофотометрические [Беликов В.Г.,

2007, Яшин Я.И., 2010]. Высокое признание специалистов заслужили методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и инфракрасной спектроскопии. В практику фармацевтического производства и нормативную документацию в последнее время активно внедряется спектроскопия в ближней инфракрасной области (БИК) [Арзамасцев А.П., 2008; Елизарова Т.Е., Морозова М.А. 2009-2012]. Обладая такими преимуществами, как экспрессность и высокая воспроизводимость результатов анализа, БИК-метод использует достижения статистической обработки результатов, в частности, многофакторный анализ. Метод позволяет не только установить фармакопейные показатели качества (подлинность и чистота субстанций и готовых лекарственных форм, содержание в них действующего вещества), но и получить дополнительную информацию, например, выявить минимальные межсерийные отличия ЛС, выпускаемых различными производителями.

Данный метод постепенно внедряется на уровне государственного контроля, что позволяет совершенствовать алгоритмы выявления фальсифицированной и недоброкачественной продукции [Косенко В.В., 2011], в том числе отслеживать качество препарата от первых промышленных образцов до серий, продемонстрировавших эффективность и безопасность в контролируемых исследованиях, а также любых серий, циркулирующих на фармацевтическом рынке.

В то время как для некоторых ЛС количество воспроизведенных копий в России достигает нескольких десятков, для метопролола сукцината, давно присутствующего в виде оригинального препарата, первые отечественные дженерики только появляются. По этой причине вопрос разработки, регистрации и анализа качества воспроизведенных бета-адреноблокаторов, в первую очередь одного из наиболее часто назначаемых ЛС метопролола сукцината, является чрезвычайно актуальным.

На основании вышеизложенного правомочно считать, что внедрение в клиническую практику отечественных ЛС, отвечающих международным требованиям качества, а также совершенствование системы экспертных оценок воспроизведенных ЛС являются приоритетными направлениями в развитии и урегулировании фармацевтической отрасли России.

Степень разработанности темы диссертации. В РФ вплоть до настоящего времени не зарегистрированы воспроизведенные препараты метопролола сукцината зарубежного производства. На момент постановки цели исследования не проводились биофармацевтические и фармакокинетические исследования метопролола сукцината отечественного производства. Отсутствуют унифицированные отечественные нормативные документы на субстанцию и лекарственные формы метопролола сукцината.

Цель настоящего исследования – сравнительное биофармацевтическое изучение препаратов метопролола сукцината зарубежных и отечественных производителей для доказательства их взаимозаменяемости и соответствия требованиям нормативной документации.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи:

1. Оценить фармакопейными методами качество субстанции метопролола сукцината, используемой производителями, в том числе отечественными.

2. Дать сравнительную оценку фармацевтической эквивалентности таблеток метопролола сукцината разных производителей по фармакопейным показателям.
3. Разработать методики подтверждения подлинности субстанции и оценки межсерийной дисперсии таблеток метопролола сукцината разных производителей методом БИК-спектрометрии.
4. Провести сравнительный фармакокинетический анализ таблеток метопролола сукцината Метозок 100 мг (ОАО «Акрихин», Россия) и оригинального препарата Беталок ЗОК 100 мг («АстраЗенека», Швеция) наряду с расчетом дополнительных фармакокинетических параметров нового отечественного препарата Метозок (период полувыведения, относительный объем распределения, клиренс, константа элиминации).
5. Оценить профиль безопасности таблеток метопролола сукцината Метозок 100 мг.
6. Оценить эквивалентность профилей сравнительной кинетики растворения (эквивалентность *in vitro*) и определить *in vitro/in vivo* корреляцию таблеток метопролола сукцината Метозок и Беталок ЗОК.

Научная новизна. Впервые проведены исследования субстанции метопролола сукцината и нового отечественного препарата Метозок (ОАО «Акрихин», Россия) методом БИК-спектрометрии. Показана возможность использования метода БИК-спектрометрии для установления подлинности субстанции и таблеток метопролола сукцината. Для таблеток Метозок разработана калибровочная модель, позволяющая оценить содержание действующего вещества в режиме *in-line* на заводе производителя.

Предложена методика оценки межсерийной дисперсии таблеток метопролола сукцината с помощью БИК-спектрометрии, установлены количественные параметры, характеризующие воспроизводимость таблеток Метозок и Беталок ЗОК («АстраЗенека», Швеция) от серии к серии.

На основании сравнительной кинетики растворения определена эквивалентность *in vitro* таблеток Метозок и Беталок ЗОК и получена *in vitro/in vivo* корреляция уровня А.

Впервые продемонстрирована биоэквивалентность таблеток метопролола сукцината Метозок 100 мг и оригинального препарата Беталок ЗОК 100 мг путем изучения сравнительной фармакокинетики и безопасности, а также определен высокий профиль безопасности и хорошая переносимость воспроизведенного отечественного препарата. Рассчитанные основные параметры фармакокинетического профиля нового препарата могут быть использованы для подбора индивидуального режима дозирования.

Теоретическая значимость работы. Проведено обобщение имеющихся данных в научной литературе о фармакокинетических и биофармацевтических исследованиях метопролола сукцината зарубежных производителей. Систематизирована принятая терминология в области анализа качества лекарственных средств, биофармацевтических и исследований биоэквивалентности, а также представлены варианты методологии их проведения, в том числе аналитической части БЭ. Определены подходы к гармонизации требований нормативной документации к субстанции и лекарственным формам метопролола сукцината.

Практическая значимость работы. Разработанные методики БИК-спектрометрии подтверждения подлинности субстанции, оценки содержания действующего вещества и межсерийной дисперсии таблеток метопролола сукцината позволяют усовершенствовать алгоритмы контроля качества данной продукции для выявления фальсифицированных и недоброкачественных образцов.

На основании проведенных исследований зарегистрированы все формы выпуска (дозировки 25, 50, 100 и 200 мг) таблеток метопролола сукцината пролонгированного действия, покрытых пленочной оболочкой, Метозок (регистрационное удостоверение ЛП-000570 от 19.07.2011).

Наличие *in vitro/in vivo* корреляции уровня А позволяет рекомендовать частично или полностью отказаться от фармакокинетических исследований в пользу изучения сравнительной кинетики растворения.

Внедрение результатов исследования. Результаты проведенного фармакокинетического исследования легли в основу регистрационного досье на таблетки метопролола сукцината Метозок (ОАО «Акрихин», Россия). Полученные фармакокинетические параметры и данные по безопасности нового лекарственного средства Метозок позволяют рекомендовать отечественный препарат для медицинского применения в качестве терапевтического эквивалента оригинальному лекарству.

Результаты диссертационной работы являются основой для разработки проектов фармакопейных статей на субстанцию и таблетки метопролола сукцината.

Разработанные методики внедрены в практику контрольно-аналитической лаборатории ООО «КоАЛ Фарманализ», принимающей участие в процедуре декларирования качества лекарственных средств (акт внедрения от 31.10.2013). Рекомендации по проведению теста сравнительной кинетики растворения внедрены в практическую деятельность лаборатории физико-химических методов исследования «Центра коллективного пользования» ФГАОУ ВО РУДН (акт внедрения от 05.09.2013).

Материалы и рекомендации диссертации были внедрены в практическую деятельность ГБУЗ «Кардиологический диспансер №2 ДЗМ» (информационный листок для специалистов-кардиологов), а также используются в учебном процессе кафедры фармацевтической и токсикологической химии по дисциплине «Современные методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств» и кафедры общей и клинической фармакологии РУДН.

Методология и методы исследования. В диссертационном исследовании использованы современные физико-химические, биофармацевтические методы анализа качества метопролола сукцината. Для подтверждения взаимозаменяемости лекарственных препаратов было проведено исследование биоэквивалентности метопролола сукцината. Используются современные представления биофармацевтической концепции для определения эквивалентности *in vitro* исследуемых лекарственных средств.

Положения, выносимые на защиту:

1. Спектральные характеристики в БИК-области позволяют идентифицировать субстанцию метопролола сукцината, оценить качество воспроизведенного и оригинального препаратов метопролола сукцината в таблетках; на основании разработанной калибровочной модели оценить содержание действующего

вещества в таблетках метопролола сукцината отечественного производителя при контроле in-line на заводе производителя.

2. Методика БИК-спектрометрии позволяет оценить межсерийную воспроизводимость таблеток метопролола сукцината Метозок и Беталок ЗОК, причем значения максимальной спектральной дисперсии должны укладываться в статистически определенный диапазон.
3. Результаты сравнительного исследования фармакокинетических показателей биодоступности воспроизведенного отечественного препарата метопролола сукцината Метозок (ОАО «Акрихин», Россия) и оригинального препарата Беталок ЗОК («АстраЗенека», Швеция) свидетельствуют об их биоэквивалентности.
4. Профиль безопасности и переносимости отечественного препарата Метозок соответствует аналогичным показателям оригинального препарата Беталок ЗОК.
5. Для воспроизведенных препаратов таблеток метопролола сукцината возможна замена фармакокинетических исследований на биофармацевтическое изучение сравнительной кинетики растворения.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов была обеспечена использованием современных физико-химических методов фармацевтического анализа, в частности БИК-метода с последующей хемометрической обработкой спектральных данных. Полученные в биофармацевтических и фармакокинетических исследованиях данные теоретически обосновывали и подвергали статистической обработке с помощью программных средств.

Материалы исследования представлены на XVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, апрель 2011), на III международной студенческой научно-практической конференции с участием молодых ученых «Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (Москва, РУДН, апрель 2011), где доклад был отмечен гранд-призом, Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки», посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова (Ярославль, апрель 2012), XIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, апрель 2012), III Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Москва, апрель 2013), Первой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, июнь 2013). Апробация работы проведена на совместном заседании кафедры общей и клинической фармакологии, кафедры фармацевтической и токсикологической химии, кафедры биохимии, лаборатории физико-химических методов анализа ЦКП ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» и ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения и результаты проведенного исследования диссертации соответствуют формуле по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, а именно пункту 9 «Исследование биоэквивалентности лекарственных средств у здоровых добровольцев и пациентов». Научные положения и результаты проведенного исследования диссертации соответствуют формуле по специальности

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пункту 2 «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств», пункту 3 «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления».

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы по теме диссертации. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах при проведении биофармацевтического исследования нового отечественного препарата метопролола сукцината. При написании диссертационной работы автором лично выполнен сбор первичных данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 3 работы в журналах, рецензируемых ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 201 странице машинописного текста и иллюстрирована 18 таблицами и 50 рисунками. Основные разделы: введение, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований), обсуждение, выводы, практические рекомендации, список литературы, содержащей 250 источников (в том числе 90 на иностранном языке), 1 приложение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе (обзор литературы) представлен анализ отечественной и зарубежной научной литературы, посвященной аспектам подтверждения эквивалентности и взаимозаменяемости воспроизведенных препаратов. В первом разделе приведена история жизненного цикла лекарственного препарата метопролола сукцината и фармакокинетические особенности его лекарственных форм. Во втором разделе приводится анализ терминологии, использующийся в отношении воспроизводимых препаратов. Третий раздел раскрывает современную роль дженериков на мировом фармацевтическом рынке. Четвертый раздел посвящен проведенным сравнительным исследованиям метопролола. Пятый раздел описывает современные методы анализа качества субстанции и определения фармацевтической эквивалентности таблеток метопролола сукцината. Шестой раздел посвящен аспектам подтверждения эквивалентности *in vitro* и определения *in vitro/in vivo* корреляции.

Во второй главе приведены материалы и методы исследования, используемые в диссертационной работе.

Подлинность субстанции, используемой для воспроизведенного препарата метопролола сукцината, подтверждали с помощью методов *ИК-спектрометрии* (путем прессования с калия бромидом), *УФ-спектрометрии* (в фосфатном буфере с $pH=6.8$), *БИК-спектрометрии*.

Для количественного определения действующего вещества в таблетках метопролола сукцината использовали *ВЭЖХ с УФ-детекцией*. Объектом исследования стали 6 серий таблеток отечественного метопролола сукцината Метозок в дозировке 200 мг. В качестве стандарта были использованы субстанция

метопролола сукцината (стандартный образец, «Польфарма», сертификат качества Европейской фармакопеи – Ph. Eur.), субстанция метопролола тартрата (стандартный образец, качество Ph. Eur., содержание метопролола 100.6%), а также оригинальное ЛС Беталок ЗОК 100 мг серии LB 5388 (сертификат качества Ph. Eur.).

Исследования проводили на жидкостном хроматографе «Varian» с детектором «ProStar 325», насосом «ProStar Dynamax», автосемплером «ProStar 400». Использованы стальные колонки «Discovery» размером 150 * 4,6 мм, заполненные сорбентом C_8 с размером частиц 5 мкм.

Анализ проводили согласно НД 42-10175-06. В качестве подвижной фазы был использован фосфатный буфер pH 3.0 : ацетонитрил (78:22). Анализ проводили при комнатной температуре, объем вводимой пробы составлял 20 мкл, скорость потока элюэнта 1.0 мл/мин. Детектирование осуществляли с помощью УФ детектора при длине волны 280 нм. Расчет содержания метопролола производили методом абсолютной калибровки по площади пиков.

Для подтверждения подлинности субстанции и таблеток метопролола сукцината и определения содержания метопролола сукцината в таблетках методом *БИК-спектрометрии* были изучены 2 серии субстанции метопролола сукцината («Польфарма», Польша), 9 серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг («АстраЗенека», Швеция) и 10 серий таблеток Метозок 25, 50, 100, 200 мг (ОАО «Акрихин», Россия).

Для оценки межсерийной дисперсии и их дифференциации по дозировкам таблеток метопролола сукцината методом *БИК-спектрометрии* были проанализированы 9 серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг и 6 серий таблеток Метозок 200 мг.

Исследования были проведены на *БИК-спектрометре* «ANTARIS II» (Thermo Scientific, США). Спектры диффузного отражения получены с использованием интегрирующей сферы; разрешение – 4 см^{-1} , количество сканирований 16, область измерения от 4000 до 10000 см^{-1} .

Методика анализа субстанции: субстанцию, после предварительного измельчения в агатовой ступке, помещали однородным слоем толщиной 4-6 мм в специальную кварцевую кювету с плоским основанием и плотно прилегающей крышкой ($h=16 \text{ мм}$, $d=11 \text{ мм}$). Кювету размещали на интегрирующей сфере и снимали спектр не менее трех раз для каждого образца, перемешивая субстанцию перед каждым измерением. Периодически проводили автоматическое измерение фонового спектра воздуха.

Методика анализа таблеток: таблетку помещали на окно интегрирующей сферы, фиксировали с помощью специального устройства и снимали спектр диффузного отражения с обеих сторон образца. Для каждой серии ЛС снимали по 9 *БИК-спектров*. Обработку результатов проводили хемометрическими методами с помощью программы «TQ Analyst™».

Оценку спектральных различий между ЛС разных производителей, дозировками и сериями метопролола сукцината одного производителя проводили методом дискриминантного анализа, описание данных строилось по 10 главным компонентам. Графически различия определяли в виде спектральных расстояний в единицах Mahalanobis'a – чем ближе значение расстояния к нулю, тем выше спектральное соответствие.

Для компенсации влияний, вызванных непостоянной толщиной слоя, изменениями плотности образцов и размеров частиц, использовали функцию мультипликативной коррекции рассеяния Multiplicative Signal Correction pathlength (MSC).

Исследование биоэквивалентности было проведено на добровольцах мужского пола, отвечающих определенным критериям включения согласно действующим на момент исследования законодательным нормам (МУ МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», 2008). Обязательным условием включения было подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Проведение исследования было спланировано как открытое, рандомизированное, двойное перекрестное, основанное на однократном приеме дозы препарата здоровыми добровольцами¹.

Согласно литературным данным и сходным медико-биологическим исследованиям соотношение генеральных средних показателей сравнения теста к референсному препарату находится в области от 1.00 до 1.05, коэффициент вариации фармакокинетических показателей находится в промежутке от 12.5 до 20.0, поэтому необходимое минимальное количество участников, успешно завершивших исследование, составляет 18 человек, что позволяет обеспечить выполнение мощности статистического критерия не менее 80% для выявления 20% различий между показателями сравнения (уровень значимости 5%, границы доверительного интервала 0.80 – 1.25).

Для фармакокинетического исследования пробы крови отбирали до приема и через 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 и 48 часов после приема препарата, что было обусловлено получением необходимого количества фармакокинетических точек на восходящем и нисходящем участках кривой «концентрация – время». Стандартным образом получали сыворотку, образцы хранили при минус 70°C.

Аналитическая часть. Содержание метопролола в сыворотке определяли с помощью ВЭЖХ на хроматографе «Shimadzu» (Япония) с флуориметрическим детектированием при λ_{ex} 277 нм и λ_{em} 305 нм методом абсолютной калибровки по площади пиков. Аналитический метод был валидирован в соответствии с отечественными и зарубежными руководствами по показателям чувствительности, линейности, точности, прецизионности, пределу обнаружения открываемости и стабильности. Для экстракции к 1 мл сыворотки крови добавляли смесь диэтилового эфира с хлороформом в соотношении 4:1 в среде 1М раствора натрия гидроксида. После экстрагирования при энергичном встряхивании в течение 5 мин проводили реэкстракцию 10% раствором серной кислоты и аликвоту (100 мкл) вводили в колонку хроматографа μ -Bondapak Phenyl 10 мкм; 3.9 * 300 мм. Мобильная фаза: ацетонитрил-вода-триэтиламин 18:81:1 (по объему). Скорость элюирования 1 мл/мин.

Анализ фармакокинетических данных. Индивидуальные профили изменения концентрации (C) метопролола в крови во времени, зарегистрированные после приема исследуемых препаратов, характеризовали максимальной концентрацией (C_{max} , наибольшее из измеренных значений) и временем ее достижения (T_{max}), а

¹ - Протокол исследования соответствовал международным стандартам, отечественным требованиям ГОСТ Р52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», МУ МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) и получил одобрение Межвузовского комитета по этике.

также площадью под кривой «концентрация – время», рассчитанной методом трапеций, в пределах от нуля до момента отбора последней пробы крови ($AUC_{48ч}$). Проверяли критерий достаточной длительности наблюдения, при котором $AUC_{48ч} > AUC_{\infty}$, что позволило использовать первый показатель при оценке полноты всасывания исследуемого ЛС.

Относительную степень всасывания оценивали по значению индивидуальных соотношений $f' = AUC_{T(48ч)} / AUC_{R(48ч)}$, а также рассчитывали $f'' = C_{max,T} / C_{max,R}$. С учетом пролонгированного действия лекарственной формы дополнительно рассчитывали продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от C_{max} .

Критерий биоэквивалентности. Согласно методическим указаниям, действующими на момент проведения исследования, препараты считали биоэквивалентными, если 90%-ный доверительный интервал геометрического среднего, вычисленного для индивидуальных отношений логарифмически преобразованных значений $AUC_{48ч}$, находился в пределах 0.80 – 1.25. Для величины C_{max} соответствующие пределы составляли 0.75 – 1.33. Границы доверительного интервала рассчитывали при помощи двух односторонних тестов после логарифмического преобразования значений фармакокинетических параметров.

Статистика. При статистической обработке фармакокинетических результатов проводили дисперсионный анализ значений $AUC_{48ч}$, C_{max} методом вариационного анализа ANOVA (параметрический метод) после их логарифмического преобразования с помощью программы «Kinetics 2000». Были подсчитаны 90% доверительные интервалы. Все тесты и сравнения оценивали при уровне достоверности 95% ($p \leq 0.05$).

Статистическую обработку для количественных случайных величин проводили по критерию Стьюдента для независимых выборок. Анализ проводили с помощью пакета программ «SPSS Statistics 19.0». Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

Расчет фармакокинетических параметров таблеток Метозок проводили с учетом однородного распределения метопролола в организме, которое позволяет использовать однокамерную фармакокинетическую модель, согласно которой константу скорости элиминации рассчитывали по тангенсу угла наклона линейной части полупологарифмического графика изменения концентрации метопролола в крови во времени к оси абсцисс. Для количественного описания процесса элиминации был рассчитан период полувыведения ЛС. На основании значения кажущегося объема распределения и константы элиминации была рассчитана константа клиренса.

За критерий *безопасности и переносимости* принимали количество нежелательных явлений (НЯ²), в том числе серьезных и неожиданных, зарегистрированных на протяжении всего исследования.

В день дозирования и на плановых визитах анализировали следующие показатели: артериальное давление, пульс, частоту дыхательных движений, температуру, параметры ЭКГ. Отслеживали типичные побочные эффекты бета-адреноблокаторов: эпизоды чрезмерного снижения АД, как эффекта первой дозы, брадикардию, атриовентрикулярную блокаду.

² - Определение НЯ согласно терминологии ГОСТ Р52379-2005 «Надлежащая клиническая практика».

Проводили постоянный мониторинг основных показателей состояния сердечно-сосудистой системы: определяли систолическое и диастолическое артериальное давление, частоту сердечных сокращений через 1, 3, 6, 8, 10, 14, 24 ч после приема препаратов.

Тест «Растворение» (модифицированная методика USP) и сравнительную кинетику растворения проводили на аппарате П «Лопастная мешалка» («Distek», США); скорость вращения лопасти – 50 об/мин; среда растворения (500 мл) – фосфатный буфер (рН 6.8); температура – 37 ± 0.1 °С. Отбор проб (5 мл) проводили через 1, 4, 6, 20 ч из зоны сосуда согласно нормативной документации. После отбора пробы для сохранения постоянного объема среды растворения в нее добавляли 5 мл буферного раствора той же температуры. Пробы охлаждали при комнатной температуре и фильтровали через мелкопористый бумажный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм. Для изучения сравнительной кинетики растворения проводили отбор проб (5 мл) через 1, 4, 6, 8, 20, 24 ч.

Количество метопролола сукцината, перешедшее в среду растворения, определяли методом УФ-спектрометрии (спектрофотометр «Varian Cary 100», США). Измерения проводили по полосе поглощения при $\lambda_{\max} = 222$ нм. Раствор сравнения – фосфатный буферный раствор с рН 6.8.

Содержание метопролола сукцината во временные точки 1, 4, 6, 20 ч сопоставляли с нормативными показателями, что служило подтверждением фармацевтической эквивалентности сравниваемых препаратов по показателю «Растворение».

Сравнительную оценку эквивалентности кинетики растворения изучаемых ЛС проводили с помощью фактора подобия f_2 , значения которого должны укладываться в интервал от 50 до 100. Относительное стандартное отклонение не должно превышать 20% для первой точки и 10% для последующих измерений.

Для определения *in vitro/in vivo* корреляции (IVIVC) значения на кривой концентрация метопролола сукцината в плазме крови – время, полученные в фармакокинетическом исследовании, подвергали деконволюции согласно однокомпарментной методике массо-баланса по уравнению Wagner-Nelson и рассчитывали долю абсорбированного метопролола сукцината в каждый определенный временной интервал.

Для установления IVIVC от точки к точке (уровень А) полученные доли абсорбированного метопролола сукцината соотносили с долями растворенного препарата, полученными в тесте «Растворение».

Достоверность прогнозирования корреляционной зависимости оценивали с помощью уравнения средней абсолютной ошибки прогнозирования. Критерием достоверности считали подтверждение средней абсолютной внутренней ошибки прогнозирования менее 10% для C_{\max} и AUC_{∞} и менее 15% для индивидуальных скоростей растворения.

Третья глава отражает результаты анализа качества субстанции и определения фармацевтической эквивалентности таблеток метопролола сукцината.

Оценка фармацевтической эквивалентности (анализ качества) предполагает подтверждение наличия одного и того же действующего вещества (активной фармацевтической субстанции), находящегося в одинаковом количестве в

одинаковой лекарственной форме, которая отвечает требованиям одних и тех же либо сходных нормативных документов.

Значительный вклад в качество лекарственной формы вносится индивидуальными характеристиками субстанции действующего вещества. Сопоставление полос поглощения ИК-спектра образца субстанции со стандартом и справочными данными выявило соответствие положения максимумов характеристических полос, отражающих валентные и деформационные колебания химических связей в различных функциональных группах молекулы (бензольное кольцо, вторичная аминогруппа, спиртовой гидроксил, метильная и изопропильная группы и др. – рисунок 1).

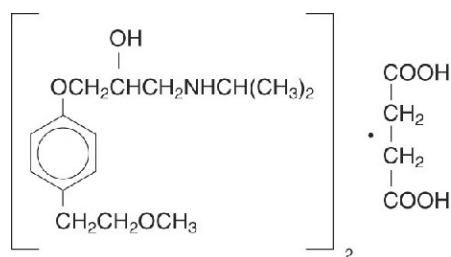


Рисунок 1 – Структурная формула метопролола сукцината

УФ-спектр раствора субстанции в фосфатном буфере с pH 6,8 содержит полосы с максимумами поглощения при длине волны 222 и 274 нм, что соответствует справочным данным.

Важным этапом оценки качества, позволяющим сделать вывод о фармацевтической эквивалентности лекарственных форм, является характеристика технологического процесса дозирования субстанции, которая в первую очередь определяется по показателю содержания действующего вещества в лекарственной форме.

При количественном определении метопролола сукцината в таблетках Метозок 200 мг методом *ВЭЖХ с ультрафиолетовой детекцией* было подтверждено полное соответствие содержания активного компонента заявленному количеству. Хроматограммы трех серий препарата Метозок 200 мг и двух стандартов представлены на рисунке 2.

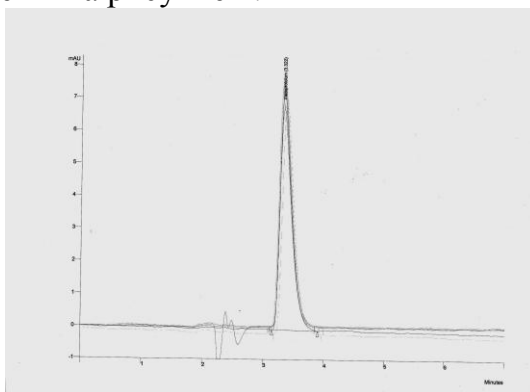


Рисунок 2 – Хроматограммы таблеток Метозок 200 мг серии 40508, 50508, 60508, стандартного образца метопролола тартрата и таблеток Беталок ЗОК 100 мг

Содержание метопролола сукцината рассчитывали по отношению к каждому из трех использованных стандартов, а конечный результат определяли как среднее арифметическое. Содержание метопролола сукцината в пересчете на метопролол тартрат в таблетках Метозок 200 мг составило для серии 10508 – 208.55±2.56 мг;

20508 – 195.00 ± 2.39 мг; 30508 – 195.70 ± 6.36 мг; 40508 – 199.90 ± 2.31 мг; 50508 – 196.62 ± 7.51 мг; 60508 – 195.57 ± 7.67 мг (в среднем 198.56 ± 3.60 мг).

Согласно нормативной документации отклонения в заявленном содержании лекарственного вещества в таблетированной лекарственной форме регламентируются в диапазоне $\pm 5\%$ при дозировке действующего вещества более 100 мг. Таким образом, все анализируемые серии препарата Метозок 200 мг укладываются в регламентируемый диапазон 200 ± 10 мг по показателю содержания действующего вещества (в пересчете на метопролола тартрат).

При определении подлинности субстанции *методом БИК-спектроскопии* на первичных БИК-спектрах таблеток метопролола сукцината отечественного препарата Метозок в различных дозировках (рисунок 3) видны полосы разной интенсивности в области смешанных колебаний (от 4000 до 5000 см^{-1}) и первых обертонов (от 4800 до 6250 см^{-1}). Они обусловлены преимущественно смешанными колебаниями и обертонами групп $-\text{C}-\text{C}-$, $-\text{C}-\text{H}-$, $-\text{CH}_2$ и $-\text{NH}$. Однако, как и в области локализации вторых обертонов (от 6250 до 9000 см^{-1}), отсутствуют полосы, пригодные для подтверждения подлинности таблеток метопролола сукцината Метозок. Суммарные полосы поглощения очень широкие, что связано с наложением друг на друга отдельных полос разной интенсивности.

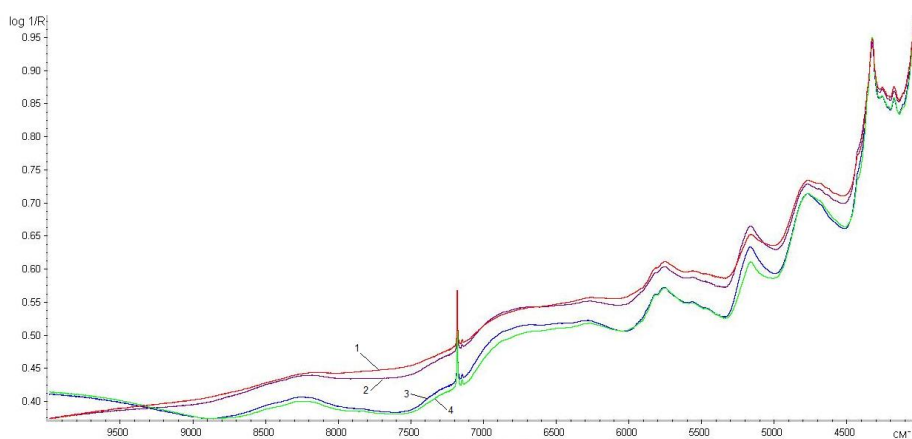


Рисунок 3 – БИК-спектры таблеток метопролола сукцината Метозок в дозировках 200 мг (1, красный), 50 мг (2, фиолетовый), 25 мг (3, синий), 100 мг (4, зеленый)

Спектры таблеток разделились по дозировкам, причем спектр таблеток 200 мг оказался близок к спектру таблеток 50 мг, а спектр таблеток 100 мг к спектру таблеток 25 мг. Это объясняется использованием двух типов набора вспомогательных веществ при производстве таблеток («Опадрай II» оранжевого и зеленого цвета).

На полученных спектрах особый интерес представляет область 7150 – 7180 см^{-1} , в которой наблюдаются две полосы поглощения, одна из которых отличается интенсивностью. При этом характеристические полосы поглощения малой (при 7150 см^{-1}) и средней интенсивности (при 7175 см^{-1}) не перекрываются другими полосами (рисунок 4).

Данные полосы поглощения возникают вследствие присутствия вспомогательного вещества – талька ($\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$) в оболочке ЛС, что согласуется с литературными данными [Perit S., Martin F., 2004].

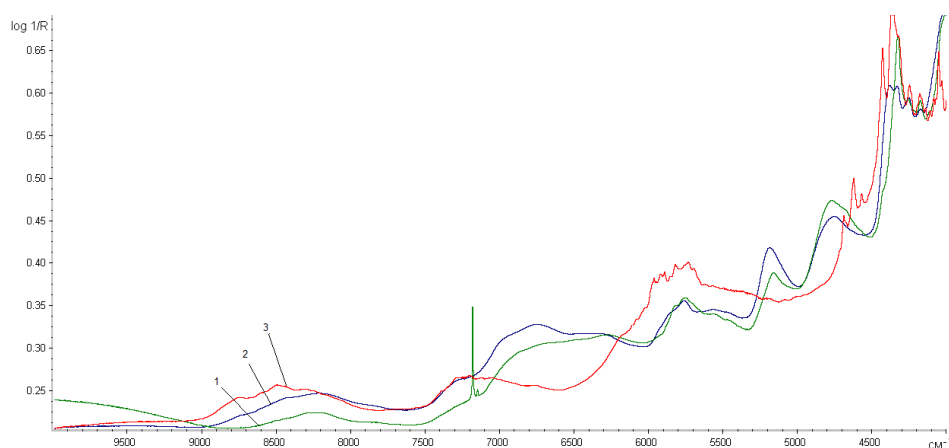


Рисунок 4 – БИК-спектры таблеток Метозок 100 мг (1, зеленый), Беталок ЗОК 100 (2, синий) мг и субстанции метопролола сукцината (3, красный)

При оценке содержания метопролола сукцината в таблетках *методом БИК-спектроскопии* с помощью метода Stepwise Multiple Linear Regression (SMLR) в программном обеспечении «TQ Analyst» по спектрам образцов всех дозировок таблеток Метозок была создана калибровочная модель (коэффициент корреляции 0.99), в которой концентрация является функцией поглощения при разных частотах. На графике осуществляется сравнение вычисленных на основе спектральных данных значений концентрации стандартов с фактическими значениями содержания действующего вещества. Данная модель позволяет оценить содержание метопролола сукцината в таблетках в режиме in-line на заводе производителя.

По результатам проведенного фармацевтического анализа можно сделать заключение о высоком качестве воспроизведенных таблеток Метозок и их фармацевтической эквивалентности оригинальному препарату.

Последующий пострегистрационный контроль фармацевтической эквивалентности помимо стандартного фармакопейного анализа может осуществляться путем подтверждения межсерийной дисперсии.

При оценке межсерийной дисперсии таблеток Метозок и Беталок ЗОК с помощью *БИК-спектроскопии* благодаря хемометрической обработке результатов удастся выявить минимальные различия между разными производителями одного препарата, а также между разными сериями одного производителя.

В дискриминантном анализе были исследованы 9 серий ЛС Беталок ЗОК 100 мг, причем каждая отдельная серия принималась за отдельный класс (рисунок 5). Максимальное расстояние Mahalanobis'a между сериями при таком сравнении достигало значения 8.4 единиц. На первый взгляд, полученные результаты могли бы свидетельствовать о значительной межсерийной разнице.

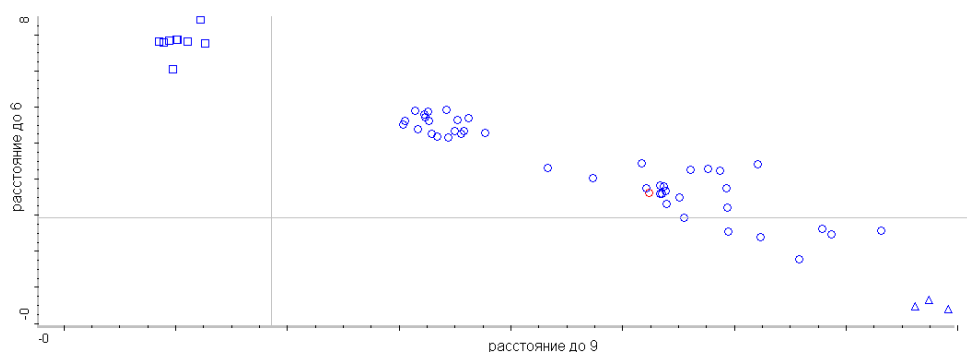


Рисунок 5 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров 9 серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг

Однако следует учитывать особенности лекарственной формы таблеток с модифицированным высвобождением Беталок ЗОК. Таблетка покрыта пленочной оболочкой и состоит из множества пеллет, неоднородных по диаметру, внутри которых и содержится метопролол сукцинат. Присутствие в таблетках неоднородных по размеру пеллет приводит к различиям в плотности образца. Для уменьшения ошибки анализа была проведена математическая процедура мультипликативной коррекции рассеивания (MSC). Благодаря опции MSC была обеспечена компенсация рассеяния, вызванного изменениями в плотности образца и неоднородными размерами частиц. Кроме того, для выявления критичных различий между сериями калибровочную модель строили по данным первых производных БИК-спектров.

С помощью данной модели было показано, что значимые отличия между сериями таблеток отсутствуют: максимальные межсерийные различия не превышали 2.5 единиц Mahalanobis'a. Полученные результаты свидетельствуют о высокой воспроизводимости качества серийной продукции таблеток Беталок ЗОК.

В лекарственной форме таблеток Метозок, в отличие от Беталок ЗОК, не содержатся пеллеты, а метопролол сукцинат равномерно распределен в ядре таблетки. Кроме того, известно, что исследуемые серии ЛП были произведены с небольшой разницей во времени, поэтому спектральные характеристики, связанные с возрастными изменениями образцов, не значимы [Елизарова Т.Е., Морозова М.А., 2011]. Таким образом, вследствие указанных особенностей отсутствует необходимость проведения процедуры MSC или анализа данных по первой производной. Согласно результатам дискриминантного анализа максимальное расстояние между сериями достигает 2.4 единицы Mahalanobis'a, что говорит о высокой воспроизводимости качества серийной продукции таблеток Метозок 200 мг.

В ходе работы был также получен дополнительный показатель спектральной дисперсии – при сравнении в дискриминантном анализе двух групп, одна из которых представляла спектры отдельной серии ЛС, а вторая – библиотеку спектров остальных серий.

Был проведен дискриминантный анализ для лекарственного препарата Метозок 200 мг. Один из примеров для конкретной серии приведен на рисунке 6. В данном случае один из образцов серии 60508, выделенный красным (1), отличается от ближайшего образца класса 2, представленного спектрами 5-ти других серий, примерно на 1.2 ед. Mahalanobis'a.

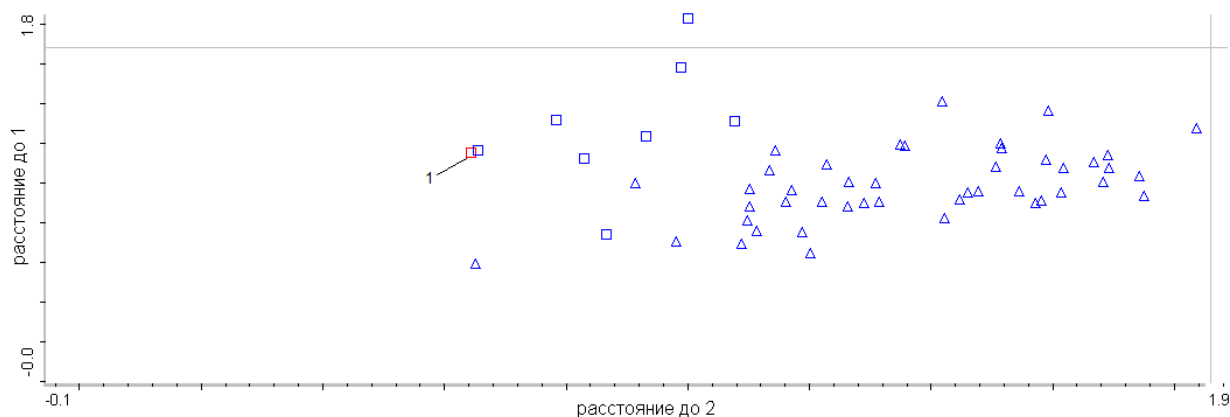


Рисунок 6 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров таблеток Метозок 200 мг. Квадраты – серия 60508, 1 – один из образцов серии 60508 (пояснения в тексте), треугольники – 5 других анализируемых серий

Рассчитанные максимальные спектральные расстояния между индивидуальной серией таблеток Метозок 200 мг и оставшимися сериями составили: серия 10508 – 1.89; 20508 – 1.89; 30508 – 1.72; 40508 – 1.64; 50508 – 1.53; 60508 – 1.84 ед. Mahalanobis'a.

Аналогичным образом проводили дискриминантный анализ 9 серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг. Максимальные спектральные расстояния между индивидуальной серией таблеток Беталок ЗОК 100 мг и сериям, формирующими библиотеку, составили: серия LA 5376 – 2.77; LB 5388 – 2.17; LE 5411 – 2.41; LF 5421 – 2.38; LH 5443 – 2.22; LI 5450 – 2.81; MC 5497 – 2.30; ME 5524 – 2.25; MH 5542 – 3.32.

Таким образом, на данном этапе изучения межсерийной дисперсии можно утверждать, что каждая вновь произведенная серия таблеток Беталок ЗОК 100 мг должна укладываться в установленный диапазон максимального спектрального расстояния от 2.17 до 3.32 единиц Mahalanobis'a. Для лекарственного препарата Метозок 200 мг величина установленного диапазона составляет от 1.53 до 1.89 единиц Mahalanobis'a.

Для количественного определения высвободившегося метопролола сукцината в *тесте «Растворение»* была разработана методика спектрофотометрического определения при длине волны 222 нм.

Для стандартного образца метопролола сукцината (стандартный образец предприятия, «Польфарма», Польша) в диапазоне концентраций 1.7 – 30.0 мкг/мл была определена линейная градуировочная зависимость: $y=0.0343x+0.0008$ (линейный парный коэффициент корреляции $r=0.984$, $p<0.005$). Предел обнаружения составил 0,08 мкг/мл, предел количественного определения – 0.2 мкг/мл. Относительное стандартное отклонение (RSD) менее 1 %.

По результатам изучения кинетики растворения наблюдается фармацевтическая эквивалентность профилей растворения препаратов через 1, 4, 8, 20 ч: рассчитанные значения концентраций метопролола сукцината в каждой временной точке находятся в допустимых рамках (таблица 1).

Таблица 1 – Экспериментальные и референсные значения высвобождения метопролола сукцината (%) в тесте «Растворение» таблеток Метозок и Беталок ЗОК

Лекарственное средство	Время, ч			
	1	4	8	20
Метозок (эксперимент)	15,4	33,9	51,3	84,6
Метозок (ФСП)	≤ 25	20-50	40-70	≥ 80
Беталок ЗОК (эксперимент)	11,1	24,4	43,2	83,0
Беталок ЗОК (НД 42-10175-06)	≤ 25	20-50	35-65	≥ 80
Метопролол сукцинат (USP)	≤ 25	20-40	40-60	≥ 80

Четвертая глава содержит результаты определения биологической (фармакокинетической) эквивалентности препаратов. Приведены результаты *валидации аналитической методики* определения метопролола: линейность калибровочной кривой при 5–160 нг/мл, предел обнаружения – 1 нг/мл, внутрисерийная точность – 99.6–102.6%, межсерийная точность – 100.8%, внутрисерийная прецизионность (повторяемость, сходимость) – 0.20–2.15%, межсерийная прецизионность – 0.98%, открываемость – 97.5%. Стабильность при одном и при двух циклах замораживания-оттаивания составила 83.4–102.0% и 76.4–88.9% соответственно, настольная стабильность составила 89.7–104.6%. На основании усредненных результатов *фармакокинетического исследования* по 18 добровольцам приведена динамика концентраций исследуемых препаратов (рисунок 7). Препараты обладают схожим фармакокинетическим профилем: постепенное увеличение концентрации в течение первых шести часов до $C_{max}=85$ нг/мл сменяется постепенным ее уменьшением в течение суток.

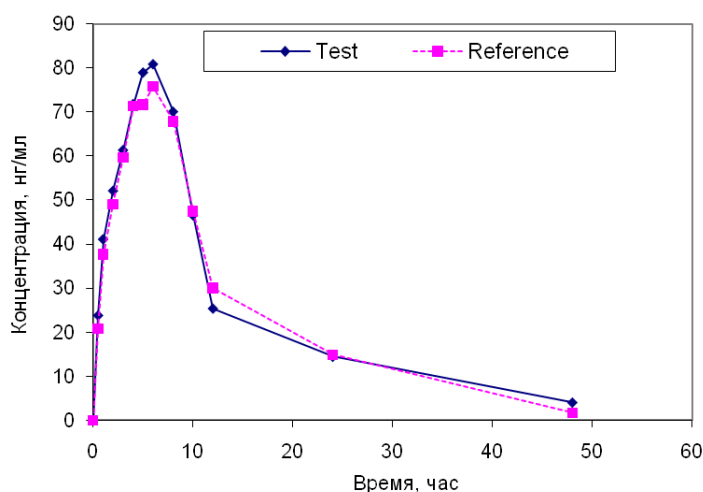


Рисунок 7 – Усредненная динамика концентраций исследуемых препаратов у 18 добровольцев в линейных координатах. Test – Метозок 100 мг. Reference – Беталок ЗОК 100 мг

Получены следующие фармакокинетические параметры: $C_{max}=84.7\pm 25.3$ и 85.4 ± 24.4 нг/мл, $T_{max}=6.3\pm 1.5$ и 6.1 ± 1.4 час, $AUC_{48ч}=1141.2\pm 333.2$ и 1126.8 ± 335.7 нг*ч/мл, для Метозок 100 мг и Беталок ЗОК 100 мг соответственно. Период времени $T>75\%C_{max}$ составляет около 5 ч для оригинального и воспроизведенного препаратов.

Значения параметров фармакокинетики, характеризующих индивидуальные кривые концентрация метопролола – время, после приема испытуемого препарата и препарата сравнения статистически достоверно не различались.

Относительная биодоступность f' после приема препарата Метозок и величина отношения максимальных концентраций метопролола после приема испытуемого препарата и препарата сравнения f'' незначительно отличались от единицы (таблица 2).

Таблица 2 – Параметры биоэквивалентности препарата Метозок 100 мг по отношению к препарату Беталок ЗОК 100 мг

	f'	f''
Среднее	1.02	1.01
Среднее отклонение	0.15	0.19
Коэффициент вариабельности	14	19
Доверительный интервал	0.95 – 1.10	0.91 – 1.10

Таким образом, дисперсионный анализ значений $AUC_{48ч}$ и C_{max} , проведенный после их логарифмического преобразования, не выявил статистически значимого вклада различий между препаратами в наблюдаемую вариабельность. Оценка биоэквивалентности по этим параметрам с использованием критерия Schuirmann'a позволяет сделать вывод о биоэквивалентности дженерикового и оригинального препаратов.

В клинической практике для обеспечения эффективности и безопасности назначаемых препаратов необходимым условием является расчет режима дозирования согласно конкретным *фармакокинетическим параметрам*. Данные параметры рассчитываются на основании площади под экспериментальной кривой концентрация – время, полученной в ходе фармакокинетического исследования.

Период полувыведения метопролола сукцината Метозок составил в среднем около 3.0 ч, относительный объем распределения – около 5.1 л/кг, клиренс – 1.5 л/мин, константа элиминации 0.229 ч^{-1} .

Однако кроме одинакового фармакокинетического профиля важным этапом исследования для дальнейшего внедрения воспроизведенного препарата в клиническую практику является оценка безопасности и переносимости исследуемого препарата.

Оценка безопасности основывается на тщательном мониторинге и регистрации любых НЯ в клиническом исследовании. В проведенном исследовании БЭ нежелательные, в том числе серьезные нежелательные явления, при приеме обоих препаратов не зарегистрированы. Исследуемые препараты хорошо переносились: клинически значимых отклонений в параметрах жизненно-важных функций не отмечено.

Статистический анализ не выявил достоверных отличий показателей САД и ДАД в каждой анализируемой временной точке за 24 ч наблюдения ($p > 0.05$).

Статистический анализ с использованием t-критерия Стьюдента не выявил достоверных отличий показателей пульса в анализируемых временных точках в течение 24 ч ($p > 0.05$). Даже на момент максимальной концентрации метопролола в плазме крови через 6 ч несмотря на то, что средние показатели пульса несколько отличаются (62.3 ± 6.7 для Метозок и 58.2 ± 6.1 для Беталок ЗОК), статистический анализ не выявил значимых различий эффекта препаратов.

Таким образом, воспроизведенный препарат обладает необходимым профилем безопасности и переносимости для его регистрации и широкого внедрения в практику в качестве терапевтического эквивалента оригинала.

Для пострегистрационного контроля качества ЛС, а также альтернативной замены фармакокинетических исследований дженериков может рассматриваться тест сравнительной кинетики растворения.

Глава 5 отражает результаты определения эквивалентности *in vitro* и IVIVC.

Для изучения *сравнительной кинетики растворения* количественное определение высвободившегося метопролола сукцината в тесте «Растворение» проводили во временные точки 1, 4, 6, 8, 20, 24 ч.

Усредненные профили высвобождения метопролола сукцината приведены на рисунке 8. Фактор подобия f_2 составил 57.1%, что говорит об эквивалентности *in vitro* исследуемых ЛС.

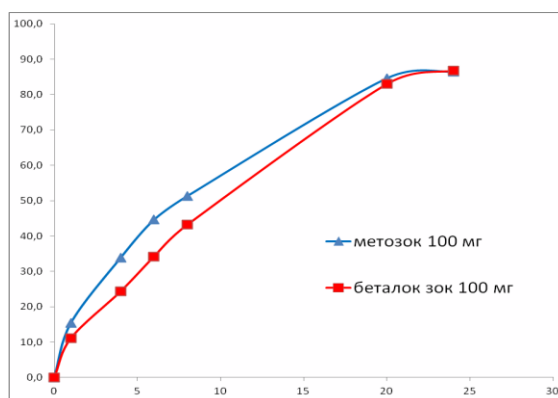


Рисунок 8 – Усредненные профили высвобождения метопролола сукцината из исследуемых препаратов в фосфатном буфере (pH=6,8)

При установлении *in vitro/in vivo* корреляции (IVIVC) была определена линейная зависимость (рисунок 9).

Значения множественных коэффициентов корреляции (r), рассчитанные для исследуемых ЛС, составили 0.967 и 0.971 для Метозок и Беталок ЗОК соответственно ($p < 0.002$, доверительные интервалы составили 0.91; 1.03), что свидетельствует о наличии IVIVC корреляции уровня А для обоих препаратов.

Средняя абсолютная ошибка прогнозирования не превышала установленного нормативного максимального значения.

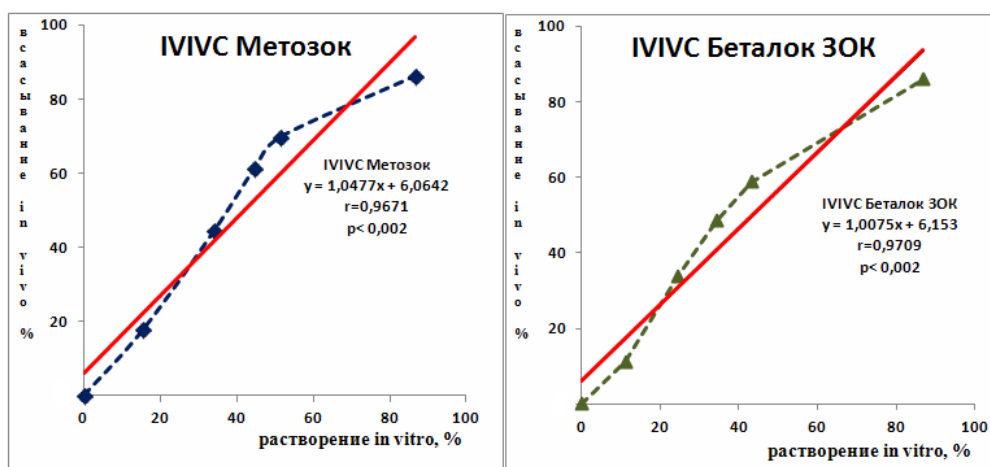


Рисунок 9 – *In vitro/in vivo* корреляция уровня А для ЛС Метозок и Беталок ЗОК

Обсуждение результатов

Появление на фармацевтическом рынке России новых воспроизведенных препаратов является неуклонной тенденцией и актуальным вопросом предоставления эффективной и безопасной медикаментозной помощи населению. Проблемы качества взаимозаменяемых лекарственных препаратов, аспекты регистрации и контроля качества нашли отражение в настоящей работе.

Приведенные нами результаты исследований свидетельствуют о фармацевтической, биологической и эквивалентности *in vitro* препарата Метозок (ОАО «Акрихин», Россия) таблеткам Беталок ЗОК («АстраЗенека», Швеция), что в совокупности гарантирует наличие их взаимозаменяемости. Результаты исследования позволили зарегистрировать препарат Метозок в качестве лекарственного средства на территории РФ.

Полученные параметры фармакокинетического профиля нового отечественного препарата могут быть использованы при расчете индивидуального режима дозирования препарата Метозок 100 мг.

Использованные подходы анализа качества субстанции и оценки фармацевтической эквивалентности таблеток могут быть найдены применение при разработке отечественной нормативной документации – проектов фармакопейных статей на субстанцию и таблетки метопролола сукцината.

Полученные результаты демонстрируют перспективность использования БИК-спектрометрии на пострегистрационном этапе для контроля межсерийной дисперсии как оригинального, так и нового воспроизведенного отечественного препарата метопролола сукцината. При этом каждая вновь произведенная серия таблеток должна укладываться в установленный диапазон максимального спектрального расстояния в единицах Mahalanobis'a.

На основании проведенных исследований считается целесообразным использование следующего алгоритма контроля качества при регистрации нового воспроизведенного препарата одинакового состава. Первый этап предлагаемой системы экспертных оценок включает в себе анализ качества субстанции и подтверждение фармацевтической эквивалентности ЛС инструментальными фармакопейными методами. Второй этап охватывает проведение фармакокинетического исследования с обоснованием количества включенных добровольцев для изучения относительной биодоступности и безопасности ЛС. Заключительным этапом является подтверждение эквивалентности *in vitro* с помощью теста сравнительной кинетики растворения и определение возможности замены исследований биоэквивалентности для новых регистрируемых воспроизведенных препаратов. При последующем контроле качества на пострегистрационном уровне для обнаружения межсерийных отличий наряду с тестом растворения может быть дополнительно рекомендован метод БИК-спектрометрии.

Выводы

1. Качество субстанции метопролола сукцината, используемой в отечественном препарате Метозок, подтверждено фармакопейными методами: ИК-, БИК-, УФ-спектрометрия, которые могут быть рекомендованы для включения в проект фармакопейной статьи Государственной фармакопеи РФ «Метопролол сукцинат».

2. Сравнительной оценкой фармакопейных показателей качества таблеток метопролола сукцината (новый воспроизведенный отечественный и оригинальный зарубежный препараты) доказана их фармацевтическая эквивалентность.
3. Разработана методика оценки качества субстанции и таблеток метопролола сукцината разных производителей по показателю «подлинность» (метод БИК-спектрометрии). Предложенная калибровочная модель позволяет оценивать содержание метопролола сукцината в таблетках в условиях in-line на заводе производителя. БИК-метод позволяет определять природу вспомогательных веществ в таблетках и характеризовать межсерийную дисперсию – диапазон максимального спектрального расстояния, рассчитанный в единицах Mahalanobis'a.
4. Доказана биологическая эквивалентность нового отечественного препарата Метозок и оригинального препарата Беталок ЗОК, профили биодоступности которых составили $C_{\max}=84.7\pm 25.3$ и 85.4 ± 24.4 нг/мл, $T_{\max}=6.3\pm 1.5$ и 6.1 ± 1.4 час, $AUC_{48ч}=1141.2\pm 333.2$ и 1126.8 ± 335.7 нг*ч/мл соответственно. Период времени, в течение которого концентрация изучаемых препаратов более $75\%C_{\max}$ составляет 5 ч. Получены следующие параметры фармакокинетического профиля таблеток пролонгированного действия Метозок: средний период полувыведения – 3.0 ч, относительный объем распределения – 5.1 л/кг, клиренс – 1.5 л/мин, константа элиминации – 0.229 ч^{-1} .
5. За весь период наблюдения за действием оригинального препарата Беталок ЗОК и нового отечественного препарата Метозок в исследовании БЭ не было выявлено нежелательных явлений (в том числе серьезных), а ключевые фармакодинамические показатели (ЧСС, АД) достоверно не отличались, что свидетельствует о высоком профиле безопасности и хорошей переносимости этих препаратов.
6. Установлена эквивалентность in vitro исследуемых препаратов на основании эквивалентности профилей сравнительной кинетики растворения, и подтверждена in vitro/in vivo корреляция уровня А для таблеток метопролола сукцината.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Перед проведением фармакокинетического исследования in vivo необходима комплексная оценка качества ЛС для подтверждения фармацевтической эквивалентности с использованием современных фармакопейных методов.
2. Для пострегистрационного контроля новых воспроизведенных ЛС целесообразно проводить оценку межсерийной дисперсии с помощью метода БИК-спектрометрии. Спектральные особенности лекарственной формы должны укладываться в статистически рассчитанный диапазон максимального спектрального расстояния, выраженные в единицах Mahalanobis'a.
3. При расчете индивидуального режима дозирования препарата в клинической практике следует использовать следующие параметры фармакокинетического профиля нового отечественного препарата Метозок 100 мг: средний период полувыведения – 3.0 ч, относительный объем распределения – 5.5 л/кг, клиренс – 1.5 л/мин, константа элиминации – 0.229 ч^{-1} , $C_{\max} = 84,71$ нг/мл, $T_{\max} = 6.3$ ч, $AUC_{48ч} = 1141.2$ нг*ч/мл.

4. В связи с доказанной взаимозаменяемостью может быть рекомендовано широкое внедрение нового отечественного воспроизведенного лекарственного препарата в клиническую практику и замещение оригинального препарата.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БИК-спектрометрия	Ближняя инфракрасная спектрометрия
БЭ	Биоэквивалентность
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ИК-спектр	Инфракрасный спектр
ЛС	Лекарственное средство
МУ МЗСР	Методические указания министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации
ФЗ	Федеральный закон
ФСП	Фармакопейная статья предприятия
AUC _{48ч}	Площадь под экспериментальной кривой концентрация-время в течение 48 ч
f	Относительная биодоступность, рассчитанная по площади под кривой
f'	Относительная биодоступность, рассчитанная по максимальной концентрации
in-line измерения	Измерения показателей качества, при которых образец не изымается из производственного процесса
IVIVC	In vitro/in vivo корреляция
MSC	Multiplicative Signal Correction pathlength – функция мультипликативной коррекции рассеяния
Ph. Eur.	European Pharmacopoeia – Европейская Фармакопея
T _{max}	Время достижения максимальной концентрации
λ _{em}	Длина волны излучения (emission wavelength)
λ _{ex}	Длина волны возбуждения (excitation wavelength)
C _{max}	Максимальная концентрация лекарственного препарата

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка фармацевтической эквивалентности дженерика метопролола сукцината [Текст] / В. А. Якушев, А. А. Ананьев, М. Х. М. Мархан, А. М. Т. Э. Мостафа, М. О. М. Абдалаан // Клинические и теоретические аспекты современной медицины: III международная студенческая научно-практическая конференция с участием молодых ученых: материалы конференции. – М., 2011. – С. 181.
2. Изучение особенностей фармакокинетики нового отечественного препарата метопролола сукцината [Текст] / С. Б. Фитилев, И. И. Шкробнева, Ю. Ю. Титарова, А. В. Возжаев, В. А. Якушев // Тезисы докл. XVIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2011. – С. 517.
3. Оценка межсерийной воспроизводимости таблеток метопролола сукцината [Текст] / Т. Е. Елизарова, Т. В. Плетенева, С. Б. Фитилев, М. А. Морозова, В. А. Якушев // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2012. – С. 538.
4. Анализ БИК-спектров таблеток метопролола сукцината [Текст] / Т. Е. Елизарова, Т. В. Плетенева, С. Б. Фитилев, М. А. Морозова, В. А. Якушев //

- Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2012. – С. 538–539.
5. Морозова, М.А. Ближняя ИК-спектроскопия таблеток метопролола сукцината. Актуальные вопросы медицинской науки / М. А. Морозова, В. А. Якушев [Текст] // Сборник научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова. – Ярославль, 2012. – С. 346.
 6. Сравнительное фармакокинетическое исследование биоэквивалентности двух пролонгированных лекарственных форм метопролола сукцината [Текст] / С. Б. Фитилев, В. А. Якушев, Ю. Ю. Титарова, А. В. Возжаев, И. И. Шкробнева // Клиническая фармакология и терапия. – 2012. – № 3 (21). – С. 82–84.
 7. Пути защиты от фальсификаторов. Сообщение 1. Оценка качества субстанции и таблеток метопролола сукцината разных производителей по показателям «подлинность» и «содержание действующего вещества» [Текст] / В. А. Якушев, М. А. Морозова, Т. Е. Елизарова, С. Б. Фитилев, Т. В. Плетенева // Судебно-медицинская экспертиза. – 2012. – № 4. – С. 48–51.
 8. Пути защиты от фальсификаторов. Сообщение 2. Оценка межсерийной дисперсии таблеток метопролола сукцината разных производителей [Текст] / В. А. Якушев, М. А. Морозова, Т. Е. Елизарова, С. Б. Фитилев, Т. В. Плетенева // Судебно-медицинская экспертиза. – 2012. – № 5. – С. 46–48.
 9. Якушев, В.А. Оценка эквивалентности *in vitro* таблеток метопролола сукцината по тесту сравнительной кинетики растворения [Текст] / В. А. Якушев, А. О. Долинкин // Сборник материалов конференции «III Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». – М., 2013. – С. 227.
 10. Якушев, В.А. *In vitro/in vivo* корреляция метопролола сукцината [Текст] / В. А. Якушев, А. О. Долинкин, С. Б. Фитилев, Т. В. Плетенева // Сборник тезисов «Первая Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств». – М. – 2013. – С. 144