

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ

На правах рукописи

ЯКУШЕВ ВАДИМ АЛЕКСАНДРОВИЧ

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ  
МЕТОПРОЛОЛА СУКЦИНАТА

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Фитилев Сергей Борисович

доктор химических наук, профессор

Плетенева Татьяна Вадимовна

Волгоград – 2015

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	14
1.1 Характеристика метопролола.....	14
1.1.1 От оригинала к дженерикам.....	15
1.1.2 Общая характеристика метопролола и фармакокинетические особенности лекарственных форм метопролола .....	17
1.2 Терминология.....	22
1.3 Роль дженериков на мировом фармацевтическом рынке.....	27
1.4 Сравнительные исследования метопролола и аналитические методики определения препарата .....	31
1.5 Методы анализа качества субстанции и определения фармацевтической эквивалентности таблеток метопролола сукцината .....	34
1.5.1 Инфракрасная спектроскопия .....	36
1.5.2 УФ-спектрофотометрия .....	39
1.5.3 Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	42
1.5.4 Ближняя инфракрасная спектроскопия .....	46
1.5.5 Потеря массы при высушивании, определение влаги и термических свойств.....	50
1.6 Определение эквивалентности in vitro и IVIVC .....	53
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	60
2.1 Объекты исследования .....	60
2.2 Инфракрасная спектроскопия.....	62
2.3 УФ-спектрофотометрия.....	63
2.4 Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	63
2.5 Ближняя инфракрасная спектроскопия .....	65

2.6	Определение влаги и термических свойств .....	67
2.7	Фармакокинетическое исследование .....	68
2.8	Тест Растворение. Тест сравнительной кинетики растворения. IVIVC. ....	76
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА СУБСТАНЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ТАБЛЕТОК МЕТОПРОЛОЛА СУКЦИНАТА .....		78
3.1	Результаты ИК-спектрометрии.....	78
3.2	Результаты УФ-спектрофотометрии.....	84
3.3	Результаты ВЭЖХ-анализа .....	86
3.4	Результаты БИК-спектрометрии .....	88
3.5	Потеря в массе при высушивании и температура плавления.....	98
3.6	Тест «Растворение».....	99
3.7	Заключение .....	101
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ .....		103
4.1	Валидация метода количественного определения метопролола .....	103
4.2	Результаты фармакокинетического исследования .....	110
4.3	Результаты оценки безопасности метопролола сукцината.....	130
4.4	Заключение .....	132
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ IN VITRO .....		134
Заключение .....		137
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....		138
ВЫВОДЫ.....		161
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....		163
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....		164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....		167

ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	192
Фармакокинетическое исследование .....	192

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Согласно российским и зарубежным рекомендациям (стандартам) по лечению и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний селективные  $\beta$ -адреноблокаторы являются одной из лидирующих групп препаратов для лечения артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, аритмии и хронической сердечной недостаточности [10,12,15,26,42,43,44,51,57,61,83,98,122-124,156,180,216].

Высокая клиническая значимость данной фармакологической группы доказана в серии крупных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследований, продемонстрировавших эффективность и безопасность  $\beta$ -адреноблокаторов по снижению смертности и morbидности среди больных с высокой и низкой степенью риска сердечно-сосудистых осложнений [9,14,28,41,49,52,54,55,60,72,80,96,110,111,150,165,168,173,183,186,193-196, 198, 204,209,221,222,246-248].

Все это способствует неуклонному росту социального спроса на  $\beta$ -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 [8,129].

На отечественном рынке к дополнительному стимулированию бурного роста сегмента дженериков ведет реализация стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации (РФ) до 2020 г.

«Фарма-2020» и присоединение России к Всемирной Торговой Организации [82,130].

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 дженериков исторически стоит особенно остро [50,68,69,70,71,73,74].

Помимо организационных сложностей проведения исследования биоэквивалентности [56,58,59,63,76,84,99,125,126,143] 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 [24,97].

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 [13]. Высокое признание специалистов заслужили методы высокоэффективной жидкостной хроматографии и инфракрасной спектроскопии. В практику фармацевтического производства и нормативную документацию в последнее время активно внедряется спектроскопия в ближней ИК-области (БИК) [5,7, 64,65,27-31,175,212]. 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 [45], в том числе отслеживать качество препарата от первых промышленных образцов до серий, продемонстрировавших эффективность и безопасность в контролируемых исследованиях, а также 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 и задачи исследования

**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 и практическая значимость работы**

**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 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 препарата Метозок позволяют рекомендовать отечественный препарат для медицинского применения в качестве терапевтического эквивалента оригинальному препарату.

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. 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 14.04.02 – 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», пункту 7 «Изучение биофармацевтических аспектов контроля качества лекарственных средств препаратов». 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».

### **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.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Характеристика метопролола

Молекула метопролола появилась в арсенале врачей для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний более 35 лет назад и в настоящее время является одним из наиболее часто назначаемых бета-адреноблокаторов. У лекарственной формы метопролола тартрата в разных странах давно появились воспроизведенные версии. Когда в ходе клинических исследований стало выясняться, что особенности фармакокинетического профиля достоверно влияют на клиническую эффективность, пролонгированная форма метопролола сукцината стала новым объектом для биофармацевтических исследований и копирования, что превращает данный препарат в типичный пример общемировых проблем дженериков. Однако если в целом ряде стран генерические версии метопролола сукцината стали неотъемлемой частью фармакотерапии, то в России в отсутствии зарубежных копий зарегистрированы первые отечественные воспроизведенные препараты, и только один из них становится доступным в аптеках. Неизменно актуальной задачей по-прежнему остается совершенствование методов анализа качества фармацевтической субстанции и готовой лекарственной формы лекарственного препарата метопролола сукцината.

### 1.1.1 От оригинала к дженерикам

Молекула H93/26 или метопролол была синтезирована в 1969 г. в рамках проекта компании «Hässle» (Швеция) по поиску кардиоселективного ЛС. В ходе изучения солей метопролола компания выбрала тартрат для дальнейших исследований. Запатентованный препарат был одобрен сразу для клинических исследований второй фазы, а в 1975 г. был зарегистрирован в Швеции как Seloken для лечения гипертензии и стенокардии. В 1978 г. препарат был зарегистрирован в США как Lopressor и продвигался компанией «Ciba», а в 1982 попал на рынок Японии под торговым наименованием Fujisawa и в том же году стал одним из самых продаваемых препаратов в мире [207,231].

В 1986 г. на фармацевтический рынок был выведена другая соль метопролола – метопролола сукцинат (Seloken ZOK), который на рынке США появился после одобрения FDA (Food and Drug Administration – Федеральное агентство по контролю за медикаментами и пищевыми продуктами) в июле 1992 г. под наименованием Toprol XL [207,231].

Компания «AstraZeneca» (сформированная из «Zeneca Group» и «Astra», приобретшей «Hässle») заявляет, что в 1971 г. сотрудник «Astra» Toivo Nitenberg синтезировал разные соли метопролола, в том числе сульфат, тартрат и сукцинат, и именно ему принадлежит честь быть у истоков Toprol XL [172,207,231].

Toprol-XL зарегистрирован для лечения ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии, а с 2001 г. для лечения сердечной недостаточности. В США срок патентной защиты препарата должен был закончиться в сентябре 2007 г. По ходатайству «Andrx Pharmaceuticals», «Andrx Corporation» (в конце 2006 г. она была поглощена компанией «Watson») и «Eon Labs» 17 января 2006 г. окружной суд Восточного округа Миссури пришел к выводу о том, что патенты, защищающие препарат с пролонгированным высвобождением, недействительны. «AstraZeneca» подала апелляцию, но уже 21 ноября 2006 г. «Eon Labs» (компания

в составе «Sandoz» – подразделение «Novartis») вывела на рынок США свою генерическую версию. В марте и мае 2008 г. были одобрены соответственно 25 и 50 мг метопролола сукцината компании «Nesher Pharms» [219]. В мае 2008 вышел на рынок дженерик компании «KV Pharmaceutical».

В конце 2008 – начале 2009 гг. произошел перебой в производстве и отзыв одобренных дженериков метопролола сукцината из-за проблем валидации производственных процессов, а компании «AstraZeneca» пришлось наращивать производство оригинального препарата на этот период.

Тем не менее, в последнее время на рынке США продолжают появляться новые дженерики метопролола сукцината – 15 апреля 2010 г. одобрение FDA получила компания «Watson Labs Florida», а в июле 2010 г. фирма «Wockhardt» (США) [81,115]. Различные дозировки метопролола сукцината производства «Mylan Pharms Inc» и «Dr. Reddys Labs Ltd» были зарегистрированы соответственно в декабре 2011 г. и августе 2012 г. [219].

Наблюдаемая в последнее время высокая активность фармацевтических компаний по выведению на фармацевтические рынки разных стран именно соли сукцината связана с общемировым признанием фармакокинетических преимуществ данной формы метопролола.

Разнообразие разработанных технологических решений производства метопролола отражает тенденцию постоянного поиска решения проблемы по совершенствованию фармакокинетического профиля как ключевого критерия эффективности и безопасности уже известных лекарственных молекул.

### 1.1.2 Общая характеристика метопролола и фармакокинетические особенности лекарственных форм метопролола

Метопролол является липофильным селективным блокатором  $\beta_1$ -адренорецепторов без внутренней симпатомиметической активности со слабым мембраностабилизирующим действием.

Химическое название метопролола сукцината имеет следующий вид: ( $\pm$ )-1-[4-(2-Метоксиэтил)фенокси]-3-[(1-метилэтил)амино]-2-пропанол сукцината (2:1) (рисунок 1.1). Брутто формула –  $C_{15}H_{25}NO_3$ , а молекулярный вес составляет 652.8 [171].

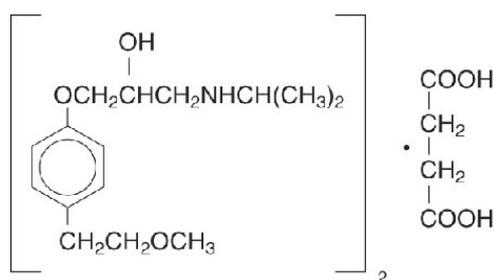


Рисунок 1.1 – Структурная формула метопролола сукцината

Субстанция метопролола сукцината представляет собой белый кристаллический порошок, растворимый в метаноле, мало растворимый в спирте и дихлорметане, очень мало растворимый в этилацетате, ацетоне, гептане и диэтиловом эфире [171].

Слабое основание метопролола плохо растворимо в воде, поэтому хорошо растворимый тартрат (700 мг/мл при 37°C) входит в состав таблетированных форм метопролола с немедленным высвобождением, а менее растворимая соль сукцината (300 мг/мл при 37°C) – в формы с замедленным или контролируемым высвобождением [14,139,138]. Следует отметить, что немаловажная роль в данном случае принадлежит также вспомогательным веществам лекарственной формы.

При определении прозрачности раствора субстанции 2% раствор должен выдерживать сравнение с опалесцентной стандартной суспензией II. При определении цветности раствора субстанции 2% раствор должен быть бесцветным. Раствор субстанции характеризуется рН от 7.0 до 7.6.

Таблетки оригинального препарата Беталок ЗОК 25, 50, 100 мг представляют собой: овальные двояковыпуклые таблетки белого или почти белого цвета, покрытые оболочкой; с насечкой на обеих сторонах (25 мг) или на одной стороне (50 и 100 мг) и соответственно гравировкой  $A \beta / A mo / A ms$  на другой стороне [170].

Одна таблетка Беталок ЗОК содержит: 23,75 мг, 47,5 мг и 95 мг метопролола сукцината, что эквивалентно 19,5 мг, 39 мг и 78 мг метопролола и 25 мг, 50 мг и 100 мг метопролола тартрата соответственно [170].

После приема внутрь метопролол быстро и полностью всасывается на всем протяжении желудочно-кишечного тракта [170]. За исключением желудка (незначительное всасывание) одинаковая скорость абсорбции, характерная для уравнения кинетики первого порядка, наблюдается в двенадцатиперстной, тощей, подвздошной и толстой кишке [179,185,200,242]. Таким образом, в случае применения пролонгированной лекарственной формы метопролола с водой и натощак, значительное количество действующего вещества достигает толстой кишки и полностью абсорбируется [185]. Применение метопролола вызывает некоторое увеличение секреции кислоты желудочного сока (клиническая значимость не установлена), но в отличие от неселективного пропранолола не увеличивает скорость опорожнения желудка [199].

Максимальная эффективность в снижении частоты сердечных сокращений после физической нагрузки достигается при назначении терапевтической дозировки и составляет около 25% [249].

Препарат подвергается пресистемному метаболизму (от 5% до 50%, в редких случаях и более) и метаболизируется в основном посредством изофермента CYP2D6, что приводит к межиндивидуальной вариабельности фармакокинетических параметров [170]. Изофермент CYP2D6 отсутствует у 8%

представителей европеоидной расы и у 2% большинства других рас, которые являются медленными метаболизерами [167]. Хинидин, флуоксетин, пароксетин и пропafenон ингибируют CYP2D6 и в несколько раз увеличивают концентрацию и период полувыведения метопролола [170,167]. Предложен фармакогенетический тест, применяемый не только в начале лечения пациентов, но также в рамках проведения исследования биоэквивалентности по соображениям безопасности [250]. Так при сравнительном исследовании стационарной концентрации, достигаемой многократным приемом в течение шести последовательных дней метопролола сукцината в дозировке 200 мг (в перерасчете на тартрат) для выявления и исключения добровольцев, характеризующихся низким уровнем метаболизма метопролола, был проведен тест фенотипирования, что позволило избежать высоких уровней концентрации метопролола в плазме [250].

Основные метаболиты метопролола О-деметилметопролол и альфа-гидроксиметопролол обладают клинически незначимым  $\beta_1$ -адреноблокирующим эффектом [170]. Менее 5% метопролола выделяется с мочой в неизменном виде [170].

Метопролол быстро и повсеместно распределяется в организме человека, что подтверждается кажущимся объемом распределения, который варьируется от 3 до 6 л/кг – в среднем около 5,6 л/кг массы тела [250]. В среднем незначительная часть около 12% метопролола связывается с белками крови альбуминами (5-25%), поэтому его элиминация может быть достигнута с помощью диализа [250].

Для повышения эффективности и безопасности лечения были разработаны пролонгированные формы с использованием технологии инертных матричных полимеров, которые содержали метопролола тартрат в дозе 200 мг, распадающиеся под действием перистальтики, например, Betalok Durules<sup>®</sup> (Durules – постепенное высвобождение ЛС с равномерным поступлением в кровь). Для метопролола фумарата была разработана система выделения OROS<sup>®</sup> (Oral Osmotic – система осмотического насоса) [14].

Дальнейшие поиски реализовались регистрацией препарата Беталок ЗОК (Betaloc ZOK), название которого отражает использованную систему высвобождения ЗОК (Zero-Order-Kinetics) – кинетика нулевого порядка, т.е. в каждую единицу времени высвобождается определенное количество препарата. Такая лекарственная форма высвобождает действующее вещество в течение 20 ч независимо от приема пищи, перистальтики и рН желудочно-кишечного тракта [249].

При применении метопролола сукцината с контролируемым высвобождением CR/XL значение  $C_{\max}$  значительно ниже (для 100 мг достигает 136-163 нмоль/л), чем для метопролола с немедленным высвобождением IR (для 100 мг достигает 722 нмоль/л) [14]. Величина  $C_{\min}$  значительно выше для CR/XL формы в дозах 50 и 100 мг и равнозначна в дозе ниже 200 мг, чем для IR формы [14]. При сравнении 100 мг метопролола сукцината CR/XL и IR  $C_{\min}$  отличается примерно в два раза – около 50 и 24 нмоль/л соответственно [14].

При однократном приеме 50 мг метопролола сукцината ER и IR достигается максимальная концентрация 71 нмоль/л и 221 нмоль/л соответственно [249].

$T_{\max}$  для метопролола сукцината 100 мг CR/XL составляет от 3,2 до 7,3 ч, в то время как для IR составляет 1,3 ч, при этом  $AUC_{24ч}$  достигает 3068 и 4645 нмоль/л\*ч соответственно [14].

Максимальная разница в показателях флуктуации (разность между  $C_{\max}$  и  $C_{\min}$  препарата в крови по отношению к AUC в интервале дозирования) наблюдается при применении 50 мг обеих форм метопролола однократно в сутки. При увеличении кратности приема препарата в IR форме с увеличением суточной дозы до 400 мг различия исчезают. Коэффициент флуктуации для формы с контролируемым высвобождением остается стабильно низким при однократном приеме различных доз препарата [48]. При постоянном применении метопролола сукцината 100 мг с замедленным высвобождением однократно в сутки флуктуация достигает 79%, а для метопролола сукцината IR 50 мг дважды в день – 225% и для метопролола сукцината IR 100 мг однократно – 470% [249].

Терапевтический уровень блокады  $\beta_1$ -адренорецепторов достигается при достижении концентрации в плазме от 80 до 300 ммоль/л, а превышение этого значения ведет к большей  $\beta_2$ -адреноблокаде, что ярко подчеркивает фармакокинетические преимущества системы пролонгированного высвобождения: поддержание необходимой эффективной концентрации в безопасных границах в течение длительного времени и с минимальными индивидуальными отклонениями [249].

Согласно Gupru M. (2004), перед всасыванием соль метопролола растворяется, а свободный метопролол становится той молекулой, которая взаимодействует с рецептором [14].

Как и все бета-адреноблокаторы метопролол – рацемическая смесь R и S-энантиомеров. Активность по отношению к  $\beta$ -адренорецепторам сердца выше у S-энантиомера примерно в 33 раза, в то время как аффинитет к подтипу  $\beta_1$  выше в 500 раз [243]. Напротив активность R-энантиомера в 10 раз выше по отношению к  $\beta_2$ -адренорецепторам [243]. Указанной особенностью объясняется потеря кардиоселективности и появление побочных эффектов при увеличении дозы метопролола [95, 243]. Данные особенности привели к разработке и появлению на фармацевтических рынках некоторых стран левовращающего стереоизомера метопролола сукцината или тартрата в качестве лекарственного препарата.

Так на Украине доступен S-энантиомер метопролола сукцината – Азопрол ретард, продемонстрировавший эффективность в контролируемых клинических исследованиях SMART (S-Metoprolol Assessment in Hypertension Trial) и ЛАЗУРЬ-СН (Левовращающий АЗопрол ретард в УкРаине при Сердечной Недостаточности) [95,174,237].

В настоящее время разрабатываются трансдермальные лекарственные формы метопролола сукцината, позволяющие снижать флуктуацию концентрации метопролола в крови, снижать эффект первого прохождения через печень и повышать комплаенс пациентов [225]. Изучаются системы пульсирующего высвобождения метопролола (используется метопролола тартрат) – первая часть дозы лекарственного средства начинает высвобождаться сразу же, а вторая часть

благодаря осмотической системе через заранее определенное время либо постепенно, что позволяет получать необходимую терапевтическую концентрацию в крови даже ночью или в ранние утренние часы [205].

Учитывая сложные технологические решения в фармацевтическом производстве для пролонгированных лекарственных форм метопролола, обеспечивающих необходимый профиль растворения и биодоступности, а также относительно высокий коэффициент вариабельности параметров метаболизма данного препарата, наиболее важная информация регистрируется в исследованиях фармацевтической эквивалентности, биофармацевтических исследованиях, а также в сравнительных исследованиях биоэквивалентности. По их результатам становятся доступными уникальные параметры фармакокинетики, позволяющие сделать рациональный выбор между зарегистрированными дженериками и оригинальным препаратом, а также адекватно прогнозировать эффективность и безопасность проводимой медикаментозной терапии.

## 1.2 Терминология

Анализ и систематизация терминологии, закрепленной на международном и государственном законодательном уровне, позволяет оценить требования, предъявляемые к анализу качества воспроизведенного препарата, условиям проведения исследований БЭ в различных регионах мира, к его регистрации и продвижению на фармацевтическом рынке, а также найти необходимые пути совершенствования и гармонизации данных требований с целью унификации методологического подхода.

Несмотря на давность введения термина дженерика, продолжают научные дискуссии, касающиеся проблем взаимозаменяемости и эквивалентности, в том числе фармацевтической, биологической и терапевтической.

Первое современное определение термина дженерика было предложено во Франции в 1986 г. При этом под дженериками понимались «копии оригинального лекарственного препарата, производство и сбыт которых возможны по истечению срока действия патента, защищающего инновационный препарат» [22]. Позже появились требования к лекарственной форме, касающиеся качественного и количественного состава действующего вещества и подтверждения биоквивалентности.

Воспроизведенные ЛС имеют ряд равнозначных общеупотребляемых синонимов – «генерики», «дженерики», «генерические лекарственные средства», «многоисточниковые (мультиисточниковые) лекарственные средства», однако в российском законодательстве закреплён термин «воспроизведенные лекарственные средства» [142].

В вступившем в силу Федеральном законе «Об обращении лекарственных средств» №61-ФЗ от 2010 г. по сравнению с предыдущей редакцией №86-ФЗ от 1998 г., смысл термина раскрывается подробнее: «воспроизведенное лекарственное средство – лекарственное средство, содержащее такую же фармацевтическую субстанцию или комбинацию таких же фармацевтических субстанций в такой же лекарственной форме, что и оригинальное лекарственное средство, и поступившее в обращение после поступления в обращение оригинального лекарственного средства» [142,147,148]. Как следует из определения, воспроизведенный препарат не обязательно является биоэквивалентным.

С учетом глобализации и тесных международных экономических взаимосвязей в современной фармацевтической отрасли основным ориентиром может служить терминология, принятая Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). Так определения, утвержденные на законодательном

уровне в странах Евросоюза и США, гармонизированы с терминологией ВОЗ и принципиально не отличаются [181,218].

В отношении воспроизведенных ЛС ВОЗ рекомендует употреблять термин «многоисточниковые лекарственные средства» (multisource drugs) – фармацевтические эквиваленты или фармацевтические альтернативы, которые не обязательно обладают терапевтической эквивалентностью [142,191,213]. Отдельно выделяется понятие «взаимозаменяемость» (interchangeability) для воспроизведенных лекарственных препаратов: «взаимозаменяемый фармацевтический препарат – это терапевтический эквивалент референсного препарата» [213].

Таким образом, видов «эквивалентности» воспроизведенных ЛС выделяют несколько – фармацевтическая, биоэквивалентность, терапевтическая, а также «эквивалентность in vitro» [142].

В рамках данной диссертации важно зафиксировать определения эквивалентности, принятые ВОЗ, так как именно на их основе формируется современная система экспертных оценок качества дженерика.

Так по определению ВОЗ, препараты фармацевтически эквивалентны, если содержат такую же молярную концентрацию одинакового активного фармацевтического ингредиента(ов) в такой же лекарственной форме, удовлетворяют требованиям сопоставимых стандартов и имеют одинаковый путь введения, что не обязательно означает терапевтическую эквивалентность [213]. Следует отметить, что определение фармацевтической эквивалентности до сих пор в некоторых научных публикациях ошибочно отождествляется с биоэквивалентностью [127].

Кроме эквивалентности в отношении лекарственного препарата может быть установлена фармацевтическая альтернативность. Фармацевтические альтернативы содержат такое же количество молей части (или частей) одинакового активного фармацевтического ингредиента, но отличаются лекарственной формой и/или химической формулой (например, разные соли). При этом высвобождается доля того же активного ингредиента при одинаковом пути

введения, а во всем остальном они не являются фармацевтическими эквивалентами. Такие лекарства не обязательно являются биоэквивалентными или терапевтически эквивалентными препарату сравнения [213].

Под термином фармацевтическая субстанция согласно отечественному законодательству (ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств») подразумевается только фармакологически активные вещества, которые выполняют функцию действующих веществ в лекарственных препаратах. В тоже время в ряде зарубежных фармакопей понятие субстанции распространяется как на действующие, так и на вспомогательные вещества.

В руководстве ICH Q7 дано следующее определение активного фармацевтического ингредиента: «Любое вещество (или смесь веществ), которое предназначено для использования в производстве лекарственного препарата и которое в производстве лекарственного препарата становится его активным ингредиентом» [145].

Основной задачей определения фармацевтической эквивалентности, а затем проведения исследования биоэквивалентности является определение возможности замены лекарственных препаратов с точки зрения терапевтической эквивалентности. Данная многогранная проблема все чаще поднимается в медицинской литературе [10]. Понятие терапевтической эквивалентности давно определено регулирующими органами Европейского союза и США, и оно соответствует терминологии ВОЗ.

Согласно ВОЗ «два лекарственных препарата считаются терапевтически эквивалентными, если они являются фармацевтическими эквивалентами или альтернативами и после применения в одинаковой дозе их эффекты, включая эффективность и безопасность, по существу одинаковы при назначении пациентам, используя одинаковый путь введения с учетом показаний инструкции по применению». Терапевтическая эквивалентность может быть продемонстрирована соответствующими исследованиями биоэквивалентности, такими как фармакокинетическими, фармакодинамическими, клиническими или исследованиями эквивалентности *in vitro* [213].

Тест эквивалентности *in vitro* – это тест растворения, который включает сравнение профиля растворимости мультиисточникового и препарата сравнения в трех средах (рН 1.2, 4.5 и 6.8) появился на законодательном уровне относительно недавно в связи с развитием биофармацевтической классификацией лекарственных средств (БКС) и валидацией соответствующих методик для конкретных препаратов [213]. Процедура определения взаимозаменяемости лекарственных средств *in vitro*, основанная на определении биофармацевтических свойств (растворимость в водных растворах с различными значениями рН и кишечной проницаемости), еще называется процедурой биовейвер [66,77,100, 155].

В соответствии с ЕМА (European Medical Agency – Европейское Медицинское Агенство) наиболее подходящим методом доказательства терапевтической эквивалентности признана демонстрация биоэквивалентности [211,218].

Биоэквивалентность согласно ВОЗ имеет следующее определение: «два лекарственных средства биоэквивалентны, если они фармацевтически эквивалентны или альтернативны, а их биодоступность по показателям пикового (максимальная концентрация  $C_{max}$  и время ее достижения  $T_{max}$ ) и общего (AUC – площадь под кривой концентрация – время) накопления после применения в одинаковой молярной дозе при одинаковых условиях является схожей в такой степени, что их эффекты ожидаются по существу одинаковыми» [213].

Таким образом, следуя принятой терминологии, доказательство биоэквивалентности позволяет гарантировать терапевтическую эквивалентность воспроизведенных препаратов. Однако, это возможно лишь в том случае, если все необходимые исследования проводятся в рамках качественной системы экспертных оценок лекарственных средств.

Важность данной системы диктуется неуклонно возрастающей ролью дженериков в системе современного здравоохранения и необходимостью врачам в клинической практике иметь уверенность в эффективности и безопасности назначаемой медикаментозной терапии.

### 1.3 Роль дженериков на мировом фармацевтическом рынке

Мировой фармацевтический рынок характеризуется постоянным ростом объема продаж лекарственных средств. В 1985 объем продаж составил 100, в 1995 – 260, в 2000 – 301, в 2010 – 875 млрд. дол. США [77,135].

В целом положительная динамика роста сохраняется: к июню 2012 г. общий мировой объем продаж составил 570,0 млрд. дол. США. Максимальный вклад обеспечивает США, а среди европейских стран максимальные объемы продаж наблюдаются в Германии, Франции и Италии. Однако по сравнению с периодом 2009–2010 гг. в 2011–2013 гг. прирост в 1-3% сменился отрицательной динамикой около 2% в пяти ведущих европейских странах. Фармацевтические рынки таких стран, как Китай, Индия, Бразилия, Аргентина и Венесуэла напротив, демонстрируют неуклонно высокий процент прироста розничных продаж [85,90,91].

В этом ряду фармацевтический рынок России также демонстрирует стабильный прирост: 2010 г. – 20, 2011 г. – 22 млрд. дол., и по прогнозам аналитиков достигнет 28,8 млрд. дол. США в 2013 г. [92].

На 2020 г. прогноз объема продаж в России составляет порядка 45,1 млрд. долларов, из них дополнительные расходы на приобретение дженериков составят 10,9 млрд. дол., а на приобретение патентованной продукции – не превысят 3,9 млрд. дол. США [82].

Следует отметить, что для фармацевтического рынка России переломными планируются 2014–2016 гг. Помимо запланированного перехода на стандарты GMP существующих производственных мощностей, в том числе отечественных производителей, на это время намечена сдача некоторых заводов, которые строят в России крупные иностранные фармацевтические производители, среди которых – «Nycomed», «Novartis», «Sanofi» [92].

В лекарственном обеспечении населения во всем мире все более важную роль играют генерические препараты. Так общий мировой рынок дженериков в 2010 г. составил 96,4 млрд. дол. [40]. При прогнозе роста к 2015 г. около 137,6 млрд. дол. наблюдается почти трехкратный рост по сравнению с 2004 г. (50 млрд. дол.), а среднегодовой темп роста составит около 9% в период с 2011 по 2018 гг. [89,40].

Рост сегмента рынка дженериков продолжается в первую очередь в США: в 2004 г. на дженерики приходилось – 57%, 2006 – 61%, 2008 – 69%, а в 2009 году около 75% назначений или около 74 млрд. дол. [33]. В 2011 г. на долю дженериков приходится около 70% назначений по федеральной системе медицинской помощи неимущим гражданам Medicaid и около 78% всех назначений [33,40]. Самые выписываемые врачами в США рецептурные лекарства являются дженериками [16].

В Европе около 50% объема лекарств составляют дженерики (например, в Германии около 30%), хотя в стоимостном выражении на их долю приходится только 18% – 42,3 млрд. дол. США [39, 101, 141].

По данным независимого анализа Ассоциации производителей дженериков США (Generic Pharmaceutical Association, GPhA), применение воспроизведенных препаратов позволило потребителям и системе здравоохранения в период 2001–2010 гг. сэкономить 931 млрд. дол. [33]. Только в 2010 г. экономия составила около 158 млрд. дол. США (в среднем 3 млрд. дол. в неделю) [33].

В 2011 г. производители брендов потеряли в сегменте продаж около 50 млрд. дол. США [40]. Сложившаяся ситуация предоставляет огромные возможности для дженериковых компаний в течение ближайших 10 лет. Распространение воспроизведенных препаратов будет устойчиво продолжаться на фоне необходимости контроля роста расходов на здравоохранение, в том числе в США и Европе [40]. Также в 2011 – 2014 гг. истекают сроки патентной защиты препаратов, приносящих 209 млрд. дол. США в год [40].

Другим значительным фактором развития рынка дженериков является тенденция установления присутствия на нем крупных производителей

оригинальных лекарств, в частности «Pfizer» и «Novartis». Например, продажи дженериков принесли «Novartis» 9,47 млрд. дол. или 16% всей выручки в 2011 г. [25].

Объем мирового рынка дженериков будет устойчиво расти до 2021 г. Этому будут способствовать в том числе такие факторы, как увеличение продолжительности жизни, бюджетные ограничения и потребность в доступных лекарственных средствах (ЛС) населения развивающихся стран [40].

В Российской Федерации согласно данным Росздравнадзора по состоянию на 1 января 2010 г. всего зарегистрировано 18 635 наименований готовых ЛС, из них: отечественного производства – 12 871 (69%), зарубежного производства – 5764 (31%), оригинальных ЛС – 1383 (7,4%), дженерических препаратов – 17 252 (92,6%) [128].

Таким образом, на российском рынке дженерики существенно преобладают над оригинальными препаратами в натуральном выражении, причем наиболее насыщен госпитальный сектор: доля дженериков в 2010 г. составила 87% в натуральном выражении [114]. В 2010 г. в стоимостном объеме дженерикам принадлежит 32%, а оригинальным ЛС – 68% фармацевтического рынка России, в натуральном выражении (в упаковках) – соответственно 66 и 34% [158]. Под патентной защитой находится лишь 13% ЛС [158]. В настоящее время данная тенденция сохраняется [2,146].

Следует отметить, что по некоторым действующим веществам наблюдается явный избыток зарегистрированных наименований: парацетамол – 342, ацетилсалициловая кислота – 317, диклофенак – 207, эналаприл – 147, ципрофлоксацин – 126, атенолол – 102, нифедипин, атенолол, ципрофлоксацин – около 100, нитроглицерин – около 50 индивидуальных и комбинированных препаратов [8]. В ряде стран с развитой системой контроля качества, эффективности и безопасности ЛС, число дженериков инновационного препарата в большинстве случаев не превышает 4-5 [8,142].

Развитие отечественной фармацевтической промышленности декларируется государственными структурами одним из приоритетных направлений

промышленной политики России. В 2009 г. Минпромторгом России была утверждена Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 г. (Стратегия «Фарма-2020» [137]). Одной из целей позиционируется производство отечественным производителем высокотехнологичной конкурентоспособной продукции, которое должно быть достигнуто, в том числе с помощью импортозамещения через воспроизведение лучших иностранных образцов лекарственных средств с помощью овладения технологиями их производства [144].

На основе Стратегии «Фарма-2020» была разработана федеральная целевая программа (ФЦП) «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». ФЦП [117] призвана решить следующие задачи: технологическое перевооружение отечественной фармацевтической и медицинской промышленности, создание научно-исследовательской базы мирового уровня и выпуск отечественной фармацевтической и медицинской промышленностью социально значимых лекарственных средств и медицинской продукции с целью импортозамещения [144].

Также с учетом реалий российского фармацевтического рынка предложена стратегия лекарственного обеспечения россиян до 2025 г., которая предусматривает повышение доступности качественных и безопасных препаратов для населения за счет отечественных лекарств [62].

В сложившихся условиях регистрационные исследования биоэквивалентности (БЭ) будут одним из наиболее распространенных видов клинических исследований дженериков, качество проведения которых будет непосредственно влиять на качество выпускаемой продукции и оказываемой медицинской помощи. Так в 2009 г. исследования БЭ составили около 14% от всех клинических исследований, проводимых в РФ [88]. В августе 2013 г. из всех одобренных Минздравом РФ клинических исследований около 40% (26 исследований) составили исследования БЭ. Среди фармакотерапевтических групп лидируют бета-адреноблокаторы (3 исследования) [46]. Помимо отечественного

производителя исследования БЭ на территории РФ будут более активно проводить и зарубежные фармацевтические компании, в том числе европейские, азиатские и американские, что потребует дальнейшей гармонизации законодательных требований к качеству дженериков, проведению биофармацевтических и фармакокинетических исследований.

#### **1.4 Сравнительные исследования метопролола и аналитические методики определения препарата**

Опыт проведения исследований БЭ в разных странах для лекарственной формы метопролола тартрата является довольно обширным по той причине, что патентная защита оригинального препарата давно истекла. Так для традиционной формы сложился определенный стандартный методологический подход в сравнительных исследованиях, но отмечаются некоторые различия в дизайне исследований, проводимых по всему миру.

Исследование БЭ метопролола тартрата 100 мг Lenopres («Lemery», S.A. de S.V.) и 100 мг Lopressor («Novartis Farmaceutica», S.A.) в Мексике было проведено согласно национальным требованиям. Были включены 24 здоровых добровольца мужского пола. Дизайн представлял открытое перекрестное исследование, проводимое натошак с периодом отмывки одна неделя. Образец крови отбирался до и через 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 и 24 ч, из которого готовилась плазма и замораживалась при минус 40°C [167].

Определение метопролола в плазме крови проводилось стандартным методом ВЭЖХ с флуоресцентной детекцией, описанным в 1992 г. Sohn et al. [232] с некоторой модификацией. Образец плазмы объемом 0,5 мл помещался в

коническую стеклянную пробирку, куда добавлялось 10 мкг окспренолола в качестве внутреннего стандарта. После добавления 5 мл смеси диэтилового эфира и дихлорметана (80:20 по объему) пробирка помещалась на шейкер «Vortex» для перемешивания на максимальной скорости в течение 1 минуты, а затем центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 10 минут. Органический слой переносился в другую коническую стеклянную пробирку и высушивался на водяной бане при 45°C под током азота. Сухой остаток растворялся в 1 мл подвижной фазы. Аликвота объемом 0.2 мл помещалась в хроматографическую систему. Разделение проводилось в колонках Symmetry C<sub>18</sub> размером 15 см \* 3.9 мм с размером частиц 5 мкм. Мобильная фаза (500 мл) готовилась путем добавления к 395 мл воды 5 мл триэтиламина, при этом значение рН 4 доводилось концентрированной о-фосфорной кислотой, а ацетонитрил добавлялся до объема 500 мл. Скорость потока элюэнта поддерживалась постоянной на уровне 1.2 мл/мин. Определение компонентов проводилось при длине волны возбуждения 230 нм и волны эмиссионного излучения 300 нм. Метод продемонстрировал линейность при значениях от 10 до 300 нг/мл, точность определения от 100,4 до 105,9%, коэффициент вариации метода менее 6,5% [167].

Регистрируемый препарат подтвердил биоэквивалентность, а в ходе исследования были получены следующие фармакокинетические параметры препаратов: C<sub>max</sub> составил 166.84±18.02 и 170.69±22.23 нг/мл, T<sub>max</sub> составил 1.104±0.10 и 1.104±0.11 ч, AUC<sub>24ч</sub> составил 738.24±173.0 и 732.12±145.1 нг/мл\*ч для исследуемого и стандартного препаратов соответственно [167].

В открытом рандомизированном перекрестном исследовании БЭ, проведенном в США в 2002 г., изучалась сравнительная биодоступность метопролола тартрата 100 (производства «Mylan» – тест) по сравнению с Lopressor® 100 мг («Novartis» – стандарт) при однократном приеме с пищей. Исследование завершило 19 добровольцев в возрасте от 20 до 47 лет. Образцы крови отбирались в объеме 10 мл до дозирования (но после завтрака) и через 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36 и 48 ч после дозирования [229].

Образцы плазмы хранились при температуре минус  $70\pm 15^{\circ}\text{C}$  до анализа методом ВЭЖХ-МС. Линейность продемонстрирована от 5 нг/мл до 500 нг/мл. Предел обнаружения – 5 нг/мл. Междневная прецизионность метода составила менее 7,4%. Междневная точность метода варьировалась от минус 4,6% до 4,7% от номинальной концентрации [229]. Соотношение тест/стандарт по AUC и  $C_{\text{max}}$  составило соответственно 1.06 и 1.03, а 90% доверительный интервал после логарифмического преобразования 99–114% и 95–112% [229], что подтверждает биоэквивалентность препаратов.

В России зарегистрированы оригинальный препарат метопролола тартрата – Беталок и метопролола сукцината – Беталок ЗОК (оба производства «АстраЗенека», Швеция). На фармацевтический рынок уже выведено значительное количество воспроизведенных препаратов метопролола тартрата и продолжают появляться новые.

На данный момент на территории России зарегистрированы два воспроизведенных препарата и две фармацевтические субстанции – производства «Sun Pharmaceutical Industries Ltd.», Индия (№ ЛСР-007632/09 от 2009-09-29) и производства «Polpharma», Польша (№ ЛСР-005769/10 от 2010-06-23).

Метопролол сукцинат производства ЗАО «ФП Оболенское» (Россия) был признан биоэквивалентным оригинальному в 2009 г. согласно исследованию БЭ таблеток пролонгированного действия, покрытых оболочкой, Лидалок 100 мг по сравнению с Беталок ЗОК 100 мг [109], по результатам которого были зарегистрированы дозировки таблеток 25, 50 и 100 мг (№ ЛСР-005099/10 от 2010-06-01). Однако отчета по данному исследованию или публикаций в периодической литературе найдено не было, а ЛС не доступно на фармацевтическом рынке.

Практика проведения исследований БЭ в Европе в отношении метопролола сукцината несколько отличается. Так метопролол сукцинат («Ратиофарм ГмбХ», Германия) был изучен в исследованиях биоэквивалентности по сравнению с оригинальным препаратом Veloc-Zoc («АстраЗенека ГмбХ», Германия). В трех исследованиях изучалась дозировка в 200 мг: натощак, с пищей и при повторном

приеме в течение 6 дней. В результате исследований отношения  $C_{\max}$  и AUC соответствуют допустимым отклонениям 80–125%, а  $C_{\min}$  при исследовании повторного применения соответствовал более широкому интервалу 75–133%. Коэффициент флуктуации сравниваемых препаратов оказался сопоставимым. Меньшие дозировки 25, 50 и 100 мг были изучены с помощью процедуры биовэйвер при экстрополяции данных по биоэквивалентности метопролола сукцината 200 мг. В результате по децентрализованной процедуре данные лекарственные формы были зарегистрированы на территории Европы в 2009 г. [228].

### **1.5 Методы анализа качества субстанции и определения фармацевтической эквивалентности таблеток метопролола сукцината**

По прежнему остается актуальной проблема аналитической химии фармацевтических субстанций, широко используемых в здравоохранении, но в подавляющем большинстве произведенных за рубежом.

Определение подлинности активного вещества субстанции, его массовой доли, примесей является одним из основополагающих этапов в системе экспертных оценок лекарственного препарата. Наиболее остро стоит вопрос об анализе качества субстанций, используемых для воспроизведенных препаратов. В условиях, когда субстанции поступают из различных регионов мира (при очевидном преобладании индийских и китайских производителей), возрастает необходимость наличия унифицированного нормативного документа или по крайней мере гармонизированного алгоритма анализа качества.

В рамках определения эквивалентности воспроизведенных и оригинальных препаратов подтверждение качества фармацевтической субстанции

воспроизведенных препаратов позволяет перейти к следующему важному этапу – подтверждению фармацевтической эквивалентности лекарственных препаратов.

Согласно FDA фармацевтически эквивалентные лекарственные препараты содержат одинаковые активные ингредиенты в одинаковой лекарственной форме, предназначены для одного способа введения и идентичны по силе действия или концентрации активных веществ.

Европейская терминология предусматривает некоторый плюрализм нормативной документации и считает, что лекарственные препараты фармацевтически эквивалентны, если они содержат одни и те же активные субстанции в одинаковом количестве и в одинаковой лекарственной форме, отвечают требованиям одних и тех же или сходных стандартов.

Показательно, что в действующей редакции федерального закона «Об обращении лекарственных средств» термин фармацевтической эквивалентности отсутствует, хотя дефиниции терапевтической эквивалентности и биоэквивалентности приведены.

Исследование фармакокинетической эквивалентности не рассматривается как альтернатива испытаниям фармацевтической эквивалентности. Важность фармацевтической эквивалентности предусматривают методические рекомендации по оценке биоэквивалентности лекарственных препаратов. Определение эквивалентности воспроизведенных лекарственных средств по качественному и количественному составу, оцениваемой по фармакопейным тестам/нормативной документации позволяет впоследствии провести исследования биоэквивалентности.

Бурное развитие фармацевтического анализа в последние десятилетия обусловлено успехами инструментального анализа и совершенствованием методологии математической обработки данных электронными средствами. В фокусе развития химической аналитики оказались такие физико-химические инструментальные методы анализа как спектрометрия и хроматография. В первом случае метод базируется на использовании поглощения и испускания света, а во втором на разделении веществ между двумя различными фазами. Значительный

прогресс, наблюдаемый в области анализа качества также обусловлен сложившейся тенденцией смещения интереса аналитической химии в сторону биомедицинских объектов и лекарств.

Определение фармацевтической эквивалентности в РФ недостаточно полно регламентируется отечественными нормативными документами. Несмотря на долгожданный выход Государственной фармакопеи XII издания (2008), в ней не содержатся фармакопейные статьи на субстанцию или таблетки метопролола сукцината (или тартрата). Однако появился ряд общих фармакопейных статей (ОФС), посвященных общим методам анализа качества.

Отсутствие ряда контрольных функций у Государственной фармакопеи на законодательном уровне предусмотрено ФЗ «Об обращении лекарственных средств», который позволяет при определении качества лекарственного средства определять соответствие лекарственного средства требованиям нормативной документации или нормативного документа в случае отсутствия фармакопейной статьи.

Таким образом, на данном этапе в качестве руководства были привлечены статьи зарубежных фармакопей и фармакопейные статьи предприятия (ФСП) на исследуемые препараты, что потребовало провести анализ и поиск путей совершенствования и гармонизации фармакопейного анализа, так как система контроля качества лекарственных препаратов по прежнему формирует некоторую специфику отечественных требований к оценке качества, отражающую реальные возможности отечественной фармацевтической промышленности, уровень развития науки и техники, оснащенность контрольно-аналитических лабораторий.

### 1.5.1 Инфракрасная спектроскопия

Явление взаимодействия веществ с инфракрасным излучением было открыто У. Эбни и И. Фестингом в 1861 г., а в 1968 г. впервые метод стал фармакопейным (ГФ X) и в настоящее время зарекомендовал себя как классика абсорбционной молекулярной спектроскопии.

Подход фармакопейного анализа к идентификации субстанций заключается в использовании сочетания методов ИК-спектроскопии, УФ-спектрофотометрии и качественных реакций.

Обзор литературы, в который были включены 1145 монографий в Ph. Eur. (Европейская фармакопея) и 1087 монографий в USP (фармакопея США) на лекарственные вещества, представляющие собой индивидуальные органические вещества, показал, что приоритетным методом идентификации в обеих фармакопеях является метод ИК-спектроскопии [145].

Получать ИК-спектры можно для субстанций, в ряде случаев для готовых ЛС, а также для действующего вещества после специальной пробоподготовки. Для качественных аналитических приборов воспроизводимость составляет обычно 2-5% с учетом погрешности пробоподготовки.

В ВР (Британская фармакопея) и в Ph. Eur. для сравнения ИК-спектров ранее использовались рисунки стандартных спектров, но, начиная с 5-го издания Ph. Eur., рекомендуется использовать стандартные образцы, а в тех случаях, когда есть практические трудности с обеспечением стандартными образцами, допускается использовать рисунки спектров [145].

По полному совпадению частот и интенсивности линий в области 1900-700 см<sup>-1</sup> можно говорить об идентичности сравниваемых объектов [36]. Однако абсолютно полного совпадения полос для подлинного препарата не всегда удается. Результатом взаимодействия полос поглощения отдельных атомов являются обертоны, полосы резонансного взаимодействия, составные полосы

[34]. Возможно появление артефактных полос поглощения очень небольшой интенсивности. При разрешении  $1 \text{ см}^{-1}$  воспроизводимость значений волновых чисел составляет обычно  $\pm 4-8 \text{ см}^{-1}$  в области  $4000-2000 \text{ см}^{-1}$  и  $\pm 1-3 \text{ см}^{-1}$  в области  $2000-400 \text{ см}^{-1}$ , что может приводить к слиянию полос поглощения. При интерпретации спектров важно, чтобы все полосы поглощения большой, средней и малой интенсивности имели полное совпадение с соответствующими полосами стандартного спектра. Исчезновение или появление полос очень малой интенсивности около 1-2% по шкале пропускания, а также слияние полос, находящихся друг от друга на расстоянии менее  $6-8 \text{ см}^{-1}$  не должно свидетельствовать о фальсификате.

При расшифровке также важно учитывать, что отсутствие характеристической полосы поглощения является более надежным доказательством отсутствия структурной группы, чем доказательство ее наличия на основании полосы поглощения, а также что не все полосы можно интерпретировать [34].

Европейская фармакопея [177,178] регламентирует определение подлинности субстанции метопролола сукцината с помощью ИК-спектрофотометрии в качестве единственного метода, а для метопролола тартрата – в качестве альтернативного.

Фармакопея США [238,239] рекомендует ИК-метод для субстанции метопролола сукцината, а также для таблеток метопролола сукцината пролонгированного действия. Среди особенностей метода предусмотрено разделение основания и кислоты молекулы препарата. Экстракция основания осуществляется метиленхлоридом из водного раствора, полученного из таблеток метопролола сукцината с добавлением фосфатного буфера (pH 6.8) и метиленхлорида. Пробоподготовка проводится для анализируемого и стандартного образцов, а полученные спектры сравниваются между собой для подтверждения присутствия метопролола. Добавление хлористоводородной кислоты и экстракция этиловым эфиром первоначального водного раствора

позволяет выделить янтарную кислоту, а затем путем сравнения ИК-спектра со стандартным образцом позволяет подтвердить присутствие сукцината.

Фармакопейный метод предусматривает приготовление таблеток с калия бромидом. Таблетки из калия бромида используются для получения спектров неорганических и нерастворимых органических веществ. Этот метод имеет следующие недостатки:

- При растирании и прессовании вследствие локального перегревания вещества может произойти его необратимое изменение.
- Вследствие гигроскопичности калия бромида трудно получить спектр, не содержащий полос поглощения воды (область поглощения  $3200-3400\text{ см}^{-1}$ ,  $1600-1700\text{ см}^{-1}$ ).
- В некоторых случаях происходит взаимодействие исследуемых веществ с калия бромидом, сопровождающееся изменением поглощения.

### 1.5.2 УФ-спектрофотометрия

Согласно USP [238,239] метод УФ-спектрофотометрии используется в тандеме с ВЭЖХ при количественном определении субстанции метопролола сукцината (регламентируется длина волны 223 нм), а также при определении таких фармакопейных показателей качества таблеток пролонгированного действия метопролола сукцината как однородность дозирования, тест растворения и количественное определение в комбинации с ВЭЖХ (регламентируется длина волны 280 нм).

Европейская фармакопея [177,178] применяет комбинацию ВЭЖХ с УФ-детектированием при длине волны 280 нм в качестве альтернативного метода определения родственных примесей субстанции метопролола сукцината.

При проведении аналитической части исследований биоэквивалентности метопролола сукцината в подавляющем большинстве также прибегают к комбинации ВЭЖХ с УФ-детектированием. Однако для идентификации метопролола сукцината среди фармакопей разных стран данный метод не находит применения.

При установлении подлинности спектрофотометрическими методами стандартные образцы, как правило, не используются, а идентификация осуществляется по положению максимумов и минимумов, отношению оптических плотностей (более специфичный критерий), величине удельного показателя поглощения. В USP спектрофотометрический метод используется в 40% монографий (в Ph. Eur. – всего в 3%) и предусмотрено сравнение спектральных характеристик растворов испытуемых и стандартных образцов для установления подлинности субстанций [145].

Появляются научные публикации, предлагающие простое, точное и быстрое спектрофотометрическое определение в УФ-области в качестве метода подтверждения подлинности и количественного определения субстанции метопролола сукцината. При длине волны 224 нм зарегистрирован максимум поглощения в дистиллированной воде, фосфатном буфере с рН 6.8, 0.1N хлористоводородной кислоты. Линейность данного метода наблюдается при концентрации метопролола сукцината 5-30 мкг/мл в дистиллированной воде и фосфатном буфере, и при концентрациях 10-50 мкг/мл в 0.1N хлористоводородной кислоты. Относительная ошибка находится в пределах 2%, процент обнаружения варьируется от 99.0% до 101.0%, %RSD<1%. Предел обнаружения составляет 0.77 мкг/мл при определении метопролола сукцината в дистиллированной воде, 2.97 мкг/мл – в 0.1N хлористоводородной кислоты, 0.515 мкг/мл – в фосфатном буфере рН 6.8. Предел количественного определения составляет 0.247, 0.302, 1.562 мкг/мл для дистиллированной воды, в 0.1N хлористоводородной кислоты, фосфатного буфера рН 6.8 соответственно [203].

Для таблеток метопролола сукцината также предлагаются методы, основанные на спектрофотометрической детекции в УФ-области. С появлением

разнообразных комбинированных лекарственных форм метопролола сукцината появляются публикации, посвященные одновременному количественному определению активных ингредиентов препарата. При снятии спектра метопролола сукцината и олмесатрана медоксомила, растворенных в метаноле, в области 200-400 нм для определения метопролола были выбраны аналитические волны 225.2 и 258.2 нм (для олмесатрана – 211 и 229.8 нм). Разница абсорбции при этих волнах прямо пропорциональна концентрации метопролола в его смеси с олмесатраном. Линейность метода продемонстрирована при концентрациях 5-30 мкг/мл [241].

Для определения метопролола сукцината в его комбинации с аторвастатином кальция в капсулах предложен спектрофотометрический метод определения в УФ-области. Согласно первой модификации метода предложено измерять значение абсорбции в растворе метанола при максимуме поглощения 276.5 нм для определения концентрации метопролола (246.5 нм – для аторвастатина). Согласно второй модификации измеряется площадь под кривой поглощения при длинах волн 281.5–271.5 для метопролола сукцината (251.5–241.5 нм для аторвастатина). Линейность метода продемонстрирована при концентрациях метопролола сукцината 10-60 мкг/мл [244].

Sawant et al. предложили три метода определения метопролола сукцината в таблетках с использованием дистиллированной воды в качестве растворителя. В области 200-400 нм был выбран максимум поглощения при длине волны 274 нм. Альтернативным способом предложен метод УФ-спектрофотометрии по первой производной спектра. При изучении от первой до четвертой производной в области 200-400 нм была выбрана первая производная спектра, характеризующимся максимумом поглощения при 284 нм, минимумом поглощения при 260 нм и нулевым поглощением при 272 нм. Разница между максимумом и минимумом поглощения при указанных длинах волн имела прямую зависимость от концентрации метопролола. Третий метод основан на оценке площади под кривой зависимости поглощения от длины волны: была выбрана область от 244 до 294 нм. Линейность всех трех методов была продемонстрирована при концентрациях 25-200 мкг/мл. Открываемость составила

от 99.05% до 100.95%. Высокая прецизионность методов подтверждается незначительным стандартным отклонением и коэффициентом вариации ( $\pm 2.0$ ). %RSD составил менее 2% [227].

Тем не менее, в большинстве публикаций по метопрололу сукцинату в качестве аналитической длины волны с максимумом поглощения предпочтение отдается 222 нм [163,217].

Использование данного метода в тандеме с ВЭЖХ и внедрение в отечественную нормативную документацию позволит использовать имеющиеся мощности лабораторий для фармацевтического анализа.

### **1.5.3 Высокоэффективная жидкостная хроматография**

Развитие метода хроматографического разделения привело к значительному снижению предела обнаружения веществ от  $10^{-6}$  до  $10^{-15}$  г вещества, а модернизация измерительных технологий – к повышению достоверности метода и минимизации систематической ошибки.

Метод ВЭЖХ в настоящее время занимает ведущие позиции среди других видов хроматографии, в том числе по объему выпускаемой продукции и по количеству публикаций [160].

Метод хроматографии основан на распределении компонентов смесей между двумя фазами – неподвижной и подвижной (элюент), протекающей через неподвижную. Пропускание элюента через колонку под высоким давлением позволяет резко увеличить скорость анализа и существенно повысить эффективность разделения за счет использования мелкодисперсного сорбента.

Активное внедрение в практику обращенных фаз связано с возможностью введения и элюирования водных растворов проб. В этом случае неполярная

стационарная фаза получается в результате химической модификации силикагеля функциональными группами, такими как октил, октадецил и другие. В отношении элюента в некоторых случаях может потребоваться замена изократического режима на градиентное элюирование.

Традиционно используемые сорбенты с размером частиц 5 мкм по-прежнему остаются наиболее востребованными, так как выпускаемые приборы не могут реализовать разделяющую способность колонок, заполненных частицами размером 3 мкм и меньше.

Наиболее распространенным детектором ВЭЖХ является детектор УФ- и видимого диапазона. Это обусловлено тем, что большинство химических соединений имеют интенсивные полосы поглощения в диапазоне волн 200-800 нм. С его помощью можно обнаружить соединения, поглощающие свет при длинах волн больше 190 нм (это связано с поглощением самого элюента) с высокой чувствительностью достигающей от 2 до  $5 \cdot 10^{-5}$  оптических единиц поглощения. Следует учитывать, что чаще всего при поглощении более одной единицы наблюдается отклонение от линейности, а также по мере службы прибора доля рассеянного света монохроматора в спектрофотометрах возрастает, что также ухудшает линейность прибора в верхней области поглощения. УФ-детектор характеризуется необходимостью малого рабочего объема ячеек (около 1 мкл), недеструктивностью, относительной нечувствительностью к колебаниям потока подвижной фазы и изменениям температуры. Из недостатков следует отметить неуниверсальность и непрозрачность некоторых подвижных фаз по отношению к интересующей УФ-области [160].

В случае анализа веществ, которые флуоресцируют (за счет облучения в близкой ультрафиолетовой области возникает излучение в более длинноволновой согласно правилу Стокса), используемый флуоресцентный детектор обладает чувствительностью, превосходящий детектор по поглощению, на несколько порядков (до 100) [160], так как согласно принципу работы прибора измеряется абсолютное изменение интенсивности света. Однако линейный диапазон для таких детекторов более узкий. Специфичность данного детектора требует

пристального внимания к таким параметрам хроматографирования как рН, вязкость, коэлюирование нефлуоресцирующих соединений, а также температура. Использование колоночных термостатов позволяет получать воспроизводимые результаты в изотермических условиях; путем снижения температуры – снижать границу обнаружения вещества за счет роста флуоресцентного выхода. В случае флуоресцентного детектора необходимо использовать безкислородные растворители (вызывает гашение флуоресценции), а также убедиться в отсутствии фоновой флуоресценции [160].

Применение ВЭЖХ в контексте клинических исследований имеет задачи определения активных веществ и метаболитов в биологических средах (плазма, сыворотка, моча). В данном случае необходима детекция концентраций, находящихся в области от микрограмм до нанogramм на миллилитр жидкости. Сложность выделения и концентрирования из биологических сред, содержащих большое количество примесей, определяет высокие требования к пробоподготовке при биоанализе. На данном этапе важна стандартизация и автоматизация пробоподготовки путем интегрирования ее в хроматографическую систему, что позволяет избегать ошибок анализа.

Краткое содержание методик проведения аналитической части исследования биоэквивалентности метопролола сукцината с помощью ВЭЖХ приведены в разделе 1.5.

В рамках подтверждения фармацевтической эквивалентности метод ВЭЖХ используется для целого ряда фармакопейных показателей таблетированных лекарственных форм: количественное определение, однородность дозирования, определение примесей.

Для установления подлинности хроматографические методы используются не так часто (примерно 20% монографий), причем в Ph. Eur. преимущественно идентификация проводится методом ТСХ, а в USP – ВЭЖХ [145].

Согласно Ph. Eur. [177,178] определение примесей проводят с помощью обращенно-фазной ВЭЖХ на колонках длиной 150 см и толщиной 3.9 мм, заполненных частицами стационарной фазой из октадецилсилила размером 5 мкм

и диаметром пор 10 нм. В качестве подвижной фазы используется смесь аммоний ацетата, триэтиламина, ледяной уксусной и фосфорной кислоты, ацетонитрила. Объем инъекции составляет 20 мкм, а скорость элюирования устанавливается 1 мл/мин, детекция УФ-спектрофотометрией при длине волны 280 нм. Время удерживания метопролола составляет около 7 мин при общем времени анализа около 21 мин.

Готовятся два разведения анализируемых растворов. Индивидуальные пики не должны превышать основной для метопролола, а сумма пиков примесей не должна превышать его 5-кратный объем. Любой пик менее половины основного не должны приниматься во внимание.

В случае появления пика при времени удерживания 2.3 мин, площадь которого больше основного пика, то для определения примеси 4-[(2RS)-2-гидрокси-3[(1-метилэтил)амино]пропокси]бензальдегида образец субстанции растворяют в хлористоводородной кислоте, переносят в чашку диаметра 10 см, а источник ультрафиолетового света с длиной волны 254 нм помещают на расстояние 5 см от поверхности чашки на 6 ч. Затем определенный объем растворяют в подвижной фазе и наносят на колонку.

USP [238,239] предлагает метод ВЭЖХ не только для определения примесей, но для количественного определения субстанции метопролола сукцината. Колонка диаметром 4 мм и длиной 12,5 см заполняется частицами  $C_8$  размером 4 мкм. Объем инъекции составляет 10 мкм, скорость элюирования устанавливается 0,9 мл/мин при температуре 30°C, детекция УФ-спектрофотометрией при длине волны 223 нм. Подвижная фаза состоит из натрия додецилсульфата, фосфорной кислоты и ацетонитрила.

Ph. Eur. [177,178] в отличие от USP для количественного определения метопролола сукцината проводит титрование хлорной кислотой в безводной уксусной кислоте с потенциометрическим окончанием.

Преимущество использования прямых методов количественного определения заключается в отсутствии необходимости использования стандартных образцов; потенциометрическое окончание позволяет избежать

субъективности индикаторного титрования, а недостаток избирательности титриметрии компенсируется оценкой содержания примесей [145].

В соответствии с общей тенденцией в фармацевтическом анализе, а также отсутствие сформированной национальной системы фармакопейных стандартных образцов, в ОФС «Фармацевтические субстанции» рекомендовано использовать прямые физико-химические и химические методы количественного определения лекарственных веществ [145].

Статья USP [238,239] для таблеток метопролола сукцината пролонгированного действия предполагает использование метода ВЭЖХ для количественного определения, идентификации примесей и при проведении теста растворения. Некоторые отличия состоят в приготовлении подвижной фазы, где используется ацетонитрил в соотношении 1:3 к фосфатному буферу с рН 3.0, а также в объеме инъекции, который составляет 40 мкл при скорости элюирования 1.0 мл/мин.

Таким образом, тандемное использование ВЭЖХ с УФ-детекцией может рекомендоваться для дальнейшего внедрения в отечественную нормативную документацию.

#### **1.5.4 Ближняя инфракрасная спектроскопия**

В современном фармацевтическом анализе все большую популярность приобретают инструментальные экспресс-методы контроля качества лекарственных средств. Среди них особое место занимает метод ближней ИК-спектроскопии (БИК-спектроскопии). Общие фармакопейные статьи, посвященные этому методу, включены практически во все фармакопеи экономически развитых стран [20,177,235,236,238]. Появление ОФС 42-0099-09 в

Государственной фармакопее открывает новые возможности внедрения метода для контроля качества ЛС.

Обладая такими преимуществами, как экспрессность и высокая воспроизводимость результатов анализа, БИК-метод использует достижения статистической обработки результатов, в частности, многофакторный анализ. Такое сочетание определяет его уникальность, в том числе для подтверждения подлинности и определения содержания действующего вещества в лекарственной форме, а также позволяет регистрировать минимальные различия между лекарственными средствами, как отдельных производственных серий, так и разных производителей [1,5,7,12].

Визуальный анализ БИК-спектров затруднен, однако методы математической статистики позволяют обработать аналитические характеристики спектров и оценить качество исследуемого образца.

Извлечение необходимой информации из БИК-спектров достигается путем сжатия полученных данных, в частности наиболее применяемым методом главных компонент. Метод главных компонент представляет проецирование данных на подпространство меньшей размерности. Возникающие при этом непроецируемые данные рассматриваются как шум, не содержащий значимой химической информации. В полученном подпространстве вводится мера близости образцов – расстояние Махаланобиса (Mahalanobis) [113,120,201].

Таким образом только благодаря современным методам статистической обработки данных с помощью хемометрики из сложной картины спектрального перекрывания полос поглощения появляется возможность получить важную характеристику молекулярной структуры исследуемого образца.

Среди хемометрических методов для анализа полученных результатов используют кластерный и дискриминантный анализ, а в случае предсказания новых значений – математические методы, в том числе множественной линейной регрессии, регрессии основной компоненты, частичных наименьших квадратов.

В кластерном анализе исходное множество наблюдений распределяется на группы по принципу максимальной схожести. Принадлежность исследуемого

объекта к конкретному кластеру основывается на величине порогового значения до среднего спектра группы.

При дискриминантном анализе изучается распределение исследуемого объекта в группы по принципу различия, при этом количество групп и принадлежность объектов к конкретной группе указываются заранее. Группа визуализируется в виде эллипсоида, рассчитывается центроид (геометрический центр) и стандартное отклонение группы –  $\sigma$ . Различие определяется с помощью расстояния Махаланобиса. При превышении  $3\sigma$  (соответствует пределу обнаружения) от исследуемого объекта до центроида группы с вероятностью 95% различие считается достоверным.

При дискриминантном анализе в процессе калибровки для каждой сравниваемой группы/класса программное обеспечение «TQ Analyst™» вычисляет усредненный спектр, а затем усредненный спектр группы вычитается из каждого отдельного спектра. При этом путем оценки отклонений на каждой частоте диапазона создается модель распределения – спектр дисперсии. При анализе следующей группы программное обеспечение осуществляет анализ основной компоненты на каждом отдельном спектре и спектре дисперсии, что позволяет оценить величину ее вклада. Графически величины вклада представляют в виде спектральных расстояний в единицах Mahalanobis'a. Эти расстояния используют для ранжирования исследуемых классов: чем ближе значение расстояния к нулю, тем выше спектральное соответствие.

При необходимости для компенсации влияний, вызванных непостоянной толщиной слоя, изменениями плотности образцов и размеров частиц, может быть использована функция мультипликативной коррекции рассеяния (Multiplicative Signal Correction pathlength, MSC), а в случае анализа образцов с разным сроком годности – может быть взята первая производная спектров [4,6,27-31,64,65,175,212].

По сравнению с другими фармакопейными методами БИК-спектрометрия является более простым и быстрым методом анализа. В то время как снятие одного БИК-спектра занимает меньше минуты, то фотометрические или

хроматографические методы дополнительно требуют стадию пробоподготовки, что вместе со временем одного анализа образца занимает не менее 15-20 минут. Также отсутствует необходимость длительной специальной подготовки квалифицированного персонала. Однако в данном методе для обеспечения точности измерений значительные временные ресурсы уходят на разработку калибровочной модели, включающей обработку большого количества образцов. Таким образом, достигается высокая специфичность, позволяющая выявлять минимальные различия образцов лекарственных препаратов, а также фармацевтических субстанций, произведенных на разных предприятиях. Появляется возможность идентифицировать производителя с целью выявления фальсифицированной или недоброкачественной продукции [65].

БИК-спектрометрия постепенно находит широкое применение в фармацевтическом анализе как экспресс-метод при контроле подлинности ЛС, идентификации и определении источника поступления лекарственной субстанции, лекарственной формы на отечественный фармацевтический рынок [28,64,65].

Продемонстрирован успешный опыт применения метода с помощью дискриминантного анализа для подтверждения подлинности субстанций омепрозола [1] и сульфалена [12], ампициллина, цефазолина, цефотаксима, цефтриаксона, метамизола натрия и таурина [145], а также готовой лекарственной формы таблеток сульфалена [12], цефотаксима, эналаприла [145].

С помощью данного метода возможна оценка отдельных показателей качества лекарственных средств: однородность дозирования (показано для препарата Супрастин и Баралгин М), определение содержания воды (показано для препарата Аугментин) [145].

Оценка содержания действующего вещества в лекарственном средстве указанным методом находит применение при контроле производственных процессов, в частности на стадии фасовки и упаковки с целью предотвращения перепутывания одноименной продукции разной дозировки. Успешное применение данного метода продемонстрировано для препарата Эгилон

(метопролол тартрат, «Эгис», Венгрия), а также для препарата эналаприла [145], карведилола, амлодипина.

БИК-спектрометрия обеспечивает переход от трудоемких off-, at-, online способов мониторинга показателей производственного цикла к экономичному in-line контролю, при котором параметры процесса фиксируются автоматически и непрерывно, помогая отслеживать качество производства в реальном времени [145]. Данная методика уже взята на вооружение рядом производителей оригинальных и воспроизведенных лекарственных препаратов [145].

Помимо контроля производства метод БИК-спектрометрии позволяет осуществлять контроль качества готовой серийной продукции как на этапе выпуска препарата на рынок производителем, так и на любом участке цепочки дистрибьютеров вплоть до аптечного звена. Успешное применение метода с помощью дискриминантного анализа продемонстрировано для лекарственных препаратов 19 торговых наименований [145]. Определение максимальных значений межсерийной воспроизводимости лекарственного препарата позволяет производителю повысить конкурентоспособность выпускаемой продукции в рамках подтверждения соответствия высоким стандартам качества и безопасности лекарственного обеспечения.

### **1.5.5 Потеря массы при высушивании, определение влаги и термических свойств**

Согласно ОФС «Фармацевтические субстанции» испытание «Потеря в массе при высушивании» вводят для контроля содержания летучих веществ (остаточных органических растворителей 3-го класса) и/или воды в субстанции.

Определение воды/летучих соединений в образце субстанции осуществляется методом термогравиметрии путем оценки потери массы образца при высушивании. Согласно Ph. Eur. [177] анализ проводится для 1.000 г субстанции метопролола сукцината при температуре печи 100–105°C, а максимальное значение потери массы составляет 0.5%. Согласно статье USP [238] данный показатель составляет 0.2% при сушке в вакууме при 60°C в течение 4 ч. Нормирование показателя в таких границах объясняется тем, что субстанция не является кристаллогидратом.

В тех случаях, когда при сушке субстанции возможно ее термическое разложение, или субстанция является кристаллогидратом, или способна к испарению или возгонке, а также когда субстанция высокогигроскопична или присутствие воды в субстанции приводит к гидролизу действующего вещества или изменению свойств субстанции, то вместо определения потери в массе при высушивании проводят определение воды и остаточных органических растворителей 3-го класса [145]. Так как метопролол не обладает вышеуказанными свойствами, то использование титрования по Карлу Фишеру не регламентировано для метопролола сукцината в фармакопейных статьях.

Тем не менее, метод Фишера активно используется для определения влаги для ряда других субстанций, а также в рутинной лабораторной практике, так как обладает, высокой чувствительностью и селективностью к воде.

Прямое титрование метопролола сукцината по К. Фишеру возможно, так как отсутствуют следующие ограничения: наличие связанной влаги, очень медленное высвобождение влаги, высвобождение влаги только при высоких температурах, проба слабо растворима в спирте, побочные реакции с реактивами К. Фишера, загрязнение ячейки титрования [140,161].

Изучение возможностей титрования по Карлу Фишеру по сравнению с методом определения потери массы при высушивании является актуальным вопросом контроля качества, решение которого позволит обосновать внедрение данного метода в отечественную нормативную документацию на метопролола сукцинат.

Для субстанции метопролола сукцината содержание влаги колеблется в пределах одного процента. Для определения такого количества влаги с использованием титрования по Карлу Фишеру может быть использован волнометрический (объемометрический) и кулонометрический методы. По сравнению с волнометрическим методом (пределы обнаружения 0.01–100%), кулонометрический метод находит применение при малых объемах влаги (пределы обнаружения 0.0001–1%), но дополнительным преимуществом первого метода является возможность поместить непосредственно в титровальную ячейку не только жидкие пробы, но так же пастообразные и твердые. Конечная точка титрования определяется несколькими способами: визуальный, амперометрический и потенциометрический. Приборное обеспечение этого метода активно развивается. Так, например, используются «интеллектуальные» бюретки разных объемов, которые автоматически распознаются при подключении к титратору, что повышает точность измерения. Возможность распечатки протоколов результатов позволяет соблюдать правила надлежащей лабораторной практики (GLP – Good Laboratory Practice).

Определение температуры плавления регламентировано Государственной фармакопеей XI-XII издания в качестве метода определения подлинности субстанции или лекарственного препарата. Отсутствие современных термических методов контроля в отечественных фармакопейных статьях выражается в регистрации момента плавления и температуры плавления визуально – чаще всего по внешнему виду твердого образца в капилляре. В тоже время в зарубежных фармакопеях, а также в рутинных производственных и технологических процессах, активно используется перспективный метод контроля качества – дифференциальная сканирующая калориметрия, обладающая современной метрологической базой. Основное применение метод находит в определении температуры плавления, несмотря на то, что он позволяет получить полную характеристику теплофизических свойств исследуемого образца: плавление, полиморфные превращения, испарение, сублимация, десольватация, термодеструкция. Благодаря этому возможно наряду с анализом степени чистоты

осуществить количественный анализ, как лекарственной субстанции, так и препарата [151].

Определение температуры плавления не является фармакопейным методом для метопролола сукцината. В тоже время на субстанцию метопролола fumarata в USP [238] указан следующий интервал температуры плавления: 145–148°C. Таким образом, изучение термических свойств субстанции метопролола сукцината требует тщательного внимания, как и необходимость его включения в отечественную нормативную документацию.

## **1.6 Определение эквивалентности *in vitro* и IVIVC**

Тест «Растворение» в качестве биофармацевтического метода оценки качества лекарственных препаратов в настоящее время широко обсуждается и внедряется. В конце 60-х тест был предложен в USP для первых нескольких препаратов, а в 1985 г. введен в ГФ XI [79].

В настоящее время тест «Растворение» включен во все ведущие фармакопеи мира, в РФ действует ОФС 42-0003-04 [21]. Данное испытание позволяет определить количество активного ингредиента, которое высвобождается в среду растворения из твердой дозированной лекарственной формы в определенный промежуток времени согласно условиям, описанным в нормативной документации [66,67].

Метод определения эквивалентности *in vitro* по тесту сравнительной кинетики растворения активно развивается, в том числе в рамках регистрационных исследований (нормативные документы FDA, 2001, ВОЗ, 2006, МЗ Украины, 2007, ЕМА, 2010 [53]). Процедура упрощенной регистрации препаратов на основании теста «биовер» позволяет подтвердить

взаимозаменяемость воспроизведенного ЛС и препарата сравнения на основании их биофармацевтических свойств и профилей растворения *in vitro*, отражающих физиологический состав сред разных отделов ЖКТ. Так на законодательном уровне регистрация лекарственных средств, успешно прошедших данный вид исследований, возможна, например, в США и Украине (зарегистрированы первые лекарственные препараты) [37,134].

В РФ изучение сравнительной кинетики растворения определяется методическими указаниями (на момент проведения исследования – редакция 2008 г., приложение 4, «Исследования кинетики растворения лекарственных веществ» [69]). Данный документ стал пересмотром редакции 2004 г. (где впервые упоминается о применении данного испытания [71]) и определяет изучение кинетики растворения для оценки эквивалентности ЛС, заявленных для регистрации в нескольких дозировках, а также в дополнение к исследованию БЭ (замена биологического исследования не предусмотрена) в условиях согласно соответствующей фармакопейной статье [69].

В 2010 г. Росздравнадзором были написаны рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* воспроизведенных лекарственных препаратов [66,67].

Для проведения теста применяются два основных технических принципа: проточный способ и методика «перемешивающегося сосуда» [119]. Наибольшее развитие получила вторая методика, обладающая надежностью и стандартизуемостью, при которой образец помещается в фиксированный объем жидкости и перемешивается механическим или гидромеханическим способом – вращающаяся корзинка или лопастная мешалка. Лопастная мешалка характеризуется большой устойчивостью при различных помехах, а также возможностью визуального наблюдения за ходом эксперимента и наиболее удобна для оценки таблетированных лекарственных форм.

Наиболее точная оценка степени эквивалентности *in vitro* достигается путем сравнения идентичности профилей растворения исследуемых препаратов. Отбор проб производят в нескольких, но не менее трех заранее установленных

временных точках с допустимым отклонением  $\pm 2\%$ , расположенных равномерно на кривой растворения. После достижения высвобождения 85% активного соединения следует учитывать только одну временную точку (предложено в 1998 г. Shah et al. [226]). Последняя временная точка должна соответствовать фазе насыщения процесса растворения или соответствовать растворению 90% активного вещества. Для каждого препарата проводят не менее 12 параллельных определений [66,67].

Согласно ОФС и МФ 4 отбор проб производится из зоны сосуда, находящейся на середине расстояния между поверхностью среды растворения и верхней частью съемного элемента лопасти мешалки и на расстоянии не менее 1 см от стенок сосуда.

В основе метода определения эквивалентности *in vitro* лежат положения биофармацевтической классификационной системы (БКС), которая была разработана Amidon и др. [162], затем принята FDA в 1995 г, а также ВОЗ и ЕМЕА (ЕМА). Система выделяет четыре класса (I-IV) согласно растворимости действующего вещества в водных растворах с различным значением pH и кишечной проницаемости [118,176]. Указанная классификация применяется по отношению к быстрорастворимым лекарственным формам [188], в отношении твердых пероральных лекарственных форм вводятся рекомендации по замене исследований биоэквивалентности *in vivo*. Для препаратов пролонгированного действия БКС выглядит иначе: для I-II класса вводится дополнительная характеристика локализации проницаемости (А – не зависит от локализации, В – зависит), отсутствует III класс (высокая растворимость, низкая проницаемость), но выделяется V класс БКС, характеризующийся вариабельностью растворимости и проницаемости (класс включает Va – кислота, Vb – основание) [224].

Метопролол относится к I классу по БКС для быстрорастворимых лекарственных форм: для препаратов метопролола тартрата – оригинального препарата «Беталок» («АстраЗенека», Швеция) и Эгилон («Эгис», Венгрия) – была подтверждена эквивалентность *in vitro* и установлена возможность процедуры «биоверификация» [53].

Метопролол также относится к IА классу (высокая растворимость и проницаемость через биомембраны вне зависимости от локализации) по БКС для пролонгированных лекарственных средств [224,230,169].

Высокая растворимость означает, что максимальная дозировка твердой лекарственной формы растворяется в объеме 250 мл воды. Для этого вычисляется отношение максимальной дозировки к растворимости действующего вещества, определенной в водных растворах в интервале рН 1.2–6.8 при температуре  $37\pm 1^\circ\text{C}$ . Среднее значение не менее чем трех повторов должно быть более или равным 250 мл [66,67].

Высокая проницаемость означает, что проницаемость действующего вещества через стенку тонкого кишечника составляет не менее 85%. Значения получают в исследованиях кишечной проницаемости (на моделях *in situ*, на животных *in vivo*, через монослой культуры эпителиальных клеток *in vitro*), но наиболее достоверные значения получают при определении абсолютной биодоступности *in vivo* на людях [66,67]. Для метопролола высокая кишечная проницаемость была показана в ряде фармакокинетических исследований на здоровых добровольцах [179,185,200,242].

Условия изучения сравнительной кинетики растворения твердой дозированной лекарственной формы метопролола сукцината пролонгированного действия в соответствии с FDA указаны в USP, согласно которой испытания проводят в фосфатном буфере рН 6.8 [67,182,238].

Также результаты исследования J. Dressman показали, что при изучении кинетики растворения применение биорелевантных сред для ЛС, относящихся к I классу БКС, неоправдано – их профили растворения не различались существенно для фармакопейных сред [119].

Обработку результатов определения эквивалентности кинетики растворения проводят согласно модель-независимому методу, предложенному Фланнер и Мур (1996), путем расчета фактора различия или подобия [226].

Фактор различия рассчитывается по уравнению (1):

$$f_1 = \left( \frac{\sum |R_n - T_n|}{\sum R_n} \right) \times 100\% \quad (1)$$

где  $n$  – временная точка;  $R$  – значение высвобождения активного ингредиента из препарата сравнения на момент времени, %;  $T$  – значение высвобождения активного ингредиента из исследуемого препарата на момент времени, %.

Фактор различия находит меньшее применение на практике, так как путем усреднения абсолютных значений определяется средняя ошибка в отличие от фактора подобия, который позволяет определить среднеквадратичную ошибку.

Фактор подобия (сходимости) рассчитывается по уравнению (2):

$$f_2 = 50 * \log \left\{ \left[ 1 + (1/n) \sum_{i=1}^{i=n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} * 100 \right\} \quad (2)$$

где  $n$  – число временных точек;  $R_t$  – среднее значение высвобождения активного ингредиента из препарата сравнения на момент времени  $t$ , %;  $T_t$  – среднее значение высвобождения активного ингредиента из исследуемого препарата на момент времени  $t$ , %.

Для подтверждения эквивалентности профилей растворения фактор подобия должен принадлежать интервалу от 50 до 100, при этом величина стандартного отклонения для среднего значения первой временной точки должна быть не более 20%, для остальных – не более 10% [66,67].

Использование указанного теста сравнительной кинетики растворения с применением модель-независимого фактора подобия в качестве метода определения эквивалентности *in vitro* возможно в случае установления количественной корреляции между растворением *in vitro* и всасыванием *in vivo* – подтверждения *in vitro/in vivo* корреляции (IVIVC).

Руководство FDA дает следующее определение: «IVIVC – это математическая модель, описывающая взаимосвязь между каким-либо параметром *in vitro* твердой дозированной лекарственной формы для внутреннего применения (обычно скоростью или степенью высвобождения) и соответствующим параметром *in vivo* (обычно концентрацией вещества в плазме

крови) [187]». Другими словами устанавливается количественная взаимосвязь между биологическими и физико-химическими свойствами лекарственной формы (чаще всего между  $C_{\max}$  – профиль растворения) [197].

Ключевую роль в вероятности разработки достоверной *in vitro/in vivo* корреляции для лекарственных форм метопролола играют биофармацевтические свойства действующего вещества.

Принадлежность метопролола к I классу по БКС для быстрорастворимых препаратов и к IA классу по БКС для пролонгированных препаратов позволяет определить наличие корреляции уровня A (IVIVC level A) между скоростью высвобождения *in vitro* и скоростью всасывания *in vivo*. Для быстрорастворимых форм метопролола установление такой зависимости возможно благодаря тому, что скорость опорожнения желудка превышает скорость растворения в испытаниях *in vitro*, для метопролола пролонгированной лекарственной формы лимитирующей стадией является скорость его растворения [224].

Всего существуют три метода установления IVIVC: деконволюция (уровень A), статистические моменты (уровень B) и корреляция, основанная на одной точке (уровень C) [118].

В случае деконволюции корреляция выявляется между парами данных процента (фракции) растворенного вещества *in vitro* и процента (фракции) абсорбированного вещества *in vivo* в определенные временные интервалы, т.е. сравнение кривых растворения и абсорбции.

Для определения процента абсорбированного вещества *in vivo* применяется несколько подходов: модель-зависимые методы Вагнера-Нельсона (Wagner-Nelson; однокомпарментная модель), Лу-Ригельмана (Loo-Riegelman; многокомпарментная модель), модель-независимый метод числовой деконволюции [118,176,230]. Метод Wagner-Nelson менее сложный и не требует значений концентраций при внутривенном введении, однако следует учитывать возможную ошибочную интерпретацию терминальной фазы кривой концентрация-время в случае флип-флоп феномена, при котором скорость абсорбции ниже скорости элиминации [224].

Согласно уравнению Wagner-Nelson фракция абсорбированного вещества в каждый временной промежуток  $t$  определяется по формуле (3) [214]:

$$\text{Drug absorbed (\%)} = \left[ \frac{\left[ \frac{C_t}{K_e} \right] + AUC_{(0-t)}}{AUC_{(0-\infty)}} \right] \times 100, \quad (3)$$

где  $C_t$  – концентрация вещества на момент времени  $t$ ;  $K_e$  – константа элиминации; AUC – площадь под кривой «концентрация – время».

Для изучения корреляции доля растворенного вещества, полученная в тесте сравнительной кинетики растворения, соотносится с долей абсорбированного вещества. При этом соответствие пар данных от точки к точке [166] позволяет говорить о корреляции уровня А.

Для окончательного подтверждения возможности использования корреляции важно провести оценку прогнозирования IVIVC – оценка прогноза корреляции проводится на основании внутренней или внешней предсказуемости. При этом если критерии внутренней предсказуемости не выдерживаются, то требуется оценка внешней предсказуемости. Достоверность прогнозирования корреляционной зависимости оценивается с помощью уравнения средней абсолютной ошибки прогнозирования. Критерием достоверности является подтверждение средней абсолютной внутренней ошибки прогнозирования менее 10% для  $C_{\max}$  и  $AUC_{\infty}$  и менее 15% для индивидуальных скоростей растворения [118].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Объекты исследования

Объекты исследования для химико-фармацевтического и биофармацевтического анализа:

- воспроизведенное ЛС, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой Метозок<sup>®</sup> 25, 50, 100, 200 мг (ОАО «Акрихин», Россия);
- оригинальное ЛС, таблетки метопролола сукцината с замедленным высвобождением, покрытые оболочкой Беталок<sup>®</sup> ЗОК 100 мг («AstraZeneca», Швеция).

Объекты исследования для фармакокинетического исследования:

- Испытуемый препарат – воспроизведенное ЛС, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой Метозок<sup>®</sup> 100 мг (ОАО «Акрихин», Россия);
- Референтный препарат – оригинальное ЛС, таблетки метопролола сукцината с замедленным высвобождением, покрытые оболочкой Беталок<sup>®</sup> ЗОК 100 мг («AstraZeneca», Швеция).

В таблетках Метозок вспомогательными веществами являются ингредиенты ядра таблеток, готовая смесь «Опадрай II» оранжевого цвета (НД 42-14219-06), которая присутствует в дозировках 25 и 100 мг, готовая смесь «Опадрай II» зеленого цвета (НД 42-14044-06) – в дозировках 50 и 200 мг (таблица 2.1)

Таблица 2.1 – Состав вспомогательных веществ в таблетках Метозок

Ядро таблеток Метозок	смесь «Опадрай II» оранжевого цвета	смесь «Опадрай II» зеленого цвета
гипромеллоза (USP, тип 2910, тип 2208)	поливиниловый спирт	поливиниловый спирт
кремния диоксид коллоидный (BP или USP)	тальк	тальк
магния стеарат (USP)	полиэтиленгликоль 3500	полиэтиленгликоль 3500
лудипресс ЛЦЕ (НД 42-14044-06), который состоит из лактозы моногидрата и повидона	титана диоксид	титана диоксид
–	краситель хинолиновый желтый (алюминиевый лак)	краситель железа оксид красный
–	краситель железа оксид черный	краситель железа оксид желтый
–	краситель индигокармин (алюминиевый лак)	краситель железа оксид черный

Вспомогательными веществами таблеток Беталок ЗОК являются: этилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, парафин, макрогол, полиэтиленгликоль, диоксид кремния, натрия стеарилфумарат, титана диоксид (Е 171).

Исследованы две серии субстанции метопролола сукцината («Польфарма», Польша), которая используется для производства таблеток Метозок 25, 50, 100, 200 мг («Акрихин», Россия).

Исследованы стандартный образец субстанции метопролола сукцината (стандартный образец «Польфарма», сертификат подлинности согласно

Европейской фармакопеи), стандартный образец субстанции метопролола тартрата (качество стандартного образца подтверждено испытаниями Европейской фармакопеи, содержание метопролола 100.6%).

## 2.2 Инфракрасная спектроскопия

В рамках метода ИК-спектрофотометрии использовали запрессовывание исследуемого образца в таблетки с калия бромидом. Готовили две навески. Навеска №1: 2-4 мг исследуемого вещества (субстанция метопролола сукцината, «Польфарма»). Навеска №2: 130 мг оптически чистого и предварительно осушенного в течение 4-5 часов порошка калия бромида. Обе навески соединяли и тщательно перетирали около 5 мин в агатовой ступке. От общей смеси отвешивали около 100 мг порошка, помещали в пресс-форму и прессовали под давлением около  $150 \text{ кг/см}^2$  в течение около 10 минут. Критерием правильности приготовления служит прозрачность образца на просвет. Исследование проводили в интервале частот  $4000\text{--}400 \text{ см}^{-1}$ , оптическое разрешение составляло  $4 \text{ см}^{-1}$ , количество сканирований – 32. Формой регистрации спектра являлась абсорбция. Полученные спектры метопролола сукцината сопоставляли со стандартом, а также было проведено соотнесение функциональных групп (рисунок 1.1) полученным полосам поглощения.

### 2.3 УФ-спектрофотометрия

Были исследованы субстанция метопролола сукцината («Польфарма», Польша), таблетки метопролола сукцината Метозок 200 мг, таблетки Беталок ЗОК 100 мг. В качестве растворителя был выбран фосфатный буфер с pH 6.8.

Спектры поглощения снимали с помощью спектрофотометра (спектрофотометр «Cary 100», «Varian», США) в диапазоне волн 190–350 нм, интервал сканирования – 1 нм. Программное обеспечение «Spectr-1.0 for Windows 95(98)» представляло спектр поглощения графически и вычисляло минимумы и максимумы поглощения спектра. Для получения спектра субстанции был выбран раствор с концентрацией метопролола сукцината 12 мкг/мл, таблетки Метозок и Беталок ЗОК анализировали через 90 мин после растворения в фосфатном буфере.

Для количественного определения высвободившегося метопролола сукцината в тесте «Растворение» изучили особенности поглощения в УФ-диапазоне при длине волны 222 нм: для стандартного образца метопролола сукцината (стандартный образец предприятия, «Польфарма», Польша) в диапазоне концентраций 1,7–30,0 мкг/мл определили градуировочную зависимость.

### 2.4 Высокоэффективная жидкостная хроматография

Объектом исследования по количественному определению метопролола стали 6 серий таблеток отечественного метопролола сукцината Метозок в дозировке 200 мг.

В качестве стандарта были использованы субстанция метопролола сукцината (стандартный образец «Польфарма», сертификат подлинности согласно Европейской фармакопеи), субстанция метопролола тартрата (качество стандартного образца подтверждено испытаниями Европейской фармакопеи, содержание метопролола 100.6%), а также оригинальные таблетки метопролола сукцината Беталок ЗОК серии LB 5388 в дозировке 100 мг (качество подтверждено сертификатом качества производителя согласно ФСП и Европейской фармакопеи).

Работа была выполнена на жидкостном хроматографе «Varian» с детектором ProStar 325, насосом ProStar Dynamax, автосемплером ProStar 400. Используются стальные колонки Discovery размером 150 \* 4,6 мм, заполненные сорбентом C<sub>8</sub> с размером частиц 5 мкм.

Анализ был проведен согласно НД 42-10175-06. В качестве подвижной фазы был использован фосфатный буфер pH 3.0 : ацетонитрил (78:22). Для его приготовления смешивали 220 мл ацетонитрила и 780 мл фосфатного буфера pH 3.0. Фосфатный буфер готовили путем смешивания 14.0 мл 1М фосфорной кислоты (65 мл 85% фосфорной кислоты разбавляли до 1 л водой очищенной) и 100.0 мл 1М раствора дигидрофосфата натрия моногидрата (138 г дигидрофосфата натрия моногидрата разбавляли до 1 л водой очищенной) в мерной колбе вместимостью 200 мл и доводили до метки водой очищенной. Подвижный раствор термостатировали при комнатной температуре и дегазировали, пропуская через раствор гелия.

Таблетки Метозок тщательно растирали, помещали в мерную колбу на 50 мл и после последовательного добавления воды очищенной 3.0 мл и 15.0 мл 95% (о/о) этанола механически встряхивали в несколько этапов от 30 мин до 1.5 ч, а после добавления 15.0 мл 0,1 М хлористоводородной кислоты (готовили путем разведения 8.5 мл 37% хлористоводородной кислоты в 500 мл воды и доводили до 1 л) механически встряхивали еще 30 мин.

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.

Программное обеспечение прибора позволяет строить график, где по оси абсцисс – время удерживания пробы, по оси ординат – mAU (1/1000 of an absorbance unit, оптическая плотность или абсорбция). Результат анализа представляли в виде времени удерживания в мин, а значения площадей пиков метопролола в условных единицах.

Для получения хроматограмм стандартных образцов использовали 103.6 мг субстанции метопролола сукцината и 107.2 мг субстанции метопролола тартрата. Таблетки метопролола сукцината Беталок ЗОК (в качестве стандарта) проходили пробоподготовку и последующий анализ точно таким же образом, что и анализируемые образцы.

## **2.5 Ближняя инфракрасная спектроскопия**

Были исследованы две серии субстанции метопролола сукцината («Польфарма», Польша), девять серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг («АстраЗенека», Швеция) и 10 серий таблеток Метозок 25, 50, 100, 200 мг («Акрихин», Россия). Субстанция метопролола сукцината вместе с сертификатом анализа получена от производителя. Таблетки Беталок ЗОК согласно сертификату качества соответствовали стандартам USP. Качество таблеток Метозок подтверждено производителем в соответствии с фармакопейной статьей предприятия.

Исследования субстанции и таблеток проводили на БИК-спектрометре «ANTARIS II» (Thermo Scientific, США) [240]. Спектры диффузного отражения получены с использованием интегрирующей сферы; разрешение –  $4 \text{ см}^{-1}$ , количество сканирований 16, область измерения от  $4000$  до  $10000 \text{ см}^{-1}$ .

Субстанцию после измельчения в агатовой ступке наносили однородным слоем толщиной 4-6 мм на плоское основание кюветы ( $h=16 \text{ мм}$ ,  $d=11 \text{ мм}$ ) с плотно прилегающей крышкой. Кювету помещали на интегрирующую сферу и снимали спектры не менее трех раз, перемешивая образец перед каждым измерением. Таблетку препарата помещали на окно интегрирующей сферы, фиксировали ее и снимали спектры диффузного отражения с обеих сторон образца. С целью получения более достоверного результата для каждой серии получали по девять БИК-спектров. Оптимальные условия записи спектров подбирали с учетом соотношения сигнал-шум и минимального времени записи одного спектра. На одно измерение требовалось в среднем около 20 с. Периодически проводилось автоматическое измерение фонового спектра воздуха.

Обработку результатов осуществляли хемометрическими методами с помощью программы «TQ Analyst<sup>TM</sup>». Оценку спектральных различий между препаратами разных производителей, сериями метопролола сукцината одного производителя, а также между таблетками с разным содержанием действующего вещества проводили методом дискриминантного анализа по 10 главным компонентам. В процессе калибровки для каждой сравниваемой группы/класса программное обеспечение «TQ Analyst<sup>TM</sup>» позволяло вычислить усредненный спектр, который вычитался из отдельных спектров. По величине отклонений на каждой частоте диапазона создавался спектр дисперсии. Графически величины значения дисперсии в виде спектральных расстояний в единицах Mahalanobis'a использовали для ранжирования исследуемых классов. При этом, чем ближе значение расстояния к нулю, тем выше спектральное соответствие.

Были изучены девять серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг (LA 5376, LB 5388, LE 5411, LF 5421, LH 5443, LI 5450, MC 5497, ME 5524, MH 5542; «АстраЗенека», Швеция) и шесть серий таблеток Метозок 200 мг (10508, 20508,

30508, 40508, 50508, 60508; «Акрихин», Россия). Таблетки Беталок ЗОК согласно сертификату качества соответствовали стандартам USP. Качество таблеток Метозок подтверждено производителем в соответствии с фармакопейной статьей предприятия.

Таблетку препарата помещали на окно интегрирующей сферы, фиксировали ее и снимали спектры диффузного отражения с обеих сторон образца. С целью получения более достоверного результата для каждой серии получали по девять БИК-спектров. Оптимальные условия записи спектров подбирали с учетом соотношения сигнал-шум и минимального времени записи одного спектра. На одно измерение требовалось в среднем около 20 с. Периодически проводилось автоматическое измерение фонового спектра воздуха.

Для компенсации влияний, вызванных непостоянной толщиной слоя, изменениями плотности образцов и размеров частиц, была использована заложенная в программе математическая функция мультипликативной коррекции рассеяния (MSC). Кроме того, благодаря данной функции компенсируются влияния возрастных изменений.

Для выявления значимых различий между сериями калибровочную модель строили с помощью дифференциальной спектроскопии по данным первых производных БИК-спектров.

## **2.6 Определение влаги и термических свойств**

Для количественного определения воды и других летучих веществ в субстанции метопролола сукцината использовали фармакопейный метод изотермической сушки при различных температурах в термошкафу в воздушной

среде до постоянной массы, когда разность результатов двух последних взвешиваний была в пределах 0,0005 г. Согласно европейской фармакопее была выбрана температура 105°C.

Для определения содержания воды по методу Карла Фишера (волюмометрический метод) использовали автоматический титратор «870 KF Titrino plus» («Metrohm», Швейцария), обладающий функцией отображения на дисплее прибора кривой титрования в режиме реального времени и подключением «интеллектуальной» (встроенный чип данных) сменной бюретки. Дискретность дозирования – 10000 шагов на объем бюретки. Конечная точка титрования определялась потенциометрически. Для проведения протокола квалификации титратора, а также для взвешивания образцов субстанции использовали лабораторно-аналитические весы «Acculab Atilon ATL-220d4-1» («Sartorius Group», Германия) со встроенной гирей для калибровки.

Определение термических свойств (температуры плавления) субстанции метопролола сукцината осуществляли с помощью дифференциально-сканирующего калориметра «ДСМ-10» (Россия) в режиме постоянного нагрева со скоростью 8 град/мин в статической атмосфере воздуха и в токе азота.

## **2.7 Фармакокинетическое исследование**

Исследование биоэквивалентности было проведено на базе отдела внедрения новых лекарственных средств НИИ Молекулярной медицины ФГБОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова».

### **Описание популяции**

Исследование биоэквивалентности было проведено на добровольцах мужского пола, отвечающих определенным критериям включения-невключения

согласно методическим указаниям по проведению исследований биоэквивалентности. Среди основных критериев включения – верифицированный диагноз «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования, а также подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

### **Дизайн исследования**

Дизайн исследования представлял открытое, рандомизированное, двойное перекрестное исследование, основанное на однократном приеме дозы препарата здоровыми добровольцами (рисунок 1).

Для обеспечения мощности статистического критерия на уровне не меньше 80% для выявления 20% различий между показателями сравнения при лог-нормальном распределении при границах доверительного интервала 0,80 – 1,25 и 5% уровне значимости требуется включение в исследование достаточного количества испытуемых.

Так как согласно литературным данным и сходным медико-биологическим исследованиям соотношение генеральных средних показателей ( $AUC$ ,  $C_{max}$ ) сравнения теста к референсному препарату находится в области от 1,00 до 1,05, а коэффициент вариации фармакокинетических показателей находится в промежутке от 12,5 до 20,0, то необходимое минимальное количество добровольцев, успешно завершивших исследование, составляет 18 человек.

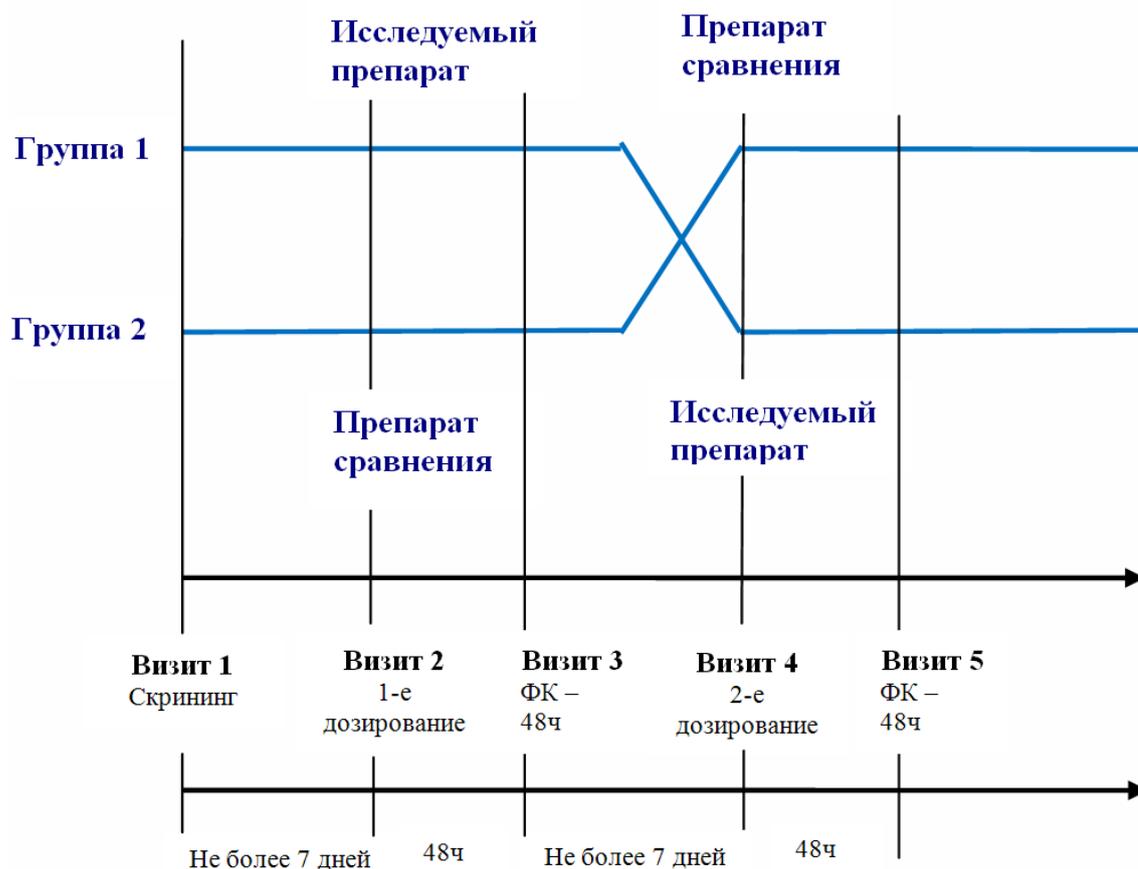


Рисунок 1 – Дизайн исследования биоэквивалентности

Протокол исследования соответствовал международным стандартам ICH GCP (International Conference on Harmonisation), отечественным требованиям ГОСТ Р52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», МУ МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся исследованиями с участием людей». Протокол и информационный листок добровольца получили одобрение Министерства здравоохранения и социального развития и Межвузовского комитета по этике г. Москвы.

На визите скрининга участнику предоставлялось достаточное количество времени для ознакомления с информацией о предстоящем исследовании согласно информационному листку добровольца. С врачом-исследователем подробно рассматривались и обсуждались все аспекты и процедуры данного исследования, а также были получены исчерпывающие ответы на все заданные вопросы. Форма

информированного согласия подписывалась в двух экземплярах, один из которых выдавался на руки добровольцу.

Затем проводился медицинский осмотр добровольца для верификации диагноза здоров. Осмотр включал сбор анамнеза, физикальное обследование, измерение артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений, снятие электрокардиограммы. Для женщин был предусмотрен тест на беременность (мочевой экспресс-тест для определения хорионического гонадотропина человека).

Натощак проводился спектр стандартных лабораторных анализов. Проведение биохимического анализа крови включало следующий набор показателей: общий белок, креатинин, мочевины, билирубин, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, гамма-глутамилтрансфераза, щелочная фосфатаза, глюкоза, электролиты (калий, натрий, хлор). Результаты данного анализа были действительны в течение 7 дней.

Проведение клинического анализа крови, мочи включало стандартный набор параметров, а результаты были действительны в течение 3-х дней. Проводился анализ на наличие ВИЧ, резус-фактора, вирусного гепатита.

На этап скрининга отводилась одна неделя. После сбора всей необходимой информации и получения лабораторных результатов в отведенные сроки проводилась окончательная проверка выполнения критериев включения/невключения.

Затем добровольцы госпитализировались накануне дозирования для осуществления контроля пищевого и водного режима. В день дозирования согласно стандартному плану рандомизации добровольцы случайным образом распределялись в одну из групп назначения R/T или T/R, где T – таблетки пролонгированного действия, покрытые оболочкой, Метозок 100 мг (серия 10508, ОАО «Акрихин», Россия), а R – покрытые оболочкой с замедленным высвобождением Беталок ЗОК 100 мг (серия LA5376, «АстраЗенека», Швеция). И исследователи, и добровольцы знали о назначаемой терапии.

Доброволец утром натощак принимал 1 таблетку препарата, запивая 200 мл кипяченой воды комнатной температуры (прием другой жидкости не допускался). Группа А получала одну таблетку (100 мг) препарата Беталок ЗОК, а группа Б – одну таблетку (100 мг) препарата Метозок. Через 7 дней группа А получала одну таблетку 100 мг препарата Метозок, а группа Б – одну таблетку 100 мг препарата Беталок ЗОК. Период отмывки согласно нормативным требованиям должен составлять не менее шести периодов полувыведения. Период полувыведения метопролола сукцината составляет в среднем около 3,5 ч – таким образом, длительность периода отмывки была обусловлена в большей степени удобством технического проведения исследования.

Первый прием пищи (стандартный завтрак) допускался через 4 часа после дозирования.

В течение 2-х суток после приема препарата доброволец находился под наблюдением и регулярно осматривался врачом-исследователем: через 1, 3, 6, 8, 10, 14, 24 ч после дозирования. Данные физикального осмотра, результатов ЭКГ и нежелательные явления заносили в карту участника научного исследования.

Для проведения медико-биологического исследования было использовано следующее медицинское и лабораторное оборудование, которое прошло регулярную поверку по стандартным методикам Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии ФГУ «Ростест-Москва»:

- для измерения артериального давления и пульса – механический тонометр «Microlife BP-AG1-30» (Швейцария);
- 6-канальный электрокардиограф «Shiller AT-2Plus» (Швейцария), регистрирующий параметры одновременно в 12-ти отведениях;
- Весы медицинские «РП-150МГ» (Россия);
- ростомер «РМ-1», «Диаконс» (Россия);
- центрифуга «Eppendorf 5702R» (Германия).

Лабораторией, выполнявшей спектр анализов, были предоставлены необходимые документы, подтверждающие регулярную поверку оборудования, которое использовалось для выполнения тестов в рамках данного исследования.

Пробы крови отбирали до и через 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 и 48 часов после приема препарата в объеме 5.0 мл из локтевой вены методом венепункции или из установленного в локтевой вене кубитального катетера. Для отбора использовали стерильные вакуумные одноразовые пластиковые пробирки типа Vacuette для исследования сыворотки (активатор свертывания оксид кремния).

Из крови получали сыворотку обычным способом: инкубация в вертикальном положении при комнатной температуре 30–45 минут, центрифугирование при 5600 об/мин или, в пересчете на диаметр ротора центрифуги, 2000g, в течение 10 минут.

Полученные образцы переносили в пластиковые пробирки и сразу же замораживали ее при минус 20°C (холодильник «Саратов», Россия). Затем все образцы сыворотки переносили в морозильную камеру на минус 70°C (низкотемпературный морозильник «SANYO MDF-293», Япония). Анализ сыворотки на содержание в ней метопролола проводили не позже, чем через 2 недели от взятия первых образцов.

Концентрацию метопролола в сыворотке крови испытуемых определяли с помощью обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием. Аналитический метод валидирован в соответствии с отечественными и зарубежными руководствами по показателям, линейности, точности, прецизионности, чувствительности, 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 гидроксида натрия. После экстрагирования при энергичном встряхивании в течение 5 мин проводили реэкстракцию с 10% серной кислотой, и аликвоту (100 мкл) наносили на колонку хроматографа.

Анализ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Shimadzu» (Япония) с флуориметрическим детектором при  $\lambda_{\text{ex}}$  277 нм и  $\lambda_{\text{em}}$  305 нм. Использовали хроматографическую колонку  $\mu$ -Bondapak Phenyl 10 мкм; 3,9 \* 300 мм («Waters», Милфорд, США). Элюирование проводили мобильной фазой

состава: ацетонитрил-вода-триэтиламин 18:81:1 (по объему). Мобильную фазу перед использованием дегазировали под вакуумом. Скорость элюирования составляла 1 мл/мин. Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки по площади пиков.

Для анализа фармакокинетических данных индивидуальные профили изменения концентраций (С) метопролола в крови во времени, зарегистрированные после приема исследуемых препаратов, характеризовали максимальной концентрацией ( $C_{max}$ , наибольшее из измеренных значений) и соответствующим временем ее достижения ( $T_{max}$ ), а также площадью под кривой «концентрация – время», рассчитанной методом трапеций, в пределах от нуля до момента отбора последней пробы крови ( $AUC_{48ч}$ ). Проверляли критерий достаточной длительности наблюдения, при котором  $AUC_{48ч} > AUC_{\infty}$ , что позволяет при оценке полноты всасывания исследуемого ЛС использовать первый показатель.

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

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.

При расчете фармакокинетических параметров таблеток Метозок однородное распределение метопролола в организме позволяет использовать однокамерную фармакокинетическую модель, согласно которой константа скорости элиминации рассчитывается по тангенсу угла наклона линейной части

полулогарифмического 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 скорости элиминации была рассчитана константа клиренса.

Оценку биоэквивалентности проводили по параметрам сравнения, выбранным в соответствии с дизайном исследования, заключавшемся в однократном введении пролонгированных лекарственных форм.

Статистический анализ результатов определения концентраций метопролола в плазме крови и параметров фармакокинетики и биодоступности заключался в расчете среднеарифметических (Mean) или среднегеометрических (GMean) значений, стандартного отклонения (SD), коэффициента вариации (CV), медианы (Median), и их интервальной оценки (L-95%, Up-95%).

Дисперсионный анализ значений  $AUC_{48ч}$ ,  $C_{max}$  и  $C_{max}/AUC_{48ч}$  проводили методом вариационного анализа ANOVA (параметрический метод) после их логарифмического преобразования с помощью программы «Kinetika 2000» («Thermo Electron Corporation», США). Были подсчитаны 90% доверительные интервалы. Все тесты и сравнения оценивали при уровне достоверности 95% ( $p \leq 0,05$ ).

Так как в качестве дизайна исследования выбрана обычная рандомизированная перекрестная схема, то статистическая модель дисперсионного анализа включала стандартный набор факторов, вносящих вклад в наблюдаемую вариацию данных: различия между препаратами, межиндивидуальные различия, последовательность приема препаратов и периоды исследования. С помощью дисперсионного анализа определяли статистическую значимость вклада каждого из указанных параметров в наблюдаемую вариабельность.

### **Критерии безопасности и переносимости исследуемых препаратов**

На протяжении всего исследования проводилась регистрация нежелательных явлений у здоровых добровольцев. За критерий безопасности и переносимости принималось количество нежелательных явлений, в том числе серьезных и неожиданных.

Анализировались следующие показатели в день дозирования и на плановых визитах: артериальное давление, пульс, частота дыхательных движений, температура, параметры ЭКГ. Отслеживались типичные побочные эффекты бета-адреноблокаторов: эпизоды чрезмерного снижения артериального давления, как эффекта первой дозы, брадикардия, атриовентрикулярная блокада.

Дополнительно была проанализирована динамика основных показателей состояния сердечно-сосудистой системы: систолическое и диастолическое артериальное давление, частота сердечных сокращений через 1, 3, 6, 8, 10, 14, 24 ч после дозирования.

### **2.8 Тест Растворение. Тест сравнительной кинетики растворения. IVIVC**

Объекты исследования: испытуемый препарат – воспроизведенное ЛС, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой Метозок<sup>®</sup> 100 мг (серия 11111, ОАО «Акрихин», Россия); референтный препарат – оригинальное ЛС, таблетки метопролола сукцината с замедленным высвобождением, покрытые оболочкой Беталок<sup>®</sup> ЗОК 100 мг (серия ND 5642, «AstraZeneca», Швеция).

Тест «Растворение» проводили на аппарате II «Лопастная мешалка» (Distek «Evolution 6100», США); скорость вращения лопасти – 50 об/мин; среда растворения (500 мл) – фосфатный буфер (рН 6,8); температура – 37°C. Отбор

проб (5 мл) проводили через 1, 4, 8 и 20 ч для теста «Растворение» (согласно USP), а через 1, 4, 6, 8, 20, 24 ч для теста сравнительной кинетики растворения. 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 размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Для измерения pH использовали pH-метр «827 pH lab» («Metrohm», Швейцария).

Количество метопролола сукцината, перешедшее в среду растворения, определяли методом УФ-спектрометрии (спектрофотометр «Cary 100», «Varian», США). Измерения проводили по полосе поглощения с  $\lambda_{\max}=222$  нм. Раствор сравнения – фосфатный буферный раствор с pH 6,8.

Результаты полученные в тесте «Растворение» сравнивали с нормативными показателями, указанными в фармакопейной статье.

Обработку результатов определения эквивалентности кинетики растворения проводили согласно модель-независимому методу, путем расчета фактора подобия согласно уравнению (2).

Для определения *in vitro/in vivo* корреляции использовали метод деконволюции, а процент абсорбированного вещества *in vivo* рассчитывали согласно однокамерной модели по уравнению (3) Вагнера-Нельсона.

На основании полученных результатов определяли линейную зависимость от точки к точке анализируемых параметров.

Достоверность прогнозирования полученной корреляционной зависимости определяли с помощью средней абсолютной внутренней ошибки прогнозирования.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА СУБСТАНЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ТАБЛЕТОК МЕТОПРОЛОЛА СУКЦИНАТА

#### 3.1 Результаты ИК-спектрометрии

Получен ИК-спектр метопролола сукцината в таблетке калия бромида (рисунок 3.1). Проведена идентификация субстанции метопролола сукцината по полученным колебательным спектрам образца, запрессованного в таблетках с калия бромидом.

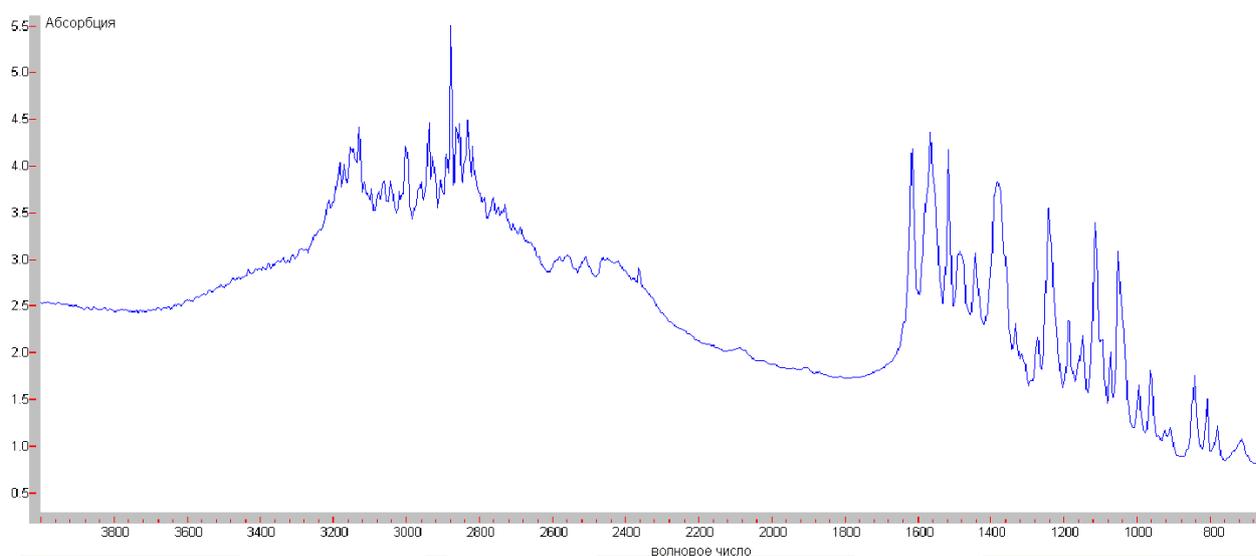


Рисунок 3.1 – ИК-спектр субстанции метопролола сукцината в таблетке калия бромида

При соотнесении полученного спектра со справочным спектром стандарта было подтверждено качество образца по показателю подлинность субстанции.

Ph. Eur. для сравнения ИК-спектра испытуемого образца и стандартного спектра устанавливает норму отклонения волновых чисел 0,5%. Согласно USP в зависимости от прибора абсолютное отклонение может составлять до  $10 \text{ см}^{-1}$ . При интерпретации ИК-спектров важно, чтобы все полосы большой, малой и средней интенсивности имели полное совпадение по положению и относительной интенсивности. Допускается исчезновение или появление полос очень малой интенсивности 1-2% по шкале пропускания, а также их смещение, слияние или расщепление.

Необходимо отметить, что фармакопейный анализ не предусматривает интерпретацию ИК-спектров. Тем не менее, отнесение ряда полос является вполне информативным. При интерпретации полос поглощения использовали справочные ИК-спектры метопролола тартрата и основания метопролола (рисунки 3.2 – 3.4). Результаты сравнения полученных полос поглощения с литературными данными представлены в таблице 3.1.

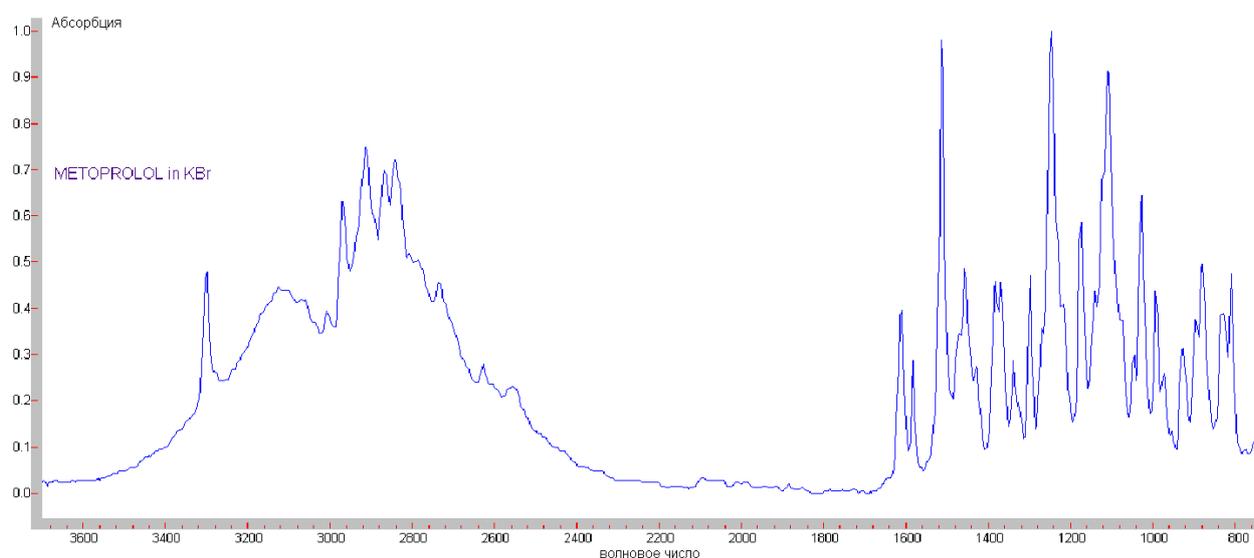


Рисунок 3.2 – ИК-спектр метопролола в таблетке калия бромид (из базы данных программного обеспечения)

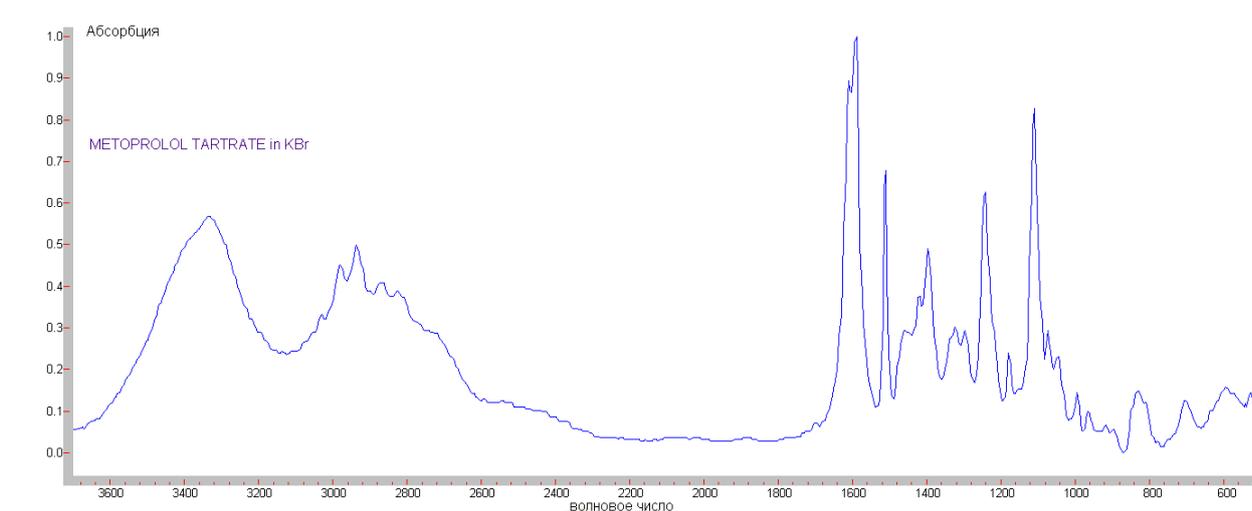


Рисунок 3.3 – ИК-спектр метопролола тартрата в таблетке калия бромиде (из базы данных программного обеспечения)

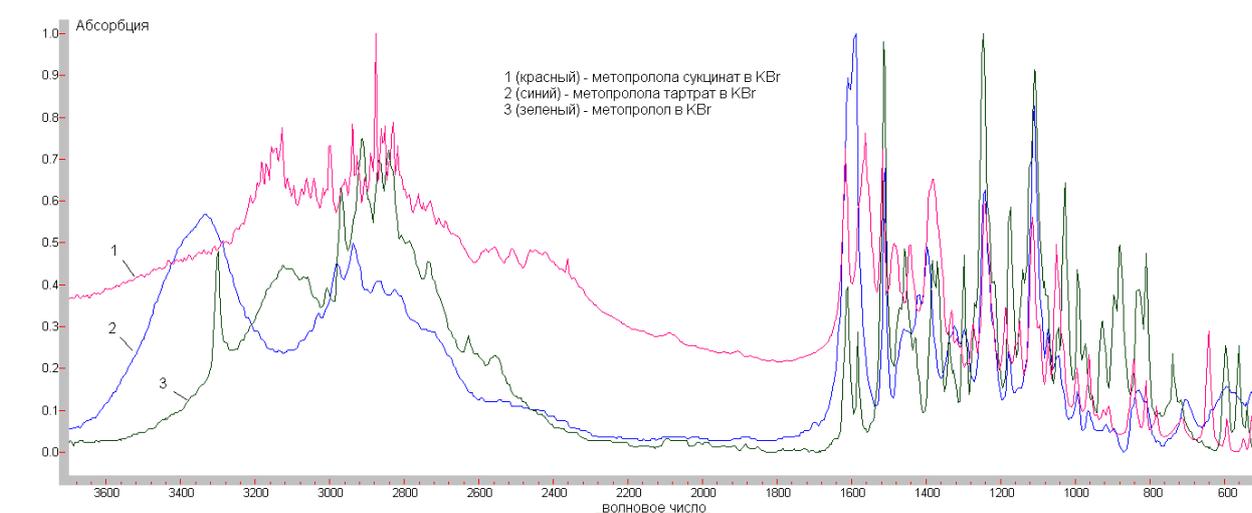


Рисунок 3.4 – ИК-спектр метопролола и его солей в таблетке калия бромиде

Таблица 3.1 – Сравнение спектров по характеристическим частотам метопролола и его солей – сукцината и тартрата (в таблетках калия бромида)

Группа	Полосы поглощения на спектре			
	теоретические для функциональной группы	метопролола	метопролола сукцината	метопролола тартрата
-ОН	3300 (слабая) - Валентные колебания	3300 (сильная, узкая)	-	3240-3040 (сильная, широкая)
NH(вторичный)	3350-3310			
-	-	-	3180 (Двойная, слабая)	
-	-	-	3140 (плечо) 3120 (сильная)	
<b>C(аром)-H (валентные колебания)</b>	<b>Ок. 3030 (сильная)</b>	-	<b>3040</b>	
-	-	-	3060	-
<b>C-H (ароматика)</b>	<b>3000-3100</b>	<b>3000 (слабая)</b>	<b>3000 (сильная, узкая)</b>	<b>3000 (Слабая)</b>
<b>C-H (ароматика)</b>		<b>3040 (сильная)</b>	<b>3040 (слабая)</b>	<b>3040 (очень слабая)</b>
<b>R-CH<sub>3</sub></b>	<b>2960 (сильная)</b>	<b>2960 (сильная)</b>	<b>2940 (сильная) 2960 (слабая)</b>	<b>2970 (средняя)</b>
<b>-CH<sub>2</sub>-</b>	<b>Ок. 2925</b>	<b>2910 (очень сильная)</b>	<b>2910</b>	<b>2940</b>
-	-	-	2900 (слабая)	-
<b>R-CH<sub>3</sub></b>	<b>2870 (средняя)</b>	<b>2870 (средняя)</b>	<b>2870 (сильная) 2880 (плечо)</b>	<b>2870 (средняя)</b>
<b>-CH<sub>2</sub>-</b>	<b>2850</b>	<b>2850 (средняя)</b>	<b>2840</b>	<b>2800 (слабая)</b>
<b>O-CH<sub>3</sub> (валентные колебания)</b>	<b>2820-2810 (сильная)</b>		<b>2820 (средняя)</b>	
-	-	2740 (слабая)	2760-2750 2 полосы 2740 (слабая)	2740 (слабая)
-	-	2630	2620 (Двойная)	нет
<b>Водородная связь в карбоновых кислотах (валентные колебания)</b>	<b>2700-2500 (ширкая)</b>	-	<b>2450 (широкая)</b>	-

Группа	Полосы поглощения на спектре			
	теоретические для функциональной группы	метопролола	метопролола сукцината	метопролола тартрата
Бензольное кольцо	1600 (переменная) 1580 (средняя, сильная для пара-) 1500 (переменная) 1450 (средняя)	1610	1620 (сильная)	1620
		1580	1570 (сильная)	1590
		1500	1520 (сильная)	1500
		-	1450	-
-NH- (деформационные колебания)	1580-1490	1470 (плечо) 1460 (средняя)	1485 (средняя)	1450 (слабая)
C <sub>sp3</sub> -H (деформационные колебания)	1470-1430 (средняя)	1430	1430 (средняя)	1420
Бензольное кольцо	1380 (дубль)	1380 1360	1380	1390
-	-	1330 1320 (плечо)	1330 1310 (плечо)	1320 (двойная)
Csp <sup>3</sup> -Csp <sup>3</sup> в алкил-группе (валентные колебания)	1250-1200 (сильная)	1290 (средняя)	1270 (сильная)	1290 (сильная)
C(алиф)-N (валентные колебания)	1280-1180			
Пара-положение в кольце	1275-1175			
C-O-C в алкил-ариловых эфирах	1250±20			
-OH (плоские деформационные колебания)	1250	1240 (очень сильная)	1240 (сильная)	1240 (сильная)
CH <sub>3</sub> -CH-CH <sub>3</sub>	1170			
CH <sub>3</sub> -CH-CH <sub>3</sub>	1170	1170 (сильная)	1180 (средняя)	1170 (средняя)
	1145 (плечо)	1140 (очень слабая)	1140 (средняя)	1140 (средняя)
C(втор)-OH	1150-1075 (1100) (сильная)	1110 (сильная)	1110 (сильная)	1100 (сильная)
По числу замещенных атомов H в кольце	1070-1000	1030 (сильная)	1050 (сильная)	1040
		1010 (сильная)	1000 (слабая)	1000

Группа	Полосы поглощения на спектре			
	теоретические для функциональной группы	метопролола	метопролола сукцината	метопролола тартрата
-C-C-	Несколько полос $950 \pm 250$ (не используется для идентификации)	<b>960</b>	<b>960</b>	<b>960</b>
		710	710	-
		-	640	-
		580	580	-
		550	540	-
		500	520	-
Пара-положение (плоские деформационные колебания)	840	830	-	-
	800	810	-	-

О наличие в исследуемой молекуле атомов водорода в ароматическом ядре свидетельствует ряд малоинтенсивных полос поглощения связи C-H в области  $3100-3000 \text{ см}^{-1}$ . В случае метопролола сукцината две полосы наблюдаются при  $3000$  и  $3040 \text{ см}^{-1}$ . Присутствие бензольного кольца подтверждается поглощением при  $1600, 1500, 1380 \text{ см}^{-1}$ , а наличие заместителей в пара- положении – сильной полосой поглощения при  $1570 \text{ см}^{-1}$ . Количество полос поглощения в области  $1070-1000 \text{ см}^{-1}$  эквивалентно числу замещенных атомов водорода в бензольном кольце, что в случае метопролола сукцината подтверждается при  $1050$  и  $1000 \text{ см}^{-1}$ .

Присутствие метильной группы R-CH<sub>3</sub> подтверждается сильной полосой поглощения при  $2870 \text{ см}^{-1}$ , что характеризует валентные колебания связи C<sub>sp<sup>3</sup></sub>-H.

Деформационные колебания связи атома углерода в sp<sup>3</sup>-гибридизации с атомом водорода определяются поглощением при  $2820 \text{ см}^{-1}$ .

Присутствие группы -CH<sub>2</sub>- подтверждается полосой поглощения при  $2910 \text{ см}^{-1}$  и  $2850 \text{ см}^{-1}$ .

Изопропильная группа обнаруживается полосой поглощения средней интенсивности при  $1180 \text{ см}^{-1}$ .

Присутствие вторичного спирта подтверждается сильной полосой поглощения на спектре при  $1110 \text{ см}^{-1}$ .

Образование водородной связи в случае карбоновых кислот подтверждается валентными колебаниями, проявляющиеся широкой полосой поглощения при  $1450 \text{ см}^{-1}$ .

На ИК-спектре метопролола сукцината в области 1280-1180  $\text{см}^{-1}$  наблюдаются две сильные полосы поглощения при 1270 и 1240  $\text{см}^{-1}$ , которые при разной интерпретации могут сигнализировать о присутствии валентных колебаний связи алифатического атома углерода с азотом, пара-положении заместителей в бензольном кольце, связи С-О-С в алкилариловых эфирах, валентными колебаниями связи С-С в  $\text{sp}^3$ -гибридном состоянии (диапазон 1250-1200  $\text{см}^{-1}$ ) в алкильной группе или плоских деформационных колебаниях гидроксильной группы.

### 3.2 Результаты УФ-спектрофотометрии

В УФ-области в диапазоне 200-350 нм на спектрах поглощения субстанции метопролола сукцината, таблеток Метозок и Беталок ЗОК с помощью программного обеспечения зафиксировали минимумы и максимумы поглощения (рисунки 3.5 – 3.7). Наиболее характерные максимумы поглощения – 222 и 273 нм. При этом вспомогательные вещества исследуемых таблеток никак не повлияли на изменение поглощения. Аналогичную ситуацию наблюдали для минимума поглощения при длине волны 246 нм, а минимум в области 209-212 нм ничтожно мало отличался среди трех анализируемых образцов.

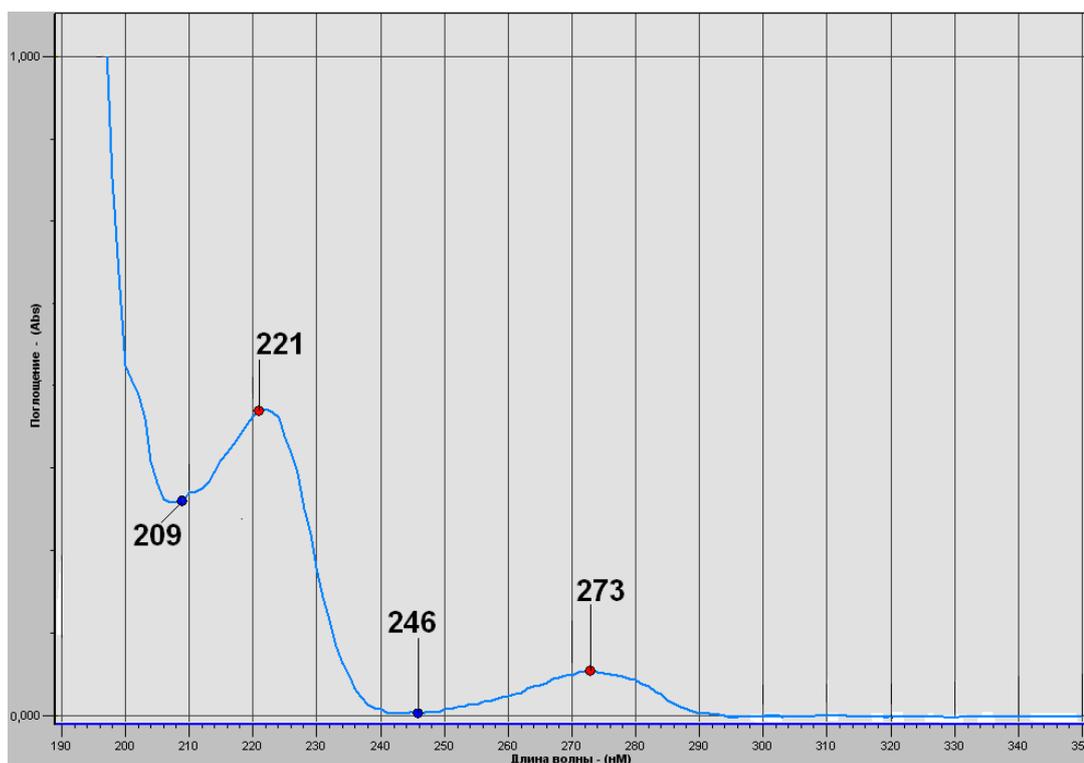


Рисунок 3.5 – УФ-спектр субстанции метопролола сукцината («Польфарма», Польша) в фосфатном буфере (рН 6.8). Концентрация 12 мкг/мл.

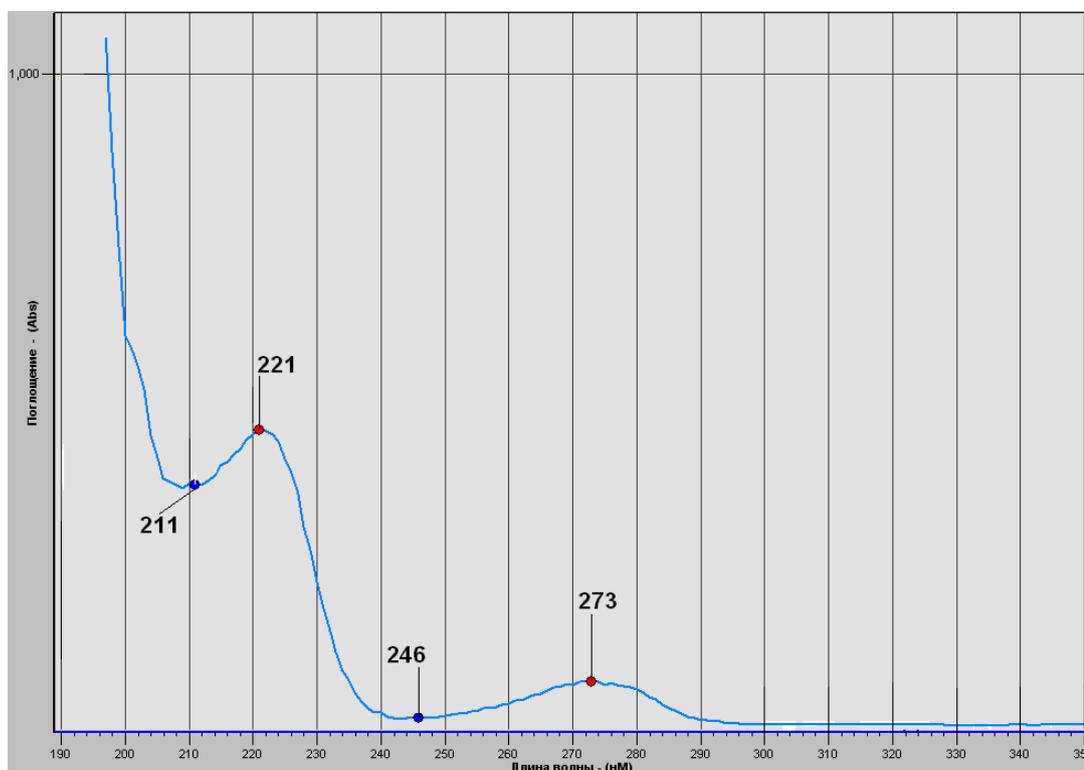


Рисунок 3.6 – УФ-спектр таблеток Метозок в фосфатном буфере (рН 6.8)

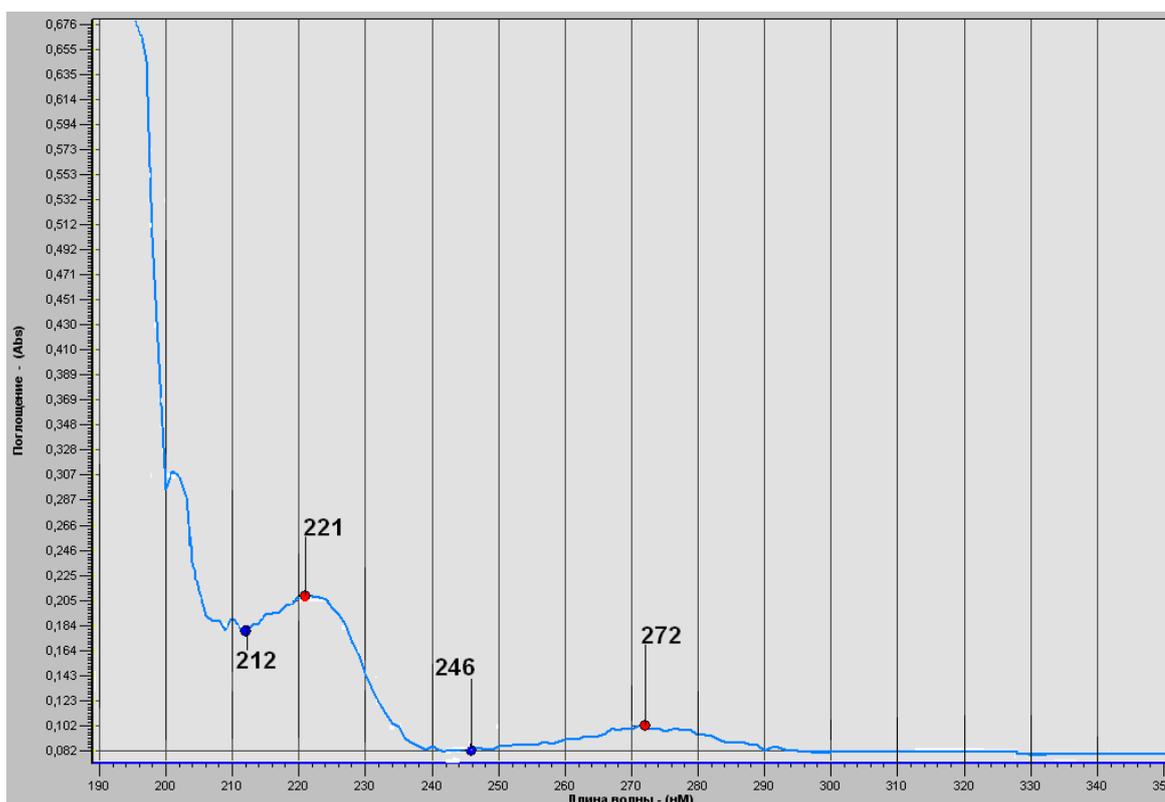


Рисунок 3.7 – УФ-спектр таблеток Беталок ЗОК в фосфатном буфере (рН 6.8)

Результаты определения градуировочной зависимости для метопролола сукцината в УФ-области в фосфатном буфере представлены в разделе 3.6.

### 3.3 Результаты ВЭЖХ-анализа

Высокие требования, предъявляемые к качеству современных лекарственных средств, нашли, в частности, свое отражение в том, что содержание основного вещества чаще всего нормируется на уровне не ниже 98%. Погрешность количественного ВЭЖХ-анализа обычно составляет 2-3%, и поэтому данный метод не позволяет достоверно различить продукты с истинным содержанием основного вещества, например, 97% и 99%. Следовательно, для

количественного определения основного вещества в лекарственных субстанциях метод ВЭЖХ рекомендован быть не может.

Несколько иная ситуация возникает при анализе лекарственных форм. Содержание действующего вещества нормируется в более широких пределах, и точность ВЭЖХ уже позволяет сделать заключение о соответствии образца требованиям НД.

Согласно ГФ отклонения в заявленном содержании лекарственного вещества в таблетированной лекарственной форме регламентируются в диапазоне  $\pm 5\%$  при дозировке действующего вещества более 100 мг. Для ЛС Метозок 200 мг допустимые рамки содержания метопролола сукцината в перерасчете на метопролола тартрат составляют  $200 \pm 10$  мг.

Группа первых трех из шести серий анализируемых таблеток метопролола сукцината Метозок анализировалась с разницей в один день, поэтому в каждом случае двукратно снимался новый спектр для каждого из стандартов и для исследуемых образцов.

Для последующего расчета содержания метопролола рассчитывалось отношение площадей абсорбции исследуемых образцов по отношению к стандарту с учетом содержания в нем метопролола. Для минимизации ошибки для расчета использовалось среднее из двух значений абсорбции, а конечный результат определяли как среднее арифметическое. Результаты определения в шести сериях таблеток Метозок 200 мг приведены в таблице 3.2.

Содержание метопролола сукцината в таблетках Метозок 200 мг (в перерасчете на метопролол тартрат) составило в среднем по шести сериям препарата  $198.56 \pm 3.60$  мг.

Все анализируемые серии таблеток Метозок соответствуют показателю качества «Количественное определение» согласно нормативной документации.

Таблица 3.2 – Содержание метопролола сукцината в таблетках Метозок 200 мг (в перерасчете на метопролол тартрат, среднее значение  $\pm$  среднеквадратичное отклонение)

Номер серии образца	Содержание метопролола сукцината, в перерасчете на метопролол тартрат (в мг)
10508	208.55 $\pm$ 2.56
20508	195.00 $\pm$ 2.39
30508	195.70 $\pm$ 6.36
40508	199.90 $\pm$ 2.31
50508	196.62 $\pm$ 7.51
60508	195.57 $\pm$ 7.67
среднее	198.56 $\pm$ 3.60

### 3.4 Результаты БИК-спектрометрии

На первичных БИК-спектрах таблеток Метозок в различных дозировках (рисунок 3.8) присутствуют полосы разной интенсивности в области смешанных колебаний (от 4000 до 5000  $\text{см}^{-1}$ ), первых (от 4800 до 6250  $\text{см}^{-1}$ ) и вторых (от 6250 до 9000  $\text{см}^{-1}$ ) обертонов, обусловленные преимущественно смешанными колебаниями и обертонами групп -C-C-, -C-H-, -CH<sub>2</sub> и -NH. Полосы поглощения очень широкие, являются результатом наложения полос разной интенсивности друг на друга и не пригодны для подтверждения подлинности. Однако представляет интерес область 7150-7180  $\text{см}^{-1}$ , в которой наблюдали две полосы поглощения, одна из которых отличалась выраженной интенсивностью (рисунок 3.8). По литературным данным [206,220,233] природа этих полос связана с присутствием в оболочке таблетки талька ( $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ) и отражает колебания функциональной группы Si-OH.

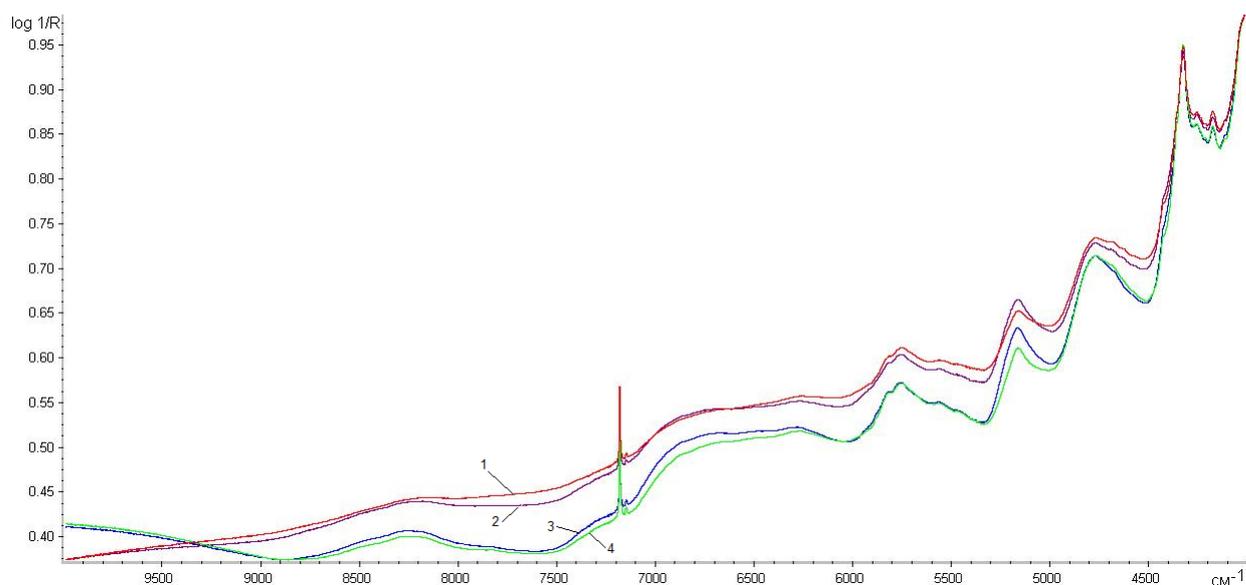


Рисунок 3.8 – БИК-спектры таблеток метопролола сукцината Метозок в дозировках 200 мг (1, красный), 50 мг (2, фиолетовый), 25 мг (3, синий), 100 мг (4, зеленый)

На рисунке 3.9 показано, что при удалении цветной оболочки таблеток Метозок на спектре пропадают характеристические полосы в области  $7150\text{--}7180\text{ см}^{-1}$ , одновременно с этим спектр изменяется и в других областях, что объясняется переменной картины перекрытия полос поглощения.

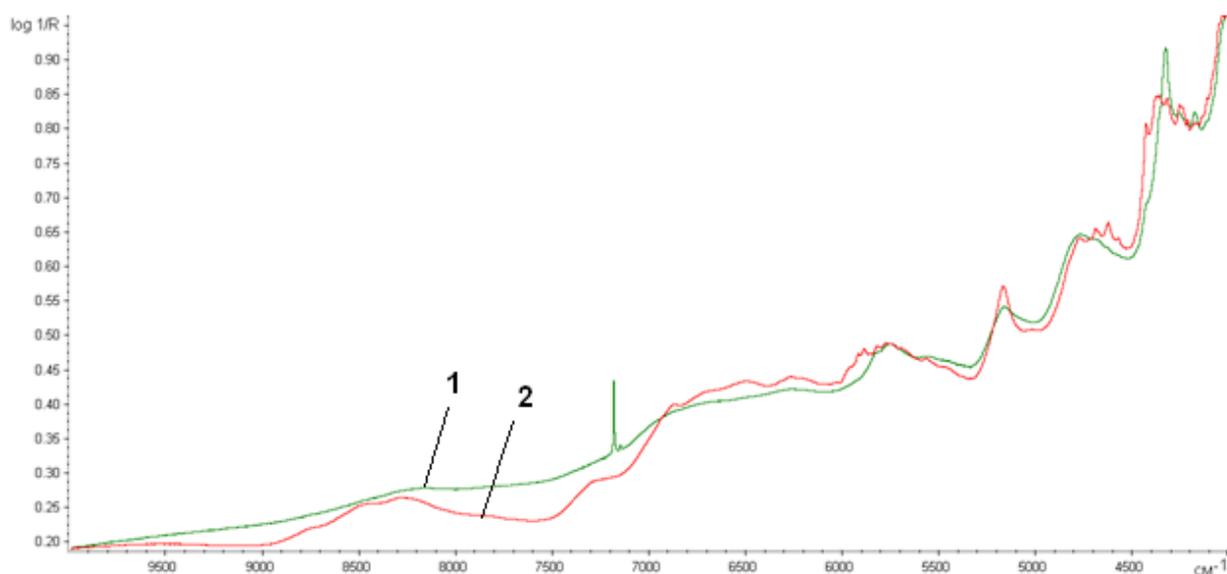


Рисунок 3.9 – БИК-спектры таблеток Метозок 200 мг с оболочкой (1; зеленый цвет) и без цветной оболочки (2; красный цвет)

На рисунке 3.10 для сравнения приведен спектр для таблеток Беталок ЗОК 100 мг, при производстве которых используются следующие вспомогательные вещества: этилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, парафин, макрогол, полиэтиленгликоль, диоксид кремния, натрия стеарилфумарат, титана диоксид (Е 171). В интересующей нас области 7150–7180  $\text{см}^{-1}$  на БИК-спектре таблеток Беталок ЗОК, также как на спектре субстанции метопролола сукцината, отсутствуют характеристические полосы.

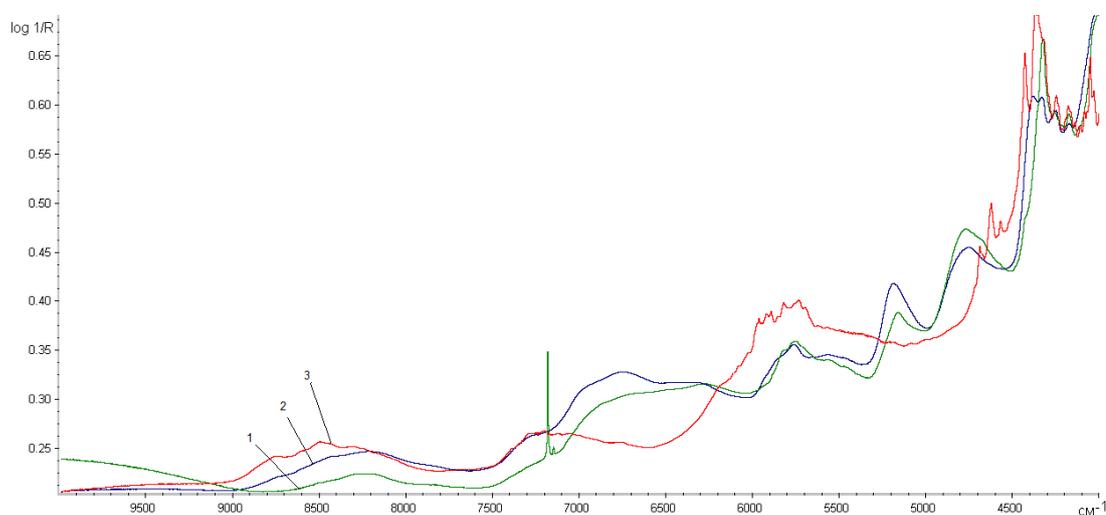


Рисунок 3.10 – БИК-спектры таблеток Метозок 100 мг (1; зеленый), Беталок ЗОК 100 мг (2; синий) и субстанции метопролола сукцината (3; красный)

После удаления оболочки таблеток Метозок, а также на спектрах субстанции метопролола сукцината и таблеток Беталок ЗОК, в которых отсутствует тальк, полосы в рассматриваемой области не обнаружены. Таким образом, проведенные исследования позволили предложить показатель для отличия субстанции метопролола, а также отличия таблеток двух производителей.

Спектры таблеток разделились по дозировкам (рисунок 3.8), причем спектр таблеток 200 мг оказался близок к спектру таблеток 50 мг, а спектр таблеток 100 мг к спектру таблеток 25 мг. Содержание метопролола сукцината в таблетках

составляет 7.6%, 15.1%, 13.0%, 30.0% соответственно для дозировок 25, 50, 100 и 200 мг (23.83, 47.66, 95.32 и 190.64 мг метопролола сукцината при массе таблеток 0.315 г для таблеток 25 и 50 мг, 0.735 г для таблеток 100 и 200 мг).

В данном случае важный вклад в различие спектров было внесено не только разным содержанием действующего вещества метопролола сукцината, но и отличием состава вспомогательных веществ оболочки: готовая смесь «Опадрай II» оранжевого цвета (НД 42-14219-06) присутствует в дозировках 25 и 100 мг, а готовая смесь «Опадрай II» зеленого цвета (НД 42-14044-06) в дозировках 50 и 200 мг (состав смеси указан в таблице 2.1).

В подтверждение предварительной гипотезы приведем также спектры таблеток Листаб 75 мг (клопидогрель) (рисунок 3.11). Для получения ядра таблеток Листаб 75 мг («Сотекс», Россия) используют следующие вспомогательные вещества: маннитол, микрокристаллическая целлюлоза, гипролоза, кроскармеллоза натрия, кремния диоксид, тальк, кислота стеариновая. В оболочке таблеток присутствуют гипромеллоза, макрогол 6000, титана диоксид (E171), тальк, краситель – железа оксид красный (E172), диметикон, вода очищенная (не содержится в готовом препарате).

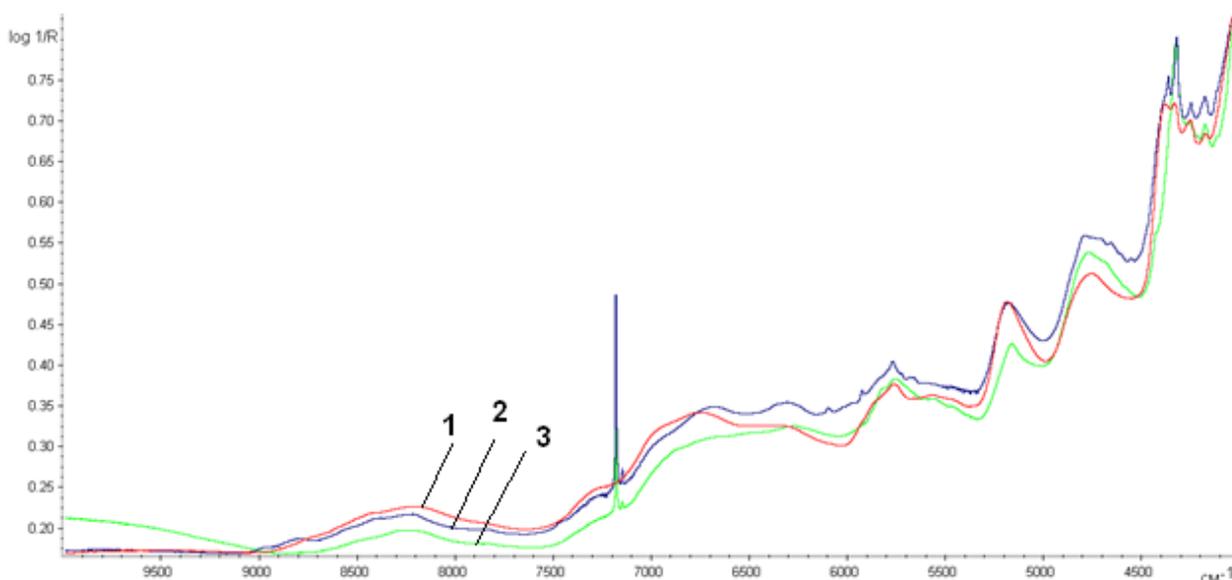


Рисунок 3.11 – БИК-спектры таблеток Беталок ЗОК 100 мг (1; красный цвет), таблеток клопидогреля Листаб 75 мг (2; синий цвет), таблеток Метозок 100 мг (3; зеленый цвет)

В кристаллической структуре вспомогательного вещества, содержащегося в таблетках Метозок, железа оксида черного  $\text{FeO}(\text{OH})$  также как в тальке присутствует  $\text{OH}$ - группа, но связанная с железом. Вероятнее всего, что эта группа дополнительно вносит свой вклад в картину перекрывания полос поглощения в области  $7150\text{--}7180\text{ см}^{-1}$ .

Для оценки содержания действующего вещества метопролола сукцината в готовых лекарственных формах был применен метод дискриминантного анализа. При статистической обработке спектров четыре группы препаратов разной дозировки – 25 мг, 50 мг 100 мг и 200 мг – достоверно заняли различные области в интервале 29 единиц Mahalanobis'a по осям X и Y (рисунок 3.12). Это позволяет использовать полученную базу данных для оценки содержания действующего вещества.

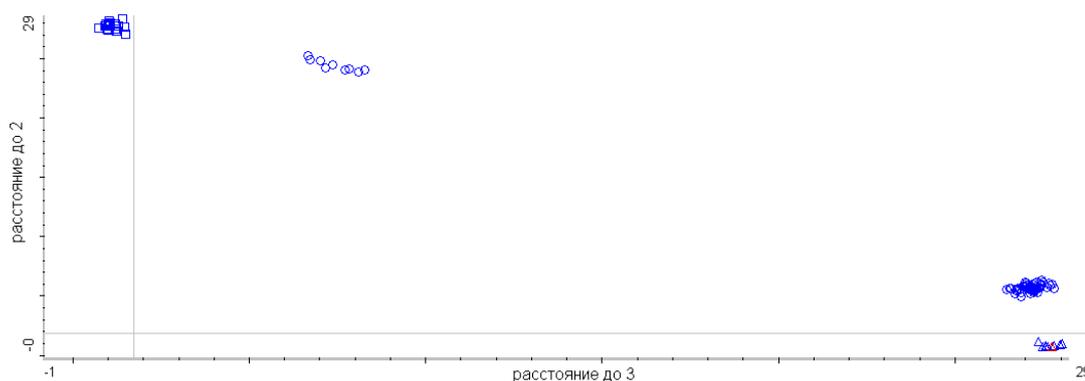


Рисунок 3.12 – Статистическое разделение серий таблеток Метозок с различной дозировкой в координатах Mahalanobis'a (слева направо: 100 мг, 25 мг, 200 мг, 50 мг)

С помощью метода Stepwise Multiple Linear Regression (SMLR, пошаговая множественная линейная регрессия) в программном обеспечении «TQ Analyst™» была создана калибровочная модель по спектрам образцов всех дозировок таблеток Метозок, в которой концентрация является функцией поглощения при разных частотах. Вычисление значений концентрации производилось в процессе

калибровки на основе спектральных данных. Точность модели характеризуется высоким коэффициентом корреляции, который составил 0.99 (рисунок 3.13).

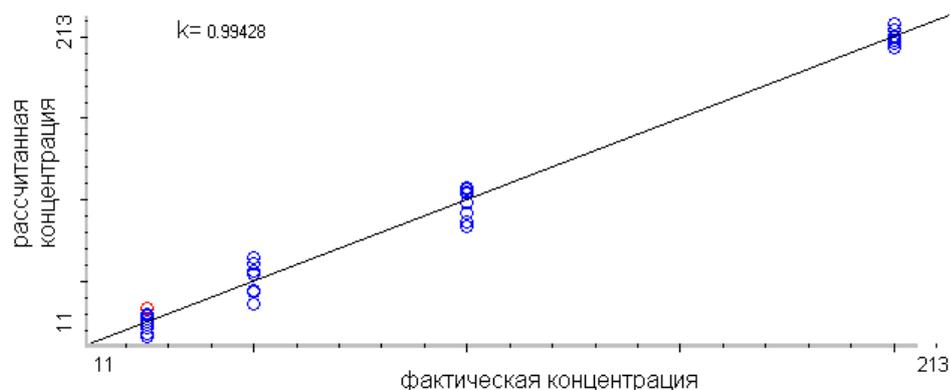


Рисунок 3.13 – Калибровочная модель для таблеток Метозок в дозировках 25, 50, 100, 200 мг (N = 30)

Таким образом, обнаруженные на БИК-спектрах таблеток метопролола сукцината (препарат Метозок) полосы поглощения, обусловленные наличием вспомогательного вещества талька, позволили отличить препараты разных производителей. На примере препарата Метозок методами дискриминантного анализа и линейной регрессии показана возможность оценки и контроля содержания действующего вещества в готовых лекарственных формах.

Методом дискриминантного анализа обнаружено, что максимальное расстояние Mahalanobis'a между сериями таблеток Беталок ЗОК 100 мг достигало 8,4 единиц (рисунок 3.14). Данное значение стало отражением как межсерийных различий, так и особенностей лекарственной формы таблеток с модифицированным высвобождением. Таблетка покрыта пленочной оболочкой и состоит из множества пеллет, внутри которых содержится метопролол сукцинат. Именно неоднородные по диаметру пеллеты вызывают изменения в плотности образца, которые и приводят к спектральным различиям. Для снижения влияния этого фактора были проведены математические процедуры мультипликативной

коррекции рассеивания и анализ данных по первым производным спектров (рисунок 3.15).

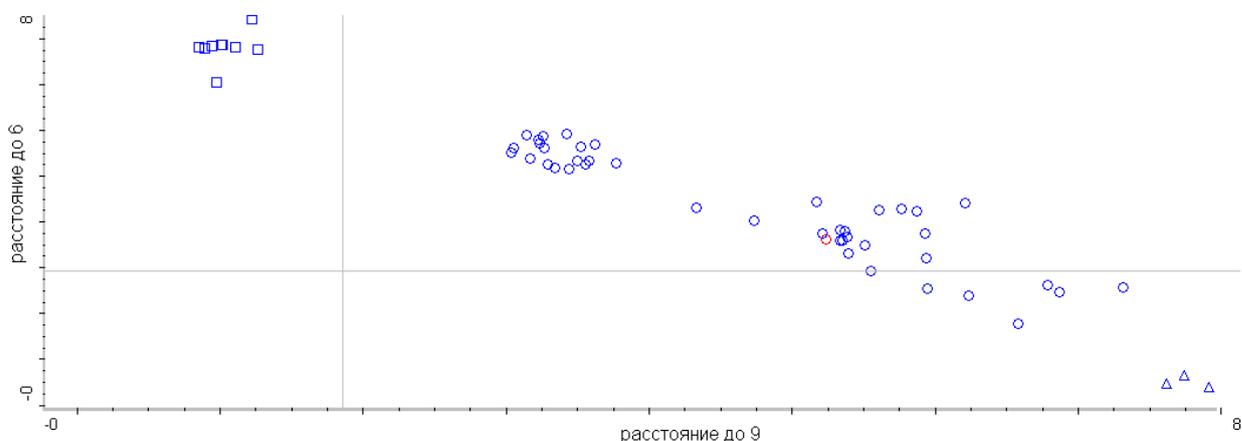


Рисунок 3.14 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров девяти серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг

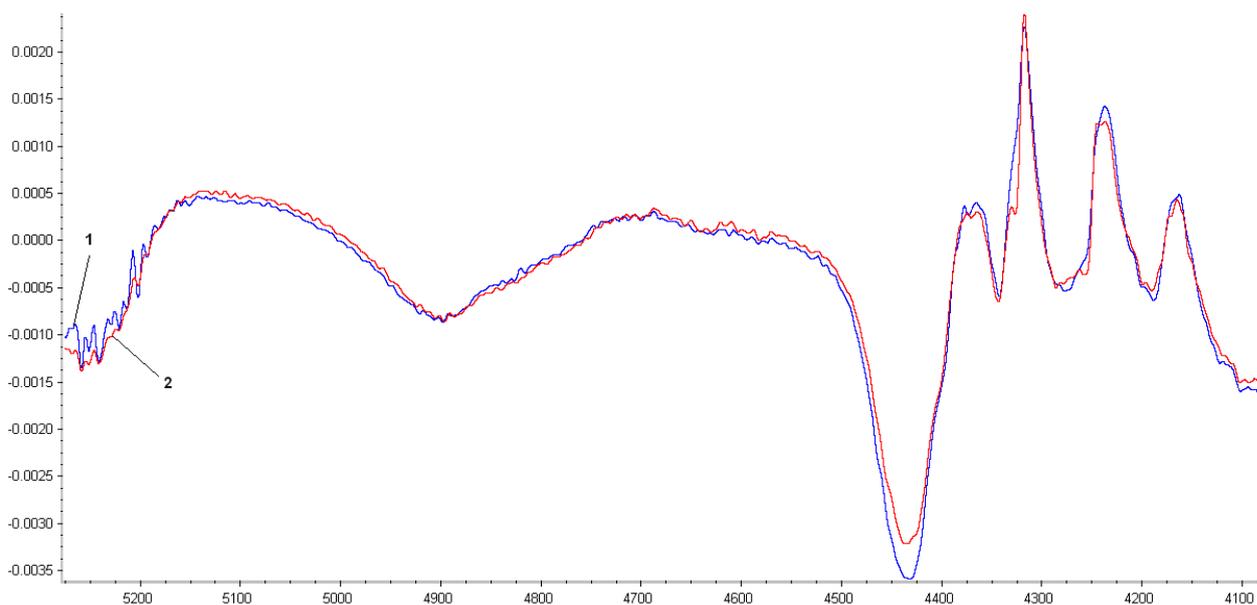


Рисунок 3.15 – Первые производные спектров двух серий лекарственного препарата Беталок ЗОК 100 мг: 1 (синий) – серия LA5376, 2 (красный) – серия МН 5542)

Результат такой модификации дискриминантного анализа позволил исключить различия, связанные с особенностями структуры лекарственной

формы Беталок ЗОК (рисунок 3.16). При этом максимальная разница между сериями препарата снизилась до 2,5 единиц Mahalanobis'a, что свидетельствует о высоком качестве серийной продукции таблеток Беталок ЗОК [184,223].

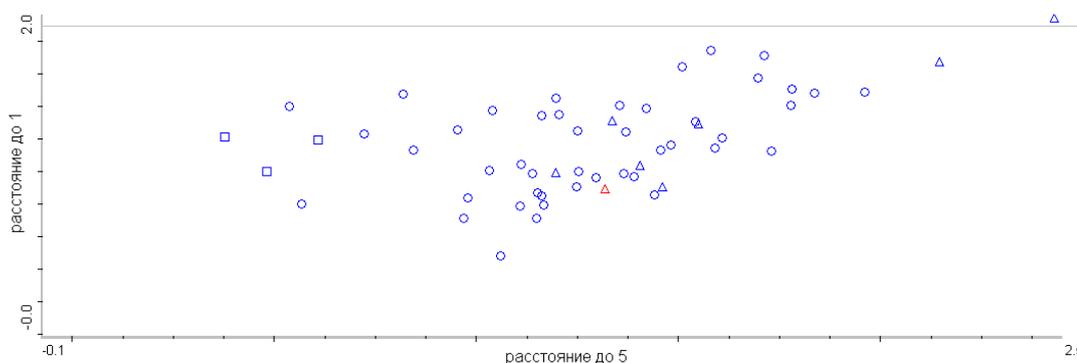


Рисунок 3.16 – Результаты дискриминантного анализа с использованием опции мультипликативной коррекции рассеивания и первой производной БИК-спектров девяти серий таблеток Беталок ЗОК 100 мг

На рисунке 3.17 представлены результаты дискриминантного анализа таблеток Метозок 200 мг, при котором максимальное расстояние между сериями достигает 2,4 единицы Mahalanobis'a, что говорит о высокой воспроизводимости качества серийной продукции таблеток Метозок. Следует подчеркнуть, что поскольку в лекарственной форме таблеток Метозок, в отличие от Беталок ЗОК, не содержатся пеллеты, и метопролол сукцинат равномерно распределен в ядре таблетки, в процедуре мультипликативной коррекции рассеивания и анализе результатов по первой производной не было необходимости.

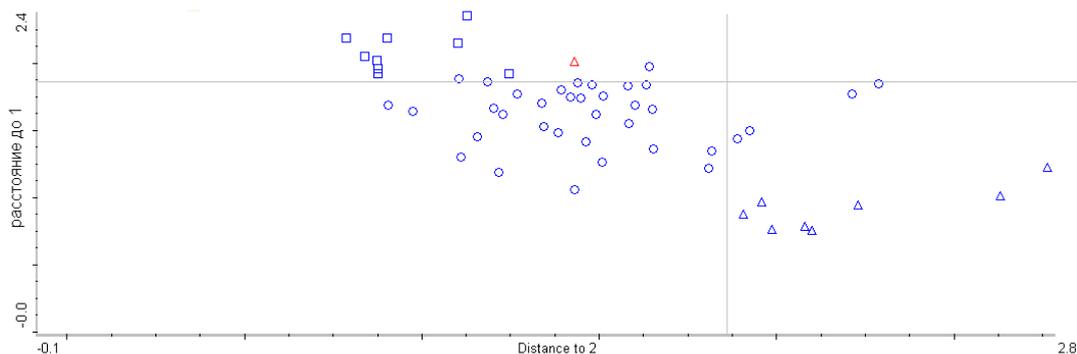


Рисунок 3.17 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров шести серий таблеток Метозок 200 мг

Кроме того, методом дискриминантного анализа был получен дополнительный показатель спектральной дисперсии сравнением двух групп, одна из которых представляла спектры отдельной серии препарата, а вторая – усредненный спектр из библиотеки спектров остальных серий. В качестве примера (рисунок 3.18) приведен результат для таблеток Беталок ЗОК 100 мг, где за первый класс принималась поочередно каждая анализируемая серия таблеток, а за второй класс – все оставшиеся серии. В данном случае образец из серии МС 5497 отличался от усредненного образца, представленного спектрами восьми других серий, всего на 0,9 ед. Mahalanobis'a. При таком подходе для девяти образцов различных серий максимальные различия в единицах Mahalanobis'a не превышали следующие значения: LA 5376 – 2,77, LB 5388 – 2,17, LE 5411 – 2,41, LF 5421 – 2,38, LH 5443 – 2,22, LI 5450 – 2,81, МС 5497 – 2,30, ME 5524 – 2,25, МН 5542 – 3,32 ед. Mahalanobis'a.

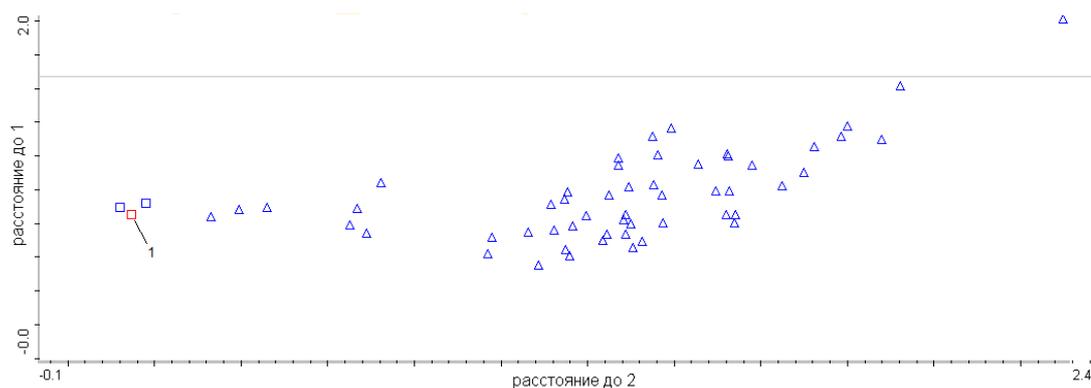


Рисунок 3.18 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров таблеток Беталок ЗОК 100 мг (квадраты – серия МС 5497, цифра 1 – образец серии (пояснения в тексте), треугольники – восемь других анализируемых серий)

Сравнение спектров отдельной серии препарата Метозок 200 мг (рисунок 3.19) с усредненным библиотечным спектром также показало незначительное межсерийное спектральное различие: 10508 – 1,89, 20508 – 1,89, 30508 – 1,72, 40508 – 1,64, 50508 – 1,53, 60508 – 1,84 ед. Mahalanobis'a.

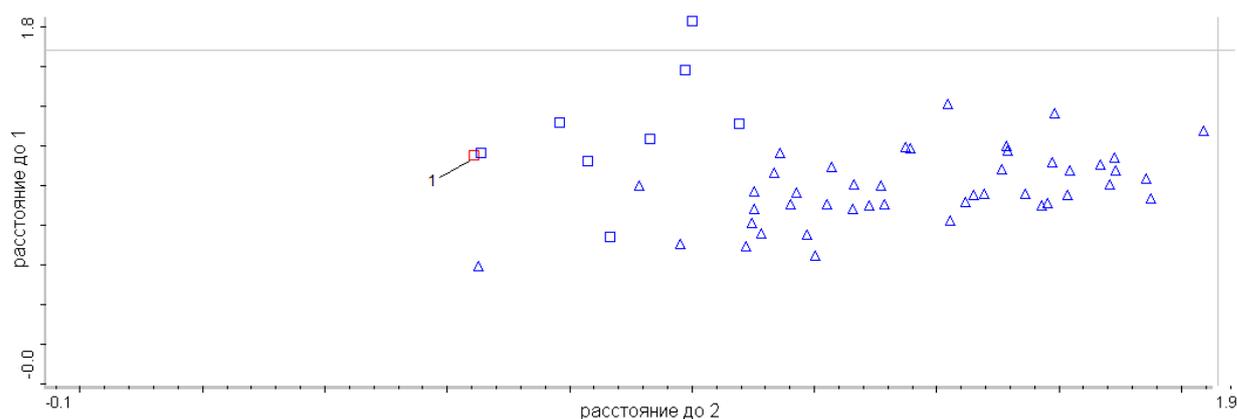


Рисунок 3.19 – Результаты дискриминантного анализа БИК-спектров таблеток Метозок 200 мг (квадраты – серия 60508, цифра 1 – образец серии (пояснения в тексте), треугольники – 5 других анализируемых серий)

Таким образом, проведенные исследования позволили оценить межсерийную воспроизводимость качества таблеток метопролола сукцината разных производителей. При этом для таблеток Беталок ЗОК процедура мультипликативной коррекции рассеивания и анализ первой производной спектров позволили исключить влияние фактора структуры лекарственной формы.

Полученные значения спектрального расстояния в единицах Mahalanobis'a хорошо коррелируют с указанными в литературе пороговыми величинами, свидетельствующими об отсутствии достоверных различий между образцами [184,223]. Таким образом, доказано, что исследуемые лекарственные препараты характеризуются высоким уровнем воспроизводимости серийного качества.

### **3.5 Потеря в массе при высушивании и температура плавления**

Определение влаги в субстанции метопролола сукцината проводили фармакопейным методом: после сушки образца субстанции в термощкафу в воздушной среде при температуре 105°C потеря массы составляет 0,45%, что соответствует спецификации НД не более 0,5%.

В качестве альтернативного способа определения влаги возможно использование метода Карла Фишера, который является одним из наиболее часто используемых лабораторных методов титрования по всему миру. Метод отличается простотой, скоростью анализа и не требует большого аппаратного обеспечения.

Доля воды, определенная по стандартной волюмометрической методике, составила 0,021%.

Результаты определения термических свойств и температуры плавления представлены на рисунке 3.20

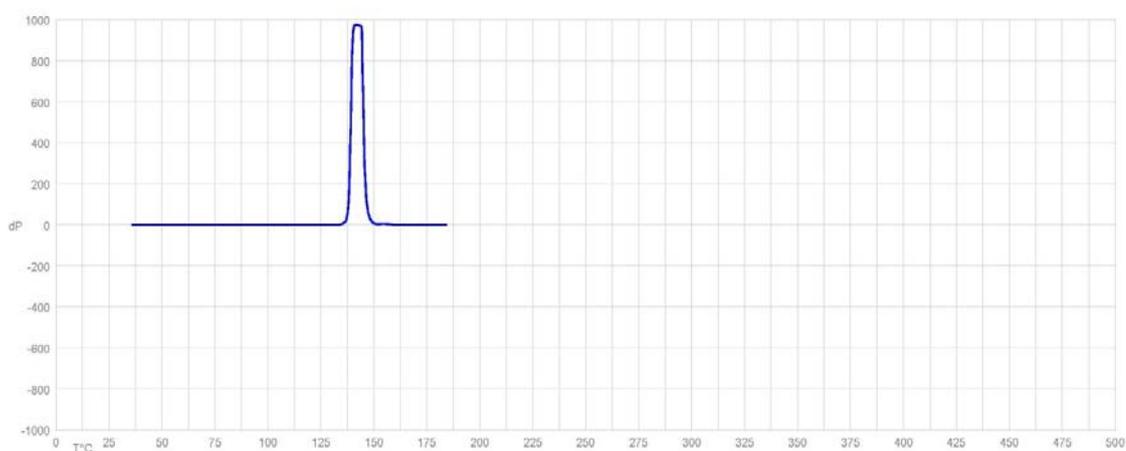


Рисунок 3.20 – Термограмма субстанции метопролола сукцината «Польфарма», Польша (dP – мощность нагрева)

На термограмме метопролола сукцината зарегистрирован эндотермический температурный эффект при 134°C, характерный для плавления образца.

### 3.6 Тест «Растворение»

Для количественного определения высвободившегося метопролола сукцината в тесте «Растворение», а также для определения сравнительной кинетики растворения была разработана спектрофотометрическая методика 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 (рисунок 3.21):

$y=0,0343x+0,0008$  (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 %.

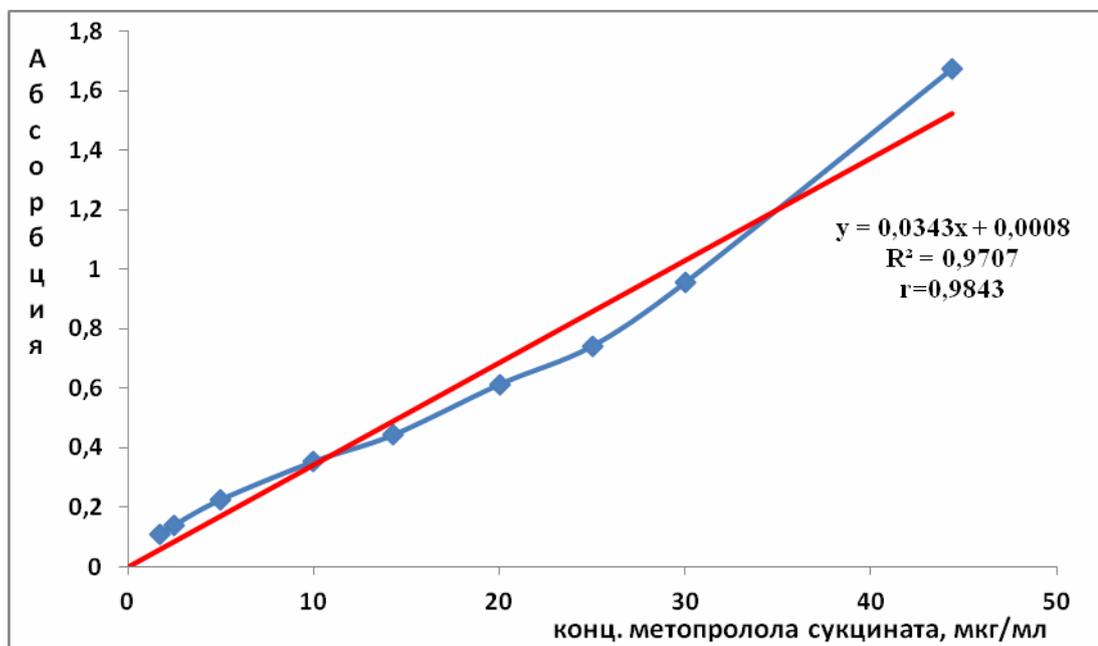


Рисунок 3.21 – Градуировочная зависимость абсорбции при длине волны  $\lambda=222$  нм от концентрации метопролола сукцината в фосфатном буфере (рН=6.8)

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 укладываются в допустимый диапазон согласно нормативной документации (таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Экспериментальные и нормируемые 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	86,5
Метозок (ФСП)	≤ 25	20-50	40-70	≥ 80
Беталок ЗОК (эксперимент)	11,1	24,4	43,2	86,8
Беталок ЗОК (НД)	≤ 25	20-50	35-65	≥ 80
Метопролол сукцинат (USP)	≤ 25	20-40	40-60	≥ 80

### 3.7 Заключение

Проведен фармацевтический анализ качества новой субстанции метопролола сукцината для отечественного лекарственного препарата. Был использован ряд фармакопейных методов: ИК, БИК, УФ-спектрометрия. В ходе проведенных экспериментов выяснилось, что качество субстанции и таблеток метопролола сукцината разных производителей по показателю «подлинность» может быть определено методом БИК-спектрометрии. При этом наличие двух полос поглощения в области  $7150\text{--}7180\text{ см}^{-1}$  характеризует состав вспомогательных веществ таблеток Метозок. Указанные спектрофотометрические методы продемонстрировали широкие возможности и могут быть рекомендованы для включения в проект фармакопейной статьи ГФ «Метопролол сукцинат». В рамках разработки отечественной фармакопейной статьи необходима гармонизация требований к анализу согласно тесту «Растворение» и утверждение

единых критериев качества для лекарственных препаратов метопролола сукцината разных производителей.

Проведенный анализ качества таблеток нового отечественного метопролола сукцината по фармакопейным показателям позволил сделать вывод о фармацевтической эквивалентности оригинальному препарату и обосновать возможность проведения фармакокинетической эквивалентности в медико-биологическом исследовании.

Была предложена калибровочная модель с использованием БИК-спектрометрии, которая позволяет оценить содержание метопролола сукцината в таблетках Метозок. Данная методика может быть рекомендована для внедрения в условиях in-line на заводе производителя.

Доказана возможность метода БИК-спектрометрии для оценки межсерийной дисперсии таблеток Беталок ЗОК – спектральные особенности каждой вновь произведенной серии таблеток Беталок ЗОК 100 мг должны укладываться в установленный диапазон максимального спектрального расстояния от 2,17 до 3,32 единиц Mahalanobis'a, а также таблеток Метозок – спектральные особенности каждой вновь произведенной серии таблеток Метозок 100 мг должны укладываться в установленный диапазон максимального спектрального расстояния от 1,53 до 1,89 единиц Mahalanobis'a.

В качестве альтернативного фармакопейному способу анализа качества субстанции метопролола сукцината по показателю «потеря в массе при высушивании» предложен тест определения влаги с использованием метода титрования по Карлу Фишеру.

В качестве метода контроля качества субстанции метопролола сукцината по показателю подлинности предложено применение дифференциальной сканирующей калориметрии (температура плавления составляет 134°C).

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### 4.1 Валидация метода количественного определения метопролола

Аналитический метод был валидирован по показателям точности, прецизионности, чувствительности, открываемости, пределу обнаружения, линейности и стабильности в соответствии с отечественными и зарубежными руководствами с использованием внутреннего стандарта пинацидила моногидрата.

Анализ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Shimadzu» (Япония) с флюориметрическим детектором при  $\lambda_{\text{ex}}$  277 нм и  $\lambda_{\text{em}}$  305 нм. Разделение компонентов происходило на колонках  $\mu$ -Bondapak Phenyl 3,9 \* 300 мм («Waters», Милфорд, США) с размером частиц 10 мкм. Качество колонки было изучено при двукратном введении смеси резорцина, нафталина и антрацена (10 мкл) в подвижной фазе ацетонитрил-вода (55:45) со скоростью потока 1.0 мл/мин. Пригодность системы определяли путем внесения разбавленного раствора препарата в пяти повторах в тех же хроматографических условиях.

Для разделения метопролола в качестве подвижной фазы использовали состав ацетонитрил-вода-триэтиламин 18:81:1 (по объему), pH доводили до 11 с помощью фосфорной кислоты. Перед использованием подвижная фаза была дегазирована и профильтрована через фильтр 0.45 мкм. Скорость потока составила 1.0 мл/мин.

Для количественного определения метопролола использовали метод абсолютной калибровки. Зависимость площадей пиков от концентрации метопролола анализировали методом регрессионного анализа.

Были приготовлены серии разведений стандартного раствора метопролола сукцината в подвижной фазе. Каждое разведение добавляли к сыворотке крови для получения концентраций в диапазоне 5-160 нг/мл.

Раствор внутреннего стандарта был приготовлен путем разбавления 5 мг пинацидил моногидрата в подвижной фазе и доведения до метки в 50 мл флаконе для получения стандартного раствора 100 мкг/мл. Для анализа сыворотки крови данный стандартный раствор был разбавлен водой до 2 мкг/мл.

В указанных хроматографических условиях метопролол и пинацидил моногидрат характеризовались временем удерживания 1.5 и 2.6 мин соответственно. Приемлемость метода была подтверждена воспроизводимыми результатами при анализе каждого образца.

Линейность, прецизионность и точность были определены путем анализа 5 серий контрольных образцов плазмы. Каждая серия образцов плазмы включала один набор калибровочных стандартов (шесть разных концентраций, пустой образец, образец с внутренним стандартом) и контрольные образцы с низкой (10 нг/мл), средней (70 нг/мл) и высокой (100 нг/мл) концентрациями.

Таблица 4.1 – Данные измерений калибровки по образцам метопролола в сыворотке крови

№.	Концентрация метопролола в сыворотке (нг/мл), X	Площадь пика (среднее из пяти измерений)
1	5	61527
2	20	151600
3	40	292648
4	80	584257
5	120	848177
6	160	1095292

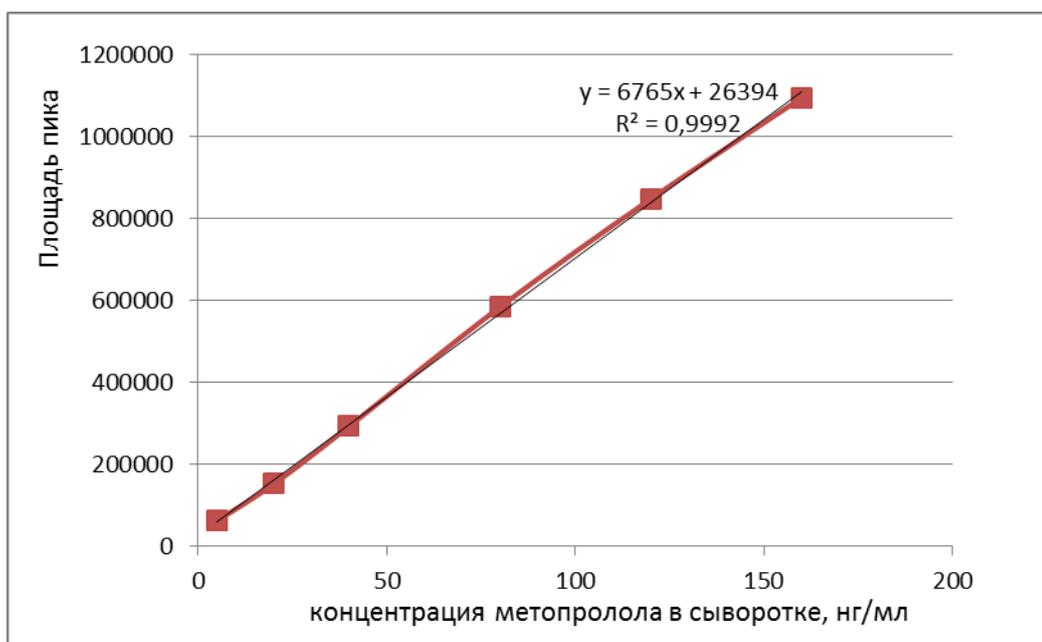


Рисунок 4.1 – Зависимость площади под хроматографическим пиком от концентрации метопролола в сыворотке крови.

Линейность калибровочной кривой для определения метопролола в плазме крови была продемонстрирована при концентрациях 5, 20, 40, 80, 120, 160 нг/мл ( $r=0.9992$ ). Полученная типичная калибровочная кривая может быть описана линейным уравнением  $Y = 6765X + 26394$ , где  $Y$  – площадь пика,  $X$  – концентрация (нг/мл).

Чувствительность метода характеризуется пределом обнаружения, который составил 1 нг/мл, и пределом количественного обнаружения, который составил 5 нг/мл.

Внутрисерийная точность, определенная с помощью метода соотношения площади внутреннего стандарта, составила 99.6 – 102.6%. Межсерийная точность (общая точность), определенная с помощью метода соотношения площади внутреннего стандарта составила, составила 99.8 – 101.6% (среднее значение – 100.8%) (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Внутрисерийная и межсерийная точность и прецизионность количественного определения метопролола

Концентрация метопролола в плазме крови (нг/мл)			
Образцы	LQC	MQC <sup>a</sup>	HQC
Действительная концентрация	20.68	71.24	100.63
QC1	20.57	71.55	100.25
QC2	20.89	71.31	100.47
QC3	20.19	72.46	100.76
QC4	21.50	69.94	99.89
Средняя концентрация	20.79	71.31	100.34
SD	0.56	1.04	0.37
Прецизионность (%)	1.36	1.47	0.36
Точность (%)	101.27	100.02	99.61
QC5	20.67	71.66	100.83
QC6	20.03	70.47	99.89
QC7	20.95	71.47	100.65
QC8	22.06	71.04	100.22
Средняя концентрация	20.93	71.16	100.40
SD	0.84	0.53	0.43
Прецизионность (%)	2.07	0.75	0.42
Точность (%)	101.63	100.90	99.67
QC9	20.74	71.40	100.85
QC10	21.04	70.24	100.69
QC11	20.04	71.07	100.71
QC12	20.93	72.13	100.30
Средняя концентрация	20.69	71.21	100.64
SD	0.39	0.68	0.20
Прецизионность (%)	0.96	0.96	0.20
Точность (%)	101.03	100.97	99.9
QC13	20.30	71.10	101.28
QC14	20.14	70.62	100.88
QC15	22.04	71.37	100.43
QC16	21.16	71.40	100.61
Средняя концентрация	20.91	71.12	100.80
SD	0.87	0.36	0.37
Прецизионность (%)	2.15	0.52	0.36
Точность (%)	101.58	100.85	100.07
QC17	20.61	72.64	100.42

QC18	21.75	71.58	101.27
QC19	21.21	70.09	100.56
QC20	21.69	71.30	99.90
Средняя концентрация	21.32	71.40	100.54
SD	0.53	1.05	0.57
Прецизионность (%)	1.28	1.47	0.56
Точность (%)	102.59	101.24	99.80
Общее значение	-	-	-
Концентрация, нг/мл	20.68	71.24	100.63
Средняя концентрация	20.93	71.24	100.54
SD	0.62	0.72	0.40
Прецизионность (%)	1.53	1.02	0.40
Точность (%)	101.61	101.01	99.81

Внутрисерийная прецизионность (повторяемость, сходимост), определенная с помощью метода соотношения площади внутреннего стандарта, составила 0.20 – 2.15%. Межсерийная (общая) прецизионность определенная с помощью метода соотношения площади внутреннего стандарта, составила 0.40 – 1.53% (в среднем 0.98%) (таблица 4.2).

Открываемость метода количественного определения метопролола составила 97.5%, а внутрисерийная открываемость составила 94.4 – 100.0% (таблица 4.3).

Таблица 4.3 – Открываемость количественного определения метопролола в сыворотке крови

Контрольный образец	Правильность, %			Открываемость, среднее значение (%)
	LQC	MQC	HQC	
-				
1	94.36	98.69	100.48	
2	102.72	91.50	96.24	
3	93.12	98.37	97.70	
4	90.19	93.33	101.97	
5	91.75	98.92	102.64	
Mean	94.43	98.22	100.0	97.55
SD	4.61	3.06	2.45	3.37
CV (%)	5.34	3.28	2.53	3.72
n	5	5	5	15

Стабильность при замораживании-оттаивании составила от 76.4 до 102.0%. Стабильность при одном и при двух циклах замораживания-оттаивания составила 83.4 – 102.0% и 76.4 – 88.9% соответственно. Таким образом стабильность при замораживании-оттаивании метопролола после двух циклов оказалась приемлемой (таблица 4.4). Дополнительным критерием приемлемости является стабильность метопролола в образце плазмы до 4 ч. Настольная стабильность составила 89.7 – 104.6% (таблица 4.5).

Таблица 4.4 – Стабильность при замораживании-оттаивании метопролола в плазме крови

	Индивидуальная стабильность (%)		
	LQC	MQC	HQC
Один цикл			
1	89.54	98.82	98.77
2	77.16	94.17	102.17
3	82.04	96.41	109.22
4	84.68	88.67	97.80
Среднее	83.35	94.52	101.99
SD	4.47	3.75	4.48
CV (%)	5.26	3.93	4.35
n	4	4	4
Два цикла			
1	83.42	85.86	90.88
2	71.73	87.35	92.20
3	71.40	81.40	87.92
4	78.91	78.51	84.46
Среднее	76.36	83.28	88.87
SD	5.06	3.52	2.98
CV (%)	6.49	4.18	3.32
n	4	4	4

Таблица 4.5 – Настольная стабильность метопролола в плазме крови

Время (ч)	% от первоначальной концентрации		
	LQC	MQC	HQC
0	99.98	100.08	100.11
2	99.62	104.63	89.65
4	101.46	91.82	102.59
n	3	3	3

Основные результаты, полученные при валидации аналитического метода представлены в таблица 4.6. Метод количественного определения метопролола сукцината в плазме крови был использован в медико-биологическом исследовании для подтверждения фармакокинетической эквивалентности препаратов метопролола сукцината – объектов исследования.

Таблица 4.6 – Основные аналитические параметры метода количественного определения метопролола

Характеристика метода	Результат
Линейность (нг/ мл)	5 – 160
Предел количественного определения (нг/мл)	5
Предел обнаружения (нг/мл)	1
Точность (%)	
Внутрисерийная	99.6 – 102.6
Общая	99.8 – 101.6
Прецизионность (%)	
Внутрисерийная	0.20 – 2.15
Общая	0.40 – 1.53
Открываемость (%)	
Внутрисерийная	94.4 – 100.0
Общая	97.5
Стабильность (%)	
Замораживание-оттаивание (1 цикл)	83.4 – 102.0%
Замораживание-оттаивание (2 цикла)	76.4 – 88.9%
Настольная	89.7 – 104.6

## 4.2 Результаты фармакокинетического исследования

В исследование биоэквивалентности было включено 18 здоровых добровольцев мужского пола, отвечающих критериям включения/невключения. Демографические и антропометрические характеристики добровольцев указаны в таблице 4.7. В целом группа включенных добровольцев характеризовалась высокой однородностью по возрасту (средний возраст составил 22,3 года), средняя масса тела составила около 75,1 кг при среднем росте 181 см. Таким образом индекс массы тела в среднем составил около 23 кг/м<sup>2</sup>. Для случайного распределения включенных в исследование добровольцев был использован стандартный план рандомизации (таблица 4.8).

Таблица 4.7 – Демографические и антропометрические характеристики добровольцев в исследовании биоэквивалентности метопролола сукцината

№	Код добровольца	Пол	Возраст, лет	Рост, см	Масса, кг
1	Е.С.Ю.	М	22	183	92
2	Ц.А.А.	М	22	184	83
3	Т.К.Д.	М	18	170	62
4	А.В.В.	М	21	176	69
5	Х.Д.Б.	М	21	184	79
6	Е.А.М.	М	21	162	49
7	С.С.В.	М	23	185	84
8	С.И.А.	М	20	172	58
9	П.В.А.	М	21	186	70
10	Ф.А.А.	М	21	188	104
11	В.П.Г.	М	21	185	63
12	М.Р.К.	М	23	178	74
13	К.Д.И.	М	21	190	87
14	Ш.А.В.	М	44	184	87
15	Ш.С.Н.	М	21	183	86
16	П.В.С.	М	20	173	63
17	Л.М.Е.	М	21	180	68

18	М.А.А.	М	20	195	74
Сред.			22,3	181,0	75,1
Min			18	162	49
Max			44	195	104

Таблица 4.8 – План рандомизации в исследовании биоэквивалентности

Доброволец №№	Последовательность приема препаратов		Доброво лец №№	Последовательность приема препаратов	
	1-й прием	2-й прием		1-й прием	2-й прием
1	T	R	10	R	T
2	R	T	11	T	R
3	T	R	12	R	T
4	R	T	13	T	R
5	T	R	14	R	T
6	R	T	15	T	R
7	T	R	16	R	T
8	R	T	17	T	R
9	T	R	18	R	T
T – Метозок R – Беталок ЗОК					

Все добровольцы, включенные в исследование, завершили свое участие. Во время исследования все фармакокинетические заборы крови были осуществлены в установленные промежутки времени. Из полученных образцов крови была приготовлена сыворотка, в которой методом ВЭЖХ с флуоресцентной детекцией была определена концентрация метопролола.

Динамика концентрации метопролола в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема 100 мг препарата Метозок и 100 мг Беталок ЗОК представлена в таблицах 4.9 и 4.10.

Концентрация метопролола в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема 100 мг препарата Метозок постепенно увеличивается с 23,8 нг/мл через 0,5 ч, достигая максимума концентрации 80,8 нг/мл через 5-6 ч. Затем наблюдается постепенное снижение концентрации до 14,4 нг/мл к концу первых суток после дозирования, а через 48 ч у большинства добровольцев препарат полностью элиминировался из крови. У тех добровольцев, у кого концентрация была определена, она составила около 9,0 нг/мл.

Таблица 4.9 – Динамика концентрации метопролола в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема 100 мг препарата Метозок (нг/мл)

№	Время после приема препарата, час											
	0,5	1	2	3	4	5	6	8	10	12	24	48
1	23	45	51	56	68	72	79	60	41	26	15	7
2	11	29	36	73	88	85	94	108	62	29	13	*
3	17	36	48	52	55	63	58	51	35	15	8	*
4	33	50	64	69	75	82	84	77	50	25	16	10
5	46	67	72	80	93	116	125	86	43	16	11	6
6	14	42	59	64	82	91	87	44	28	20	10	*
7	27	36	31	43	59	72	76	74	80	54	26	12
8	12	25	46	51	53	61	66	71	42	27	18	7
9	22	29	34	42	56	77	86	81	55	20	15	*
10	30	48	46	50	50	51	42	35	26	15	7	*
11	36	51	65	74	82	85	96	62	31	24	12	*
12	49	72	83	91	126	134	139	104	56	20	10	*
13	15	24	51	68	70	74	71	58	43	27	21	10
14	20	53	72	83	96	99	108	112	85	52	25	8
15	12	26	28	35	44	49	53	51	39	31	14	*
16	32	49	64	78	80	91	77	46	28	18	10	*
17	16	35	61	60	72	78	79	80	55	26	22	12
18	13	22	26	34	42	40	34	31	32	11	6	*
Mean	23.8	41.1	52.1	61.3	71.7	78.9	80.8	68.4	46.2	25.3	14.4	9.0
Gmean	21.3	38.7	49.3	58.9	68.9	75.7	76.5	64.3	43.5	23.3	13.2	8.7
SD	11.7	14.5	16.6	17.0	21.3	23.1	26.5	24.1	17.0	11.5	6.0	2.3
CV	49	35	32	28	30	29	33	35	38	45	42	26
Median	21	39	51	62	71	77.5	79	66.5	42.5	24.5	13.5	9

\* - препарат в пробе не обнаружен

Таблица 4.10 – Динамика концентрации метопролола в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема 100 мг препарата Беталок ЗОК (нг/мл)

№	Время после приема препарата, час											
	0,5	1	2	3	4	5	6	8	10	12	24	48
1	12	26	35	59	71	86	81	52	46	21	13	7
2	25	56	70	82	89	96	106	143	93	43	25	*
3	10	33	42	46	50	41	36	29	21	18	11	*
4	16	21	54	53	62	68	70	55	59	42	14	*
5	22	36	41	49	69	83	93	73	50	35	26	8
6	38	51	63	77	79	75	82	61	37	18	9	*
7	18	47	76	82	91	94	106	113	64	41	25	7
8	15	29	34	46	50	53	60	79	72	38	12	*
9	21	35	31	49	62	74	82	65	46	22	10	*
10	30	42	46	51	59	55	65	42	31	27	9	*
11	16	23	43	56	61	80	84	90	51	31	15	*
12	35	46	62	86	93	95	105	67	37	28	12	*
13	24	52	56	71	85	96	87	52	47	36	18	*
14	15	34	46	60	83	81	106	114	72	40	18	6
15	10	26	34	42	52	59	46	33	25	21	13	*
16	27	49	56	74	85	63	52	49	32	18	10	*
17	19	35	48	56	59	64	69	53	46	39	19	8
18	12	26	32	35	45	41	39	36	24	13	7	*
Mean	20.3	37.1	48.3	59.7	69.2	72.4	76.1	67.0	47.4	29.5	14.8	7.2
Gmean	18.8	35.5	46.6	57.8	67.4	70.1	72.3	61.1	43.9	27.8	13.8	7.2
SD	8.3	11.0	13.5	15.3	15.8	18.0	23.0	30.8	19.1	10.0	5.9	0.8
CV	41	30	28	26	23	25	30	46	40	34	40	12
Media ne	18.5	35	46	56	65.5	74.5	81.5	58	46	29.5	13	7

\* - препарат в пробе не обнаружен

Концентрация метопролола в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема 100 мг препарата Беталок ЗОК постепенно увеличивалась с 20,3 нг/мл через 0,5 ч, достигая максимума концентрации 76,1 нг/мл через 5-6 часов после дозирования. Затем наблюдается постепенное снижение концентрации до 14,8 нг/мл к концу первых суток после дозирования, а через 48 ч у большинства добровольцев препарат полностью элиминировался из крови. У тех добровольцев, у кого концентрация была определена, она составила около 7,2 нг/мл.

На основании полученных результатов концентрации метопролола были рассчитаны фармакокинетические параметры препаратов Метозок и Беталок ЗОК  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ ,  $AUC_{48ч}$ ,  $C_{\max}/AUC_{48ч}$ , указанные в таблицах 4.11 – 4.12, и были построены индивидуальные графики динамики концентрации препарата в крови (рисунки А.1 – А.18).

Для статистической оценки было сделано предположение о log-нормальном распределении  $AUC$ . Резко выделяющихся индивидуальных значений параметров или их отношений по сравнению с основной группой зафиксировано не было.

При приеме препарата Метозок  $C_{\max}$  варьировалась от 42 до 139 нг/мл (у четверых добровольцев концентрация превысила 108 нг/мл, у троих концентрация была в половину меньше – менее 53 нг/мл), а среднее значение составило 84,7 нг/мл. Время достижения максимальной концентрации  $T_{\max}$  варьировалось от 4 до 10 ч и в среднем составило 6,3 ч. Минимальное значение  $T_{\max}$  было зарегистрировано у добровольца №18 с минимальным значением  $C_{\max}$ , в то время как обратной зависимости определить не удастся: при  $T_{\max}$  равным 10 ч у добровольца №7 максимальная концентрация приближается к среднему значению по всем испытуемым, а также у добровольца №12 максимальная концентрация метопролола 139 нг/мл была достигнута через 6 ч.

Таблица 4.11 – Фармакокинетические параметры препарата Метозок

№	$C_{max}$ , нг/мл	$T_{max}$ , час	$AUC_{48ч}$ , нг*ч/мл	$C_{max}/AUC_{48ч}$
1	79	6	1149	0.069
2	108	8	1227	0.088
3	63	5	762	0.083
4	84	6	1307	0.064
5	125	6	1262	0.099
6	91	5	929	0.098
7	80	10	1658	0.048
8	71	8	1158	0.061
9	86	6	1053	0.082
10	51	5	664	0.077
11	96	6	1076	0.089
12	139	6	1361	0.102
13	74	5	1284	0.058
14	112	8	1866	0.060
15	53	6	910	0.058
16	91	5	935	0.097
17	80	8	1416	0.057
18	42	4	527	0.080
Mean	84.7	6.3	1141.2	0.076
GMean	81.1	6.1	1092.5	0.074
SD	25.3	1.5	333.2	0.017
Mediane	82.0	6	1153.25	0.078
L-95%	72.1	5.5	975.5	0.068
Up-95%	147.7	7.0	1307.0	0.085

Таблица 4.12 – Фармакокинетические параметры препарата Беталок ЗОК

№	$C_{max}$ , нг/мл	$T_{max}$ , час	$AUC_{48ч}$ , нг*ч/мл	$C_{max}/AUC_{48ч}$
1	86	5	1059	0.081
2	143	8	1774	0.081
3	50	4	687	0.073
4	70	6	1140	0.061
5	93	6	1475	0.063
6	93	6	958	0.097
7	113	8	1721	0.066
8	79	8	1086	0.073
9	82	6	932	0.088
10	65	6	852	0.076
11	90	8	1160	0.078
12	105	6	1166	0.090
13	96	5	1264	0.076
14	114	8	1510	0.075
15	59	5	778	0.076
16	85	4	874	0.097
17	69	6	1275	0.054
18	45	4	574	0.078
Mean	85.4	6.1	1126.8	0.077
GMean	82.1	5.9	1079.4	0.076
SD	24.4	1.4	335.7	0.012
Median	85.5	6	1113.0	0.076
L-95%	73.3	5.3	959.9	0.071
Up-95%	97.5	6.8	1293.8	0.083

При приеме Метозок среднее по всем добровольцам значение  $AUC_{48ч}$  составило 1141 нг\*ч/мл. Минимальное значение зафиксировано у добровольца №18 – 527 нг\*ч/мл, а максимальное 1866 – у добровольца №14 ( $T_{max}$  и  $C_{max}$  выше среднего). Меньшее значение  $AUC_{48ч}$  (менее 1000 нг\*ч/мл) объяснимо фиксировалось у добровольцев с более быстрым достижением максимальной концентрации около 4-6 ч и невысокой максимальной концентрацией.

Значение рассчитанного показателя скорости всасывания препарата Метозок  $C_{\max}/AUC_{48ч}$  варьируется от 0,05 до 0,10, а среднее значение составило около 0,08. Однако для пролонгированных лекарственных форм данный параметр малоинформативен, а для подтверждения биоэквивалентности изучаемых препаратов используется значение продолжительности периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от  $C_{\max}$ . Для ЛС Метозок этот параметр составил около 5 ч.

При приеме препарата Беталок ЗОК  $C_{\max}$  варьировалась от 45 до 143 нг/мл, а среднее значение составило 85,4 нг/мл. Также у четверых добровольцев концентрация превысила 113 нг/мл и у троих концентрация была в половину меньше – менее 60 нг/мл. Максимальные и минимальные концентрации препаратов Метозок и Беталок ЗОК наблюдались у одних и тех же троих добровольцев. Если при приеме Беталок ЗОК у добровольца №7 было зарегистрировано одно из максимальных значений, то в случае препарата Метозок у этого же добровольца было достигнуто среднее значение концентрации. Обратная ситуация была отмечена у добровольца №5.

Время достижения максимальной концентрации Беталок ЗОК  $T_{\max}$  варьировалось от 4 до 8 ч и в среднем составило 6,1 ч. Минимальное значение  $T_{\max}$  было зарегистрировано у троих добровольцев, в том числе у добровольца №18.

При приеме Беталок ЗОК среднее по всем добровольцам значение  $AUC_{48ч}$  составило 1127 нг\*ч/мл. Минимальное значение зафиксировано у добровольца №18 – 574 нг\*ч/мл, а максимальное 1774 – у добровольца №2 ( $T_{\max}$  и  $C_{\max}$  выше среднего).

Значение рассчитанного показателя скорости всасывания препарата Беталок ЗОК  $C_{\max}/AUC_{48ч}$  варьируется от 0,05 до 0,10, а среднее значение составило около 0,08. Продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от  $C_{\max}$ , составила около 5 ч.

Результаты дисперсионного анализа приведены в таблице 4.13. Как видно из результатов анализа расчетное значение F для вклада фактора типа препарата нигде не превосходит критического значения.

Таблица 4.13 – Результаты дисперсионного анализа  $C_{\max}$ ,  $C_{\max}/AUC_{48ч}$ ,  $AUC_{48ч}$ 

$C_{\max}$					
Источник вариации	df	SS	MS	F	P-Значение
Испытуемые	17	2,7956	0,1645	8,67	0,00004
Периоды	1	0,0182	0,0182	0,96	0,342
Препараты	1	0,0013	0,0013	0,07	0,795
$C_{\max}/AUC_{48ч}$					
Источник вариации	df	SS	MS	F	P-Значение
Испытуемые	17	1,0105	0,0594	3,10	0,014
Периоды	1	0,00001	0,00001	0,001	0,978
Препараты	1	0,0053	0,0053	0,27	0,607
$AUC_{48ч}$					
Источник вариации	df	SS	MS	F	P-Значение
Испытуемые	17	3,0582	0,1799	15,97	0,00000
Периоды	1	0,0192	0,0192	1,71	0,210
Препараты	1	0,0013	0,0013	0,12	0,738

Динамика концентрации метопролола у добровольца №1 представлена на рисунке А.1. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации препарата оказались практически одинаковыми для изучаемых препаратов. Максимальные значения концентраций для ЛС Метозок составили через 6 ч – 79 нг/мл, а для Беталок ЗОК в период 5-6 ч составили 86-81 нг/мл.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №2 представлена на рисунке А.2. Максимальные значения концентраций метопролола, а также

максимальная разница между двумя препаратами, были зафиксированы через 8 ч и составили для ЛС Метозок – 108 нг/мл, а для Беталок ЗОК – 143 нг/мл. Во всех временных точках концентрация метопролола была несколько выше после приема Беталок ЗОК.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №3 представлена на рисунке А.3. Были зафиксированы очень близкие по значению концентрации метопролола в каждую временную точку вплоть до достижения максимального значения, которое через 4-5 ч составило для ЛС Метозок – 63 нг/мл, а для Беталок ЗОК – 50 нг/мл. Затем препарат сравнения стал быстрее элиминироваться из организма до достижения 12 ч, когда скорость элиминации и концентрации метопролола в крови практически сравнялись у изучаемых препаратов.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №4 представлена на рисунке А.4. Через 6 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 84 нг/мл для препарата Метозок и 70 нг/мл для Беталок ЗОК. На восходящей части фармакокинетической кривой концентрации испытуемого препарата были несколько выше. Также на восходящей части фармакокинетической кривой через 3 ч после дозирования препарата сравнения концентрация метопролола были чуть ниже (53 нг/мл), чем через 2 ч (54 нг/мл), а на нисходящей части через 10 ч после дозирования концентрация метопролола были несколько выше, чем через 8 ч. Вероятнее всего в данных временных отрезках была допущена ошибка анализа определения концентрации метопролола.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №5 представлена на рисунке А.5. Через 6 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 125 нг/мл для препарата Метозок и 93 нг/мл для Беталок ЗОК. В восходящей части фармакокинетической кривой концентрации испытуемого препарата также были несколько выше, однако после 10 ч Метозок стал интенсивнее элиминироваться по сравнению со стандартом. С учетом разницы в концентрациях около 20-30 нг/мл на восходящей части кривой общий тренд фармакокинетических кривых оказался схожим.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №6 представлена на рисунке А.6. Через 5 ч после дозирования максимальная концентрация метопролола достигла 91 нг/мл для ЛС Метозок. Для Беталок ЗОК в этот временной интервал зарегистрирована концентрация 75 нг/мл, а через 4 и 6 ч после дозирования 79 и 82 нг/мл соответственно. Можно предположить, что истинное максимальное значение концентрации все-таки приходится на 5 ч, однако точно не было определено в результате ошибки анализа.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №7 представлена на рисунке А.7. Через 8 ч после дозирования максимальная концентрация метопролола достигла 113 нг/мл для препарата Беталок ЗОК. Для Метозок в этот временной интервал зарегистрирована концентрация 74 нг/мл, а через 6 и 10 ч после дозирования 74 и 80 нг/мл соответственно. Можно предположить, что истинное максимальное значение концентрации все-таки приходится на 8 ч, однако точно не было определено в результате ошибки анализа.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №8 представлена на рисунке А.8. Через 8 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 71 нг/мл для ЛС Метозок и 79 нг/мл для Беталок ЗОК. В восходящей части фармакокинетической кривой концентрации испытуемого препарата оказывались выше на 5-10 нг/мл, однако общий тренд фармакокинетических кривых оказался схожим.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №9 представлена на рисунке А.9. Через 6 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 86 нг/мл для препарата Метозок и 82 нг/мл для Беталок ЗОК. Во всех временных интервалах различия в концентрациях обоих препаратов были минимальными – фармакокинетические кривые практически совпадают. Значение концентрации метопролола через 2 ч после приема Беталок ЗОК оказалось ниже предыдущего значения на 4 нг/мл, что, возможно, указывает на ошибку анализа в данную временную точку.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №10 представлена на рисунке А.10. Из определенных значений концентрации метопролола выходит,

что для Беталок ЗОК максимум концентрации 65 нг/мл достигается через 6 ч после дозирования, а для Метозок максимум концентрации 51 нг/мл достигается через 5 ч. Обращает на себя внимание снижение концентрации метопролола с 59 до 55 нг/мл в интервале 4-5 ч после приема Беталок ЗОК, что возможно связано с некоторой ошибкой анализа в указанную временную точку.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №11 представлена на рисунке А.11. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации оказались практически одинаковыми для изучаемых препаратов. Максимальные значения концентраций для ЛС Метозок составили через 6 ч – 96 нг/мл, а для Беталок ЗОК через 8 ч – 90 нг/мл.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №12 представлена на рисунке А.12. Через 6 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 139 нг/мл для препарата Метозок и 105 нг/мл для Беталок ЗОК. Несмотря на некоторые отличия концентраций во временные точки общий тренд фармакокинетических кривых исследуемых препаратов оказался схожим.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №13 представлена на рисунке А.13. Через 5 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 74 нг/мл для ЛС Метозок и 96 нг/мл для Беталок ЗОК. Во временном интервале 4-6 ч концентрации отличаются максимум до 20 нг/мл, однако в другие временные точки отличие незначительно.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №14 представлена на рисунке А.14. Через 8 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 112 нг/мл для препарата Метозок и 114 нг/мл для Беталок ЗОК. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации оказались практически одинаковыми для изучаемых препаратов.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №15 представлена на рисунке А.15. Максимальные значения концентраций для ЛС Метозок составили через 6 ч – 53 нг/мл, а для Беталок ЗОК через 5 ч составили 59 нг/мл. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации изучаемых препаратов имели схожий тренд.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №16 представлена на рисунке А.16. Максимальные значения концентраций для ЛС Метозок составили 91 нг/мл через 5 ч и через 4 ч 85 нг/мл для Беталок ЗОК. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации изучаемых препаратов имели одинаковый тренд. За исключением периода 5-6 ч, когда разница концентраций составляла около 25 нг/мл, значения концентрации изучаемых препаратов практически совпадали.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №17 представлена на рисунке А.17. Максимальные значения концентраций метопролола для препарата Беталок ЗОК через 6 ч составили 69 нг/мл, а для Метозок через 8 ч 80 нг/мл. Однако для ЛС Метозок у данного добровольца наблюдается плато на фармакокинетической кривой во временной интервал с 5 до 8 ч (концентрации 78, 79, 80 нг/мл), затем препарат элиминировался со скоростью, характерной для среднего значения по добровольцам.

Динамика концентрации метопролола у добровольца №18 представлена на рисунке А.18. Через 4 ч после дозирования максимальные концентрации метопролола достигли 42 нг/мл для препарата Метозок и 45 нг/мл для Беталок ЗОК. Скорость увеличения концентрации метопролола в крови и элиминации оказались практически одинаковыми для изучаемых препаратов, а фармакокинетические кривые практически совпадают. Низкие концентрации метопролола могут быть вызваны высокой скоростью метаболизма действующего вещества у данного добровольца.

Общий тренд фармакокинетических кривых добровольцев заключается в постепенном повышении концентрации метопролола к 6 ч, затем постепенным снижением до фармакокинетической точки 12 ч, когда концентрация метопролола у всех добровольцев снижалась до значений около 30 нг/мл.

Динамика концентраций метопролола после приема препаратов Метозок и Беталок ЗОК у 18 добровольцев приведены на рисунках 4.2 – 4.3. Так как для расчета параметров фармакокинетического профиля исследуемых препаратов использовать полученные графики затруднительно, то была вычислена

усредненная динамика концентрации метопролола и построены кривые фармакокинетической зависимости в линейных координатах и полулогарифмических координатах (рисунки 4.4 – 4.5).

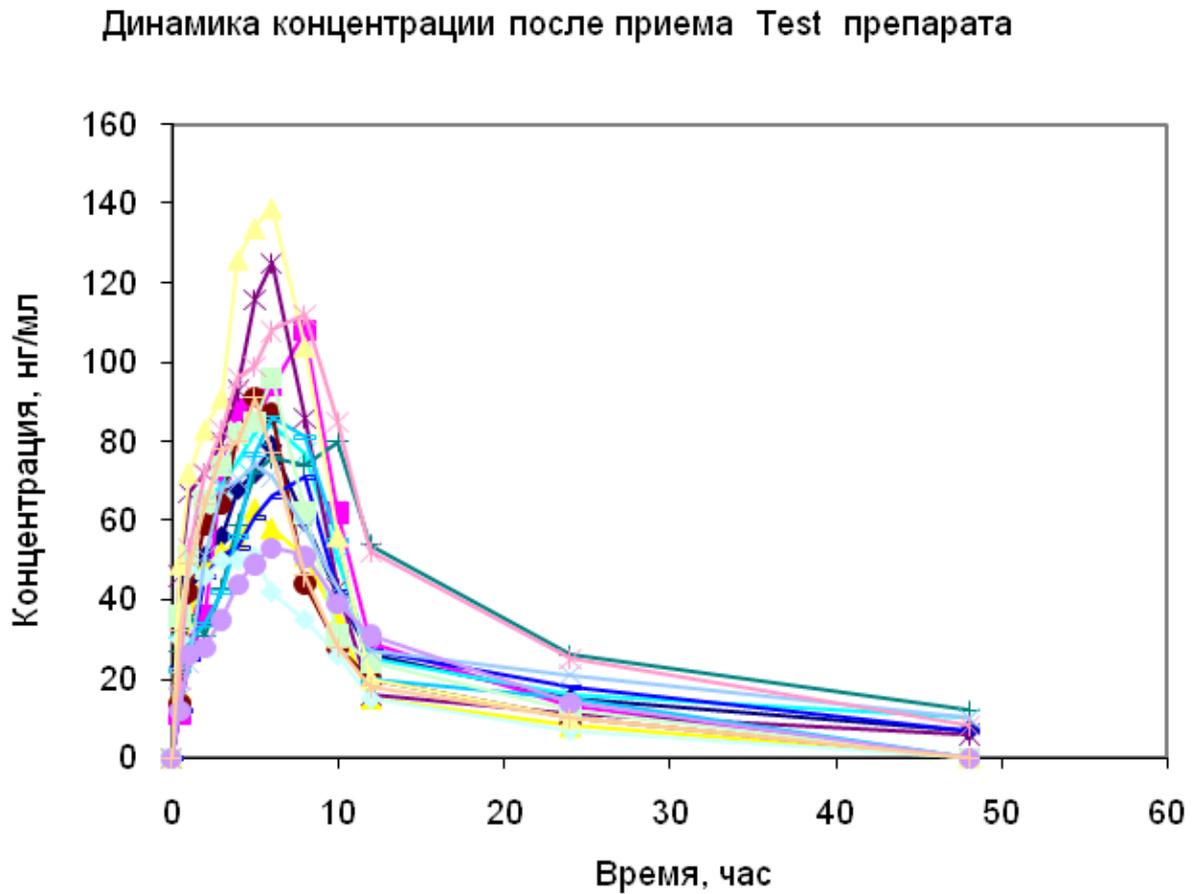


Рисунок 4.2 – Динамика концентрации метопролола у 18 добровольцев (Test – Метозок)

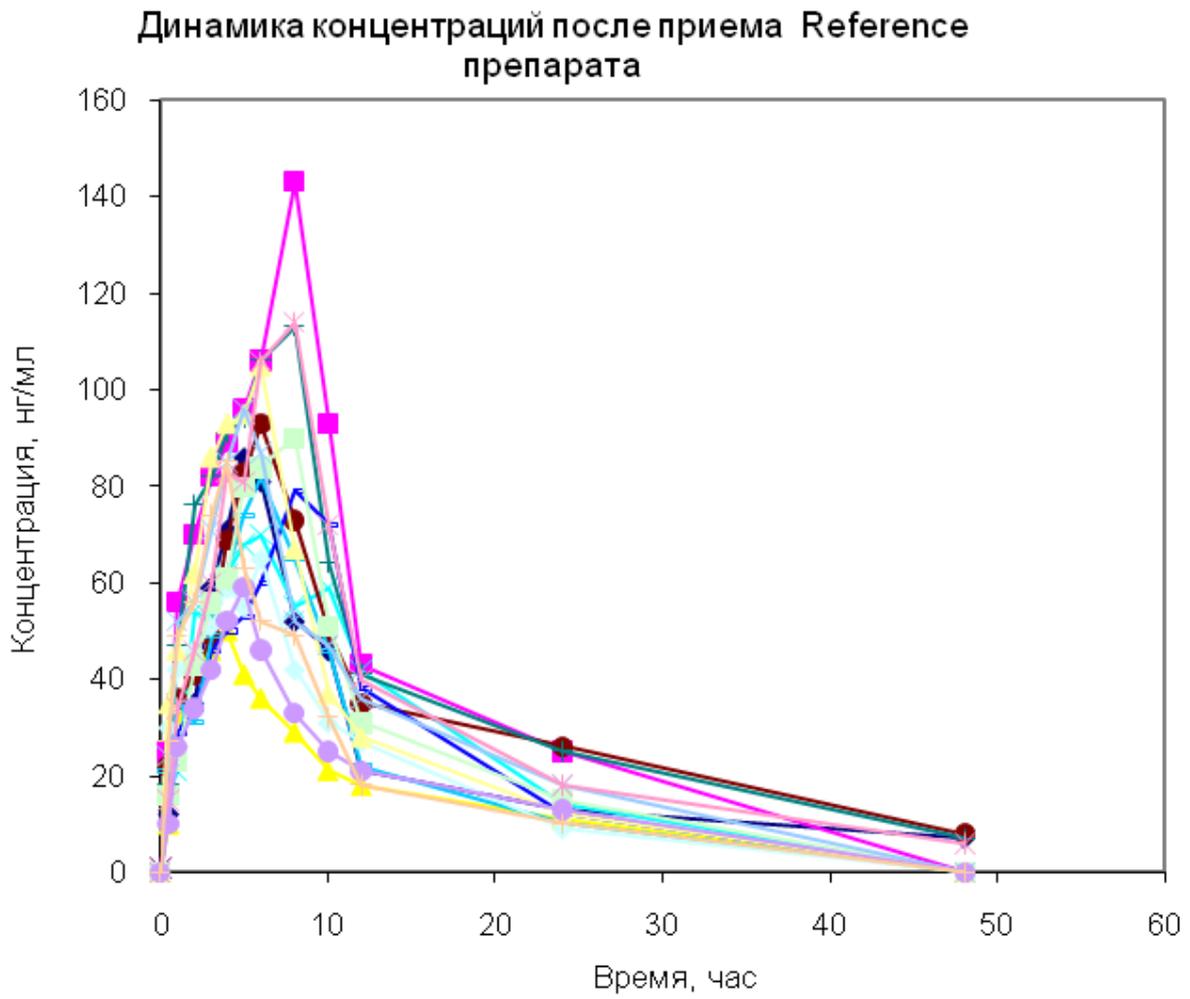


Рисунок 4.3 – Динамика концентрации метопролола у 18 добровольцев (Reference – Беталок ЗОК)

в линейных координатах

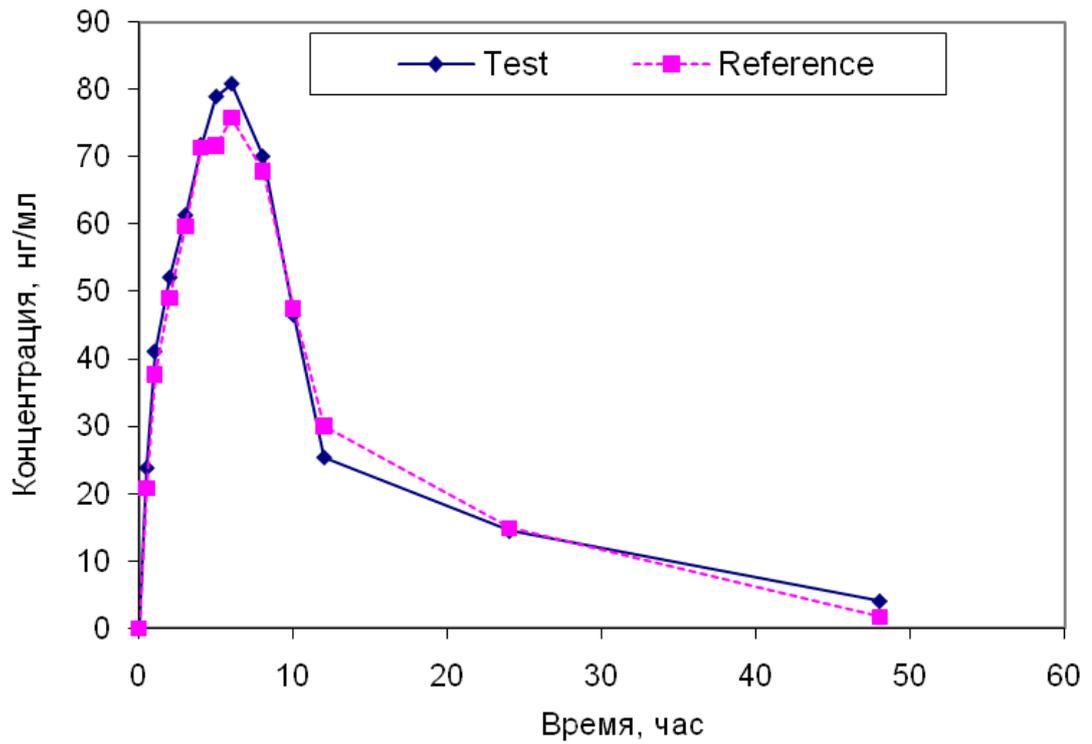


Рисунок 4.4 – Усредненная динамика концентрации метопролола в линейных координатах (Reference – Беталок ЗОК, Test – Метозок)

в полулогарифмических координатах

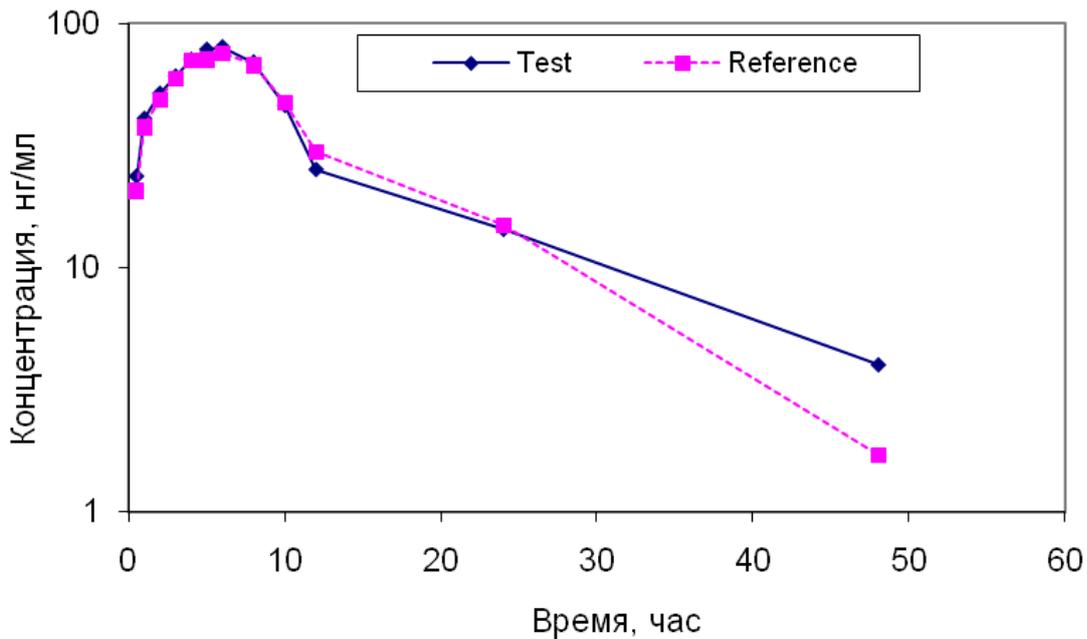


Рисунок 4.5 – Усредненная динамика концентрации метопролола в полулогарифмических координатах (Reference – Беталок ЗОК, Test – Метозок)

Значения концентраций метопролола в плазме крови добровольцев, принимавших препараты Метозок и Беталок ЗОК статистически достоверно не различались. Характер фармакокинетических кривых после приема изучаемых препаратов сходен; индивидуальная вариабельность концентрации метопролола в обоих случаях примерно одинакова. Различия в уровнях метопролола после приема изученных препаратов не носят систематического характера.

Значения концентрации препарата Метозок и Беталок ЗОК составили  $C_{\max}=84,7\pm 25,3$  нг/мл и  $C_{\max}=85,4\pm 24,4$  нг/мл соответственно.

Значения параметров фармакокинетики, характеризующих индивидуальные кривые «концентрация метопролола – время», после приема испытуемого препарата и препарата сравнения статистически достоверно не различались. Значения показателя площадь под кривой «концентрация – время» препарата Метозок и Беталок ЗОК составили  $AUC_{48ч}=1141,2\pm 333,2$  и  $AUC_{48ч}=1126,8\pm 335,7$  нг\*ч/мл соответственно. Средние значения отношения  $C_{\max}/AUC_{48ч}$  оказались сопоставимыми.

Относительная степень всасывания (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 4.14).

Таблица 4.14 – Параметры биоэквивалентности препарата Метозок по отношению к препарату Беталок ЗОК

№ п/п	$f'$	$f''$
1	1.08	0.92
2	0.69	0.76
3	1.11	1.26
4	1.15	1.20
5	0.86	1.34
6	0.97	0.98
7	0.96	0.71
8	1.07	0.90
9	1.13	1.05
10	0.78	0.78
11	0.93	1.07
12	1.17	1.32
13	1.02	0.77
14	1.24	0.98
15	1.17	0.90
16	1.07	1.07
17	1.11	1.16
18	0.92	0.93
<b>Mean</b>	1.02	1.01
<b>SD</b>	0.15	0.19
<b>CV</b>	14	19
<b>Доверительный интервал</b>	0.95	0.91
	1.10	1.10

Относительная биодоступность составила  $1.02 \pm 0.15$  [ДИ 0.95–1.10], а величина отношения максимальных концентраций составила  $1.01 \pm 0.19$  [ДИ 0.91–1.10].

Таким образом, полученный 90%-ный доверительный интервал геометрического среднего, вычисленного для индивидуальных отношений логарифмически преобразованных значений  $AUC_{48ч}$  находится в пределах 0,80 – 1,25, а для величины  $C_{max}$  соответствующие пределы находятся в пределах 0,75 – 1,33, что подтверждает биоэквивалентность в соответствии с методическими указаниями «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008).

Дисперсионный анализ значений  $AUC_{48ч}$ ,  $C_{max}$  и  $C_{max}/AUC_{48ч}$ , проведенный после их логарифмического преобразования, не выявил статистически значимого вклада различий между препаратами в наблюдаемую вариабельность (таблица 4.13). Оценка биоэквивалентности по этим параметрам по критерию Schuirmann'a позволяет сделать вывод о биоэквивалентности воспроизведенного и оригинального препаратов, как по полноте, так и по скорости всасывания.

На основании полученной фармакокинетической зависимости в полулогарифмических координатах были рассчитаны фармакокинетические параметры нового препарата Метозок. Для необходимых расчетов была использована часть фармакокинетической кривой, которая характеризует терминальную фазу элиминации исследуемого препарата. Константа элиминации была рассчитана как тангенс угла наклона участка фармакокинетической кривой к оси абсцисс – она составила  $0,229 \text{ ч}^{-1}$ . Период полувыведения был рассчитан из уравнения, отражающей обратную зависимость данного параметра от константы элиминации – он составил 3,03 ч. Объем распределения метопролола был рассчитан исходя из известных значений дозы препарата (100 мг), константы элиминации и среднего значения  $AUC$  (1141 нг\*ч/мл) – его значение составило 383 л. Исходя из антропометрических данных – средняя масса тела 18 добровольцев составила 75,1 кг – объем распределения составил 5,1 л/кг. Клиренс был рассчитан исходя из полученного значения объема распределения и периода полувыведения – он составил 87,6 л/ч или 1,5 л/мин.

### 4.3 Результаты оценки безопасности метопролола сукцината

Оценка безопасности основывалась на тщательном мониторинге состояния добровольца (физикальное обследование, результаты ЭКГ, лабораторные параметры) и регистрации любых нежелательных явлений 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.

На рисунке 4.6 представлен усредненный график динамики систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) в течение 24 ч после приема исследуемых препаратов. Отсутствие видимых отличий в динамике АД между двумя группами подтверждается статистическим анализом, который не выявил достоверных отличий показателей САД и ДАД в каждой анализируемой временной точке ( $p > 0,05$ ).

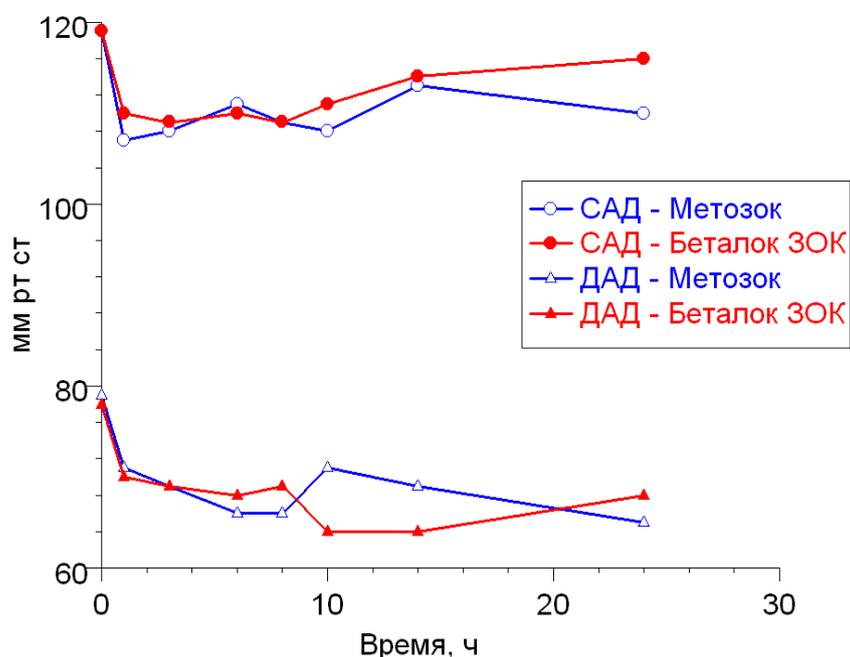


Рисунок 4.6 – Усредненная динамика САД и ДАД после приема исследуемых препаратов Беталок ЗОК и Метозок по 18 добровольцам

На рисунке 4.7 представлен усредненный график динамика пульса в течение 24 ч после приема исследуемых препаратов. Несмотря на видимые отличия,

вызванные выбором масштаба осей координат, статистический анализ с использованием t-критерия Стьюдента не выявил достоверных отличий показателей пульса в каждой из указанных временных точек ( $p > 0,05$ ). Даже на момент максимальной концентрации метопролола в плазме крови через 6 ч несмотря на то, что средние показатели пульса несколько отличаются ( $62,3 \pm 6,7$  для препарата Метозок и  $58,2 \pm 6,1$  для препарата Беталок ЗОК), статистический анализ с использованием критерия Стьюдента не выявил значимых различий эффекта препаратов ( $p > 0.05$ ).

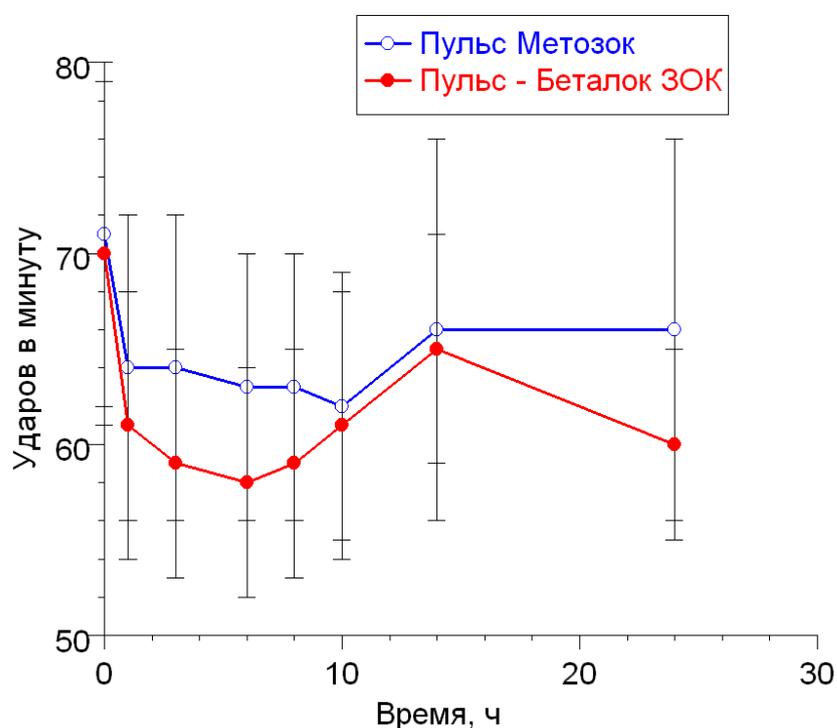


Рисунок 4.7 – Усредненная динамика ЧСС (с указанием стандартного отклонения) после приема препаратов Беталок ЗОК и Метозок по 18 добровольцам

Таким образом установлено, что за весь период наблюдения за действием оригинального препарата Беталок ЗОК и нового отечественного препарата Метозок не было выявлено нежелательных явлений (в том числе серьезных), ключевые фармакодинамические показатели (ЧСС, АД) достоверно не

отличались на протяжении всего периода наблюдения, что свидетельствует о высоком профиле безопасности и хорошей переносимости этих препаратов.

#### 4.4 Заключение

Проведено фармакокинетическое исследование нового отечественного препарата метопролола сукцината. Получены основные показатели биодоступности воспроизведенного препарата Метозок и оригинального препарата Беталок ЗОК, которые составили  $C_{\max}=84,7\pm 25,3$  и  $85,4\pm 24,4$  нг/мл,  $T_{\max}=6,3\pm 1,5$  и  $6,1\pm 1,4$  час,  $AUC_{48ч}=1141,2\pm 333,2$  и  $1126,8\pm 335,7$  нг\*ч/мл соответственно.

Относительная степень всасывания препарата Метозок и соответствующий доверительный интервал составили  $1.02\pm 0.15$  [ДИ 0.95–1.10], а величина отношения максимальных концентраций метопролола после приема испытуемого препарата и препарата сравнения и соответствующий доверительный интервал составили  $1.01\pm 0.19$  [ДИ 0.91–1.10]. Полученные результаты 90% доверительного интервала геометрического среднего, вычисленного для индивидуальных отношений логарифмически преобразованных значений  $AUC_{48ч}$  находятся в пределах 0,80 – 1,25, а для величины  $C_{\max}$  в пределах 0,75 – 1,33, что свидетельствует о фармакокинетической эквивалентности исследуемых препаратов.

На основании полученной фармакокинетической кривой были рассчитаны основные параметры фармакокинетического профиля нового отечественного препарата Метозок 100 мг: средний период полувыведения – 3,0 ч, относительный

объем распределения – 5,1 л/кг, клиренс – 1,5 л/мин, константа элиминации – 0,229 ч<sup>-1</sup>.

Важный фармакокинетический параметр, подтверждающий пролонгированный эффект – продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от  $C_{\max}$  – составил около 5 ч как для оригинального, так и для воспроизведенного препаратов.

В рамках медико-биологического исследования 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 изучаемых препаратов.

## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ IN VITRO

Количественное определение высвободившегося метопролола сукцината для определения сравнительной кинетики растворения было выполнено с использованием фосфатного буфера (рН 6.8) согласно спектрофотометрической методике при длине волны 222 нм, разработанной для теста «Растворение» (рисунок 3.21). Тест сравнительной кинетики высвобождения заключался в определении эквивалентности профилей растворения исследуемых препаратов во временные интервалы через 1, 4, 6, 8, 20 и 24 ч.

Усредненные профили высвобождения метопролола сукцината приведены на рисунке 5.1. Фактор подобия  $f_2$  составил 57,1%, что говорит об эквивалентности in vitro исследуемых ЛС, так как находится в рамках допустимого интервала 50–100%.

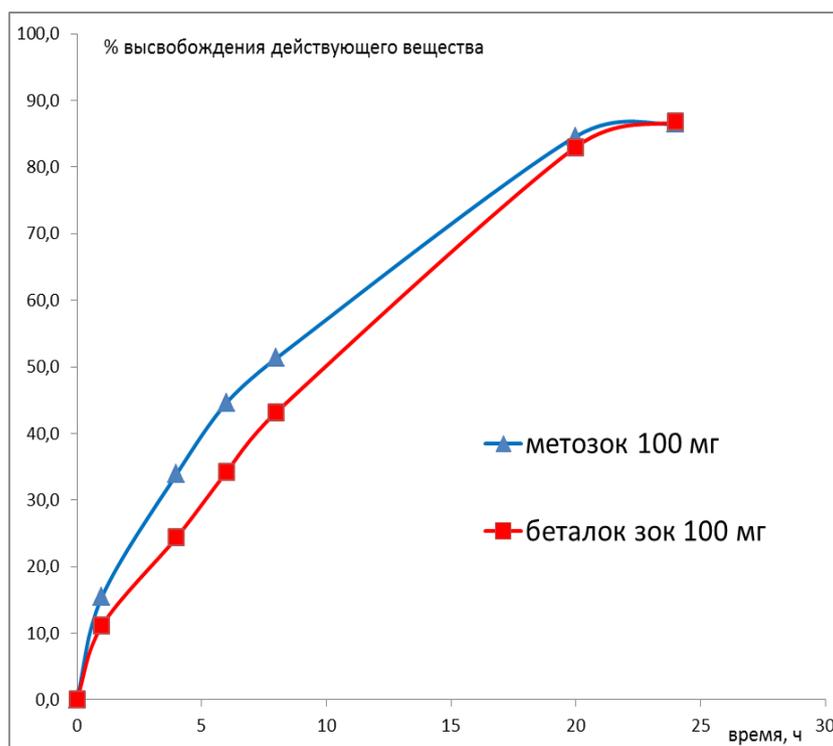


Рисунок 5.1 – Усредненные профили высвобождения метопролола сукцината из исследуемых препаратов в фосфатном буфере (pH=6.8)

При установлении *in vitro/in vivo* корреляции была определена линейная зависимость (рисунок 5.2). Для этого кривую увеличения концентрации метопролола сукцината в плазме подвергали деконволюции согласно однокомпарментной методике массо-баланса по уравнению Wagner-Nelson и рассчитывали долю абсорбированного метопролола сукцината в каждый определенный временной интервал.

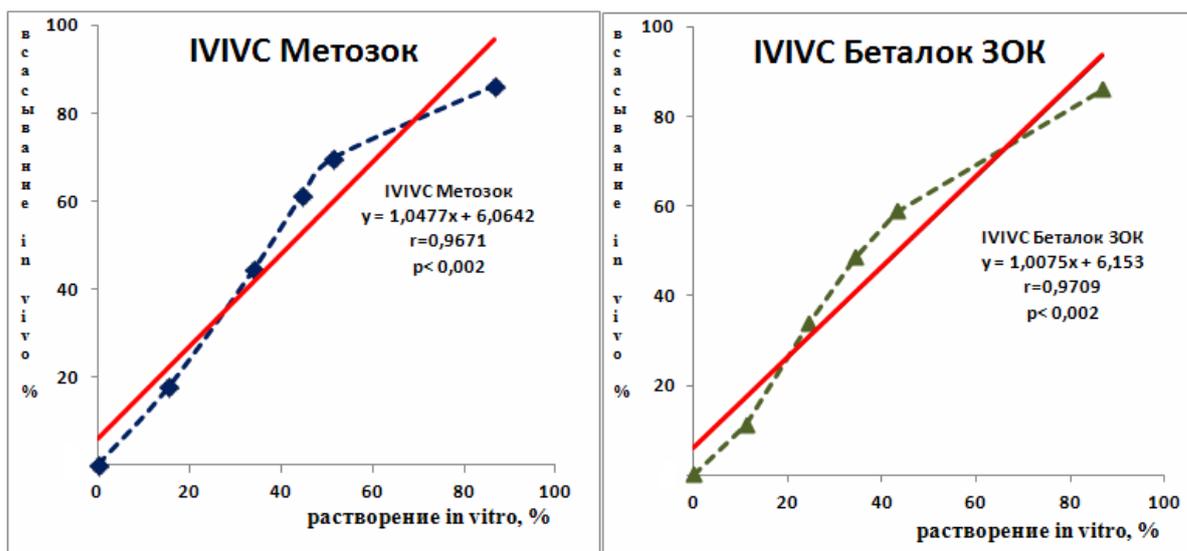


Рисунок 5.2 – In vitro/in vivo корреляция уровня А для ЛС Метозок и Беталок 3ОК

При установлении IVIVC корреляции от точки к точке полученные доли абсорбированного метопролола сукцината соотносили с долями растворенного препарата, полученными в тесте сравнительной кинетики растворения.

При экстраполяции результатов теста сравнительной кинетики растворения для оценки эквивалентности in vitro была подтверждена IVIVC уровня А. На основании полученных результатов построена корреляционная зависимость, где по оси ординат фиксировались значения абсорбированной фракции метопролола – всасывание in vivo (рассчитанные согласно уравнению Wagner-Nelson в те же временные интервалы на основании исследования биоэквивалентности), а по оси координат значения растворения метопролола сукцината – растворение in vitro (рисунок 5.2).

По результатам определения IVIVC для Метозок была определена линейная градуировочная зависимость  $y=1,0477x+6,0642$  (линейный парный коэффициент корреляции  $r=0,967$ ,  $p<0,002$ ).

По результатам определения IVIVC для Беталок 3ОК была определена линейная градуировочная зависимость  $y=1,0075x+6,153$  (линейный парный коэффициент корреляции  $r=0,971$ ,  $p<0,002$ ).

По результатам оценки прогноза корреляции на основании внутренней предсказуемости была подтверждена достоверность прогнозирования корреляционной зависимости. Средняя абсолютная ошибка прогнозирования не превышала установленных нормативных максимальных значений: для показателя  $C_{\max}$  значение составило около 4%, а для индивидуальных концентраций около 3-4%.

Таким образом, для обоих препаратов была определена IVIVC уровня А, позволяющая интерпретировать результаты теста сравнительной кинетики растворения в качестве подтверждения критерия эквивалентности *in vitro*, а следовательно, подтверждения взаимозаменяемости исследуемых препаратов.

### **Заключение**

С помощью проведенных биофармацевтических исследований была установлена эквивалентность *in vitro* таблеток метопролола сукцината Метозок и Беталок ЗОК, а также определена *in vitro/in vivo* корреляция уровня А для таблеток метопролола сукцината Метозок и Беталок ЗОК. Достоверность прогнозирования корреляционной зависимости таблеток метопролола сукцината Метозок и Беталок ЗОК подтверждена на основании внутренней предсказуемости (около 4%). Наличие IVIVC уровня А для таблеток метопролола сукцината позволяет предложить альтернативный подход фармакокинетическим исследованиям для установления взаимозаменяемости препаратов.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема сокращения расходов на лекарственное обеспечение неизменно остается одной из наиболее существенных задач всех стран мира. Одним из наиболее успешных путей экономии является использование более дешевых воспроизведенных препаратов. Однако на пути их безоговорочного применения появляются важные вопросы эффективности и безопасности применяемой фармакотерапии. При этом некоторые исследования фармакоэкономического характера при анализе цены, эффективности и спектра побочных эффектов демонстрируют в ряде случаев значительное преимущество оригинальных препаратов.

В этой связи к качеству и объему информации, предоставляемой производителем о дженерике, должны быть использованы строгие критерии, позволяющие сравнивать воспроизведенный препарат с оригинальным.

Приведенные нами результаты исследований свидетельствуют о всех видах эквивалентности препарата метопролола сукцината Метозок (ОАО «Акрихин», Россия) оригинальному препарату Беталок ЗОК («АстраЗенека», Швеция).

В настоящее время в РФ сложилась практика, при которой публикация результатов изучения фармацевтической эквивалентности и исследований БЭ является не обязательной. В тоже время важную информацию можно подчерпнуть уже из требований дизайна исследования (количество добровольцев, период отмывки и т.д.), выбора использованного препарата сравнения, других условий проведения исследования, выбора метода статистического анализа полученных данных. Так анализ дизайна ряда исследований биоэквивалентности метопролола тартрата, проведенных в РФ за 2007–2012 гг., даже в отсутствии публикаций результатов позволяет подвергнуть критике основные выводы некоторых исследований.

Согласно российскому законодательству для регистрации воспроизведенных препаратов необходимо предоставить досье, включающее в качестве основного вида контроля генерических ЛС результаты исследования БЭ. Согласно методическим указаниям МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) [69] в качестве стандарта возможен выбор как оригинального ЛС, так и его подходящего аналога (если он в свою очередь сравнивался с оригинальным ЛС). Следует отметить, что для метопролола тартрата производители часто в качестве стандарта выбирают не оригинальный зарегистрированный препарат.

Так за последние пять лет лишь в 2010 г. ОАО «Марбиофарм» (Россия) исследовало метопролол 50 и 100 мг собственного производства в сравнении с препаратом Беталок [102, 103].

ОАО «Ирбитский химико-фармацевтический завод» (Россия) для сравнения метопролола 50 мг использовал в качестве стандарта таблетки 50 мг метопролол-ратиофарм («Ратиофарм Гмбх», Германия) – исследование БЭ проведено в 2007 г. [104].

При исследовании БЭ препарат 50 мг Метопролол Органика (ОАО «Органика», Россия) и метопролол 50 мг (ООО «Озон», Россия) сравнивались с Эгилек 50 мг («Эгис», Венгрия) в 2010 и 2009 гг. соответственно [105, 106].

Метопролол 100 мг производства «ФГУП Московский эндокринный завод» (Россия) и метопролол 100 мг ОАО «Биохимик» (Россия) сравнивался с 100 мг Эгилек («Эгис», Венгрия) в 2010 и 2009 г. соответственно [107, 108].

Заслуживает внимание зарубежный опыт проведения исследований БЭ метопролола тартрата, который не ограничивается традиционной лекарственной формой в виде рацемата. В открытом рандомизированном одноцентровом перекрестном исследовании БЭ 50 мг S-метопролола тартрата IR (производства «Emcure Pharmaceutical Ltd.», Pune, Индия) и 100 мг метопролола тартрата – Беталек («Astrazeneca pharma India Ltd.», Индия) лекарственные формы были признаны биоэквивалентными. Руководством данного исследования был документ «Guidance for Industry-Bioavailability and Bioequivalence Studies for

Orally Administered Drug Products – General Consideration US FDA, CDER March 2003». Было включено 24 добровольца мужского пола индийской национальности. Период отмывки составил 7 дней. Прием препаратов осуществлялся натощак в положении сидя, комплаенс определялся осмотром ротовой полости. Забор крови производился до и через 0.25, 0.50, 0.75, 1, 1.25, 1.50, 2, 2.25, 2.50, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 16, 18, 20 и 24 ч после дозирования в 5 мл пробирки Vacutainer, содержащие на внутренней стенке двух замещенную калиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты. Образец плазмы получали центрифугированием при 4000 оборотах в минуту в течение 10 минут при охлаждении до 0-4°C. Хранение плазмы осуществлялось при температуре минус 70±10°C. В качестве аналитического метода была выбрана жидкостная хроматография с тандемным масс-спектром с экстракцией жидкость-жидкость. Линейность метода продемонстрирована при концентрациях от 0.5 до 100 нг/мл. Соотношения  $C_{max}$  и  $AUC_{0-t}$  у исследуемых препаратов оказались равными 98.96 (90% доверительный интервал 87.29 – 112.19%) и 103.38% (90% доверительный интервал 92.46 – 115.59%) соответственно. Значения  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  для препарата сравнения и тестируемого образца составили 50.0 и 53.8 нг/мл, 1.9 и 2.2 часа, 352 и 388 нг/мл\*ч соответственно [208]. Примечательно, что полученные в этом исследовании фармакокинетические результаты значительно отличаются по сравнению с данными ряда других приведенных в литературе исследований метопролола тартрата.

В сложившихся условиях важным является понимание необходимости наличия юридических норм в сфере обращения лекарственных средств. Причиной решительных шагов в данной области помимо необходимости создания оптимальных условий развития фармацевтической отрасли и организации лекарственной обеспеченности населения являются жесткие требования безопасности фармакотерапии.

Одним из первых законов, регулирующих производство генерических препаратов, можно считать закон, принятый в 1938 г. в США [22] – акт о пищевых продуктах, лекарствах и косметических средствах, который также

требовал, чтобы новые лекарства были очищенными и безопасными. Это был ответ на серию из 107 смертей в США после приема новой микстуры сульфаниламида, содержащей в качестве растворителя этиленгликоль [75].

В ответ на талидомидовую трагедию в 1962 г. в США принимается поправка Кефаувера-Харриса к Закону о пищевых продуктах, лекарствах и косметических средствах. Смысл поправок заключался в установлении правил предоставления информации о побочных реакциях и клиническом тестировании новых лекарств.

Во второй половине XX века начинают внедряться этические нормы и правила в практику клинических исследований. Так, в 1964 г. 18-я ассамблея Всемирной медицинской ассоциации приняла Хельсинкскую декларацию «Рекомендации для врачей, занимающихся исследованиями с участием людей» [75].

Норма использования исследования биоэквивалентности в качестве основы досье для регистрации генерических копий лекарств была утверждена в США в 1984 г., известная как закон Хэтча-Ваксмана [234].

В 2011 г. в США появился законопроект Бингамана-Виттера, который позволяет любой фармацевтической компании, успешно оспорившей патент, сразу выйти на рынок со своим дженериком. При этом на рынке могут появиться более одного аналога одновременно, что отменяет закон Хэтча-Ваксмана, по которому первая компания, успешно оспорившая патент, получала право на эксклюзивную продажу своего препарата в течение 180 дней [17].

В качестве мер по ускорению выведения дженериков на фармацевтический рынок США предпринято увеличение финансирования службы генерических препаратов в FDA [44].

В мае 2011 г. FDA выпустило новые указания для производителей, согласно которым необходима подача кратких отчетов по всем проведенным исследованиям БЭ регистрируемого генерического препарата, независимо от того, была ли подтверждена его эквивалентность препарату сравнения [86].

В Европе для поддержки дженериков в 2004 г. директивой 2004/27/ЕС внесены дополнения в Европейский фармкодекс (Директива 2001/83/ЕС) – введена сокращенная процедура регистрации воспроизведенных препаратов, что должно облегчить их ускоренный доступ на фармрынки государств Европейского союза [39].

Особую роль в европейской регуляторной системе играют децентрализованная процедура и взаимное признание, к которым производители дженериков прибегают гораздо чаще, чем к более сложной и затратной централизованной процедуре, что ежегодно увеличивает количество заявок на регистрацию дженериков, и на фармрынок выходит все больше генерических продуктов [39].

Становление и развитие службы регулирования качества лекарств в России можно вести от Циркуляра Наркомздрава СССР от 2.04.1923 №72, который ввел обязательность регистрации ЛС. В 1924 г. была введена обязательная проверка всех ЛС, поступающих на аптечные склады, а Государственный реестр ЛС был составлен в 1937 г.

В 1951 г. для новых медицинских препаратов и лекарственных форм была введена необходимость проведения клинических испытаний, а позже в 1967 г. «Требования к документации, предоставляемой для получения разрешения на проведение клинического изучения новых лекарственных средств» [159]. В 1986 г. требования к объему документации для получения разрешения на клинические исследования были дифференцированы в зависимости от типа ЛС [159].

Сложившееся состояние фармацевтического рынка РФ не раз подвергалось критике как со стороны экспертов и специалистов, так и со стороны государственных чиновников. Несмотря на то, что принятие конкретных мер (например, переход на стандарты GMP) не раз переносилось и откладывалось, в настоящее время разработаны и активно внедряются алгоритмы модернизации.

Одним из долгожданных событий является завершение процесса вступления России во Всемирную торговую организацию (ВТО), которое продолжалось 18 лет и завершилось только в августе 2012 г. Прогноз развития

российской фармацевтической отрасли в связи с вступлением России в ВТО на данный момент трудно однозначно оценить. С одной стороны будет происходить снижение пошлин на импортные лекарства в несколько раз, что будет стимулировать увеличение импорта, в том числе воспроизведенных препаратов зарубежных производителей, но в тоже время в отношении дженериков начнет работать юридическая норма защиты эксклюзивности данных [144]. Указанная норма запрещает в течение 6 лет с момента регистрации оригинального лекарственного препарата осуществлять регистрацию дженериков, ссылаясь на данные доклинических и клинических исследований референтного препарата [144].

В период проведения диссертационного исследования, в частности исследования по БЭ, регуляция фармацевтического рынка дженериков в РФ регламентировалась следующими документами: Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 №61-ФЗ; Национальным стандартом РФ «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005); Методическими указаниями МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) [88].

Практика мирового законодательства в области фармации характеризуется определенной лабильностью. Тенденция поддержки разработки новых лекарственных препаратов и их патентной защиты в последнее время дополняется целым рядом норм, поддерживающих развитие производства дженериков и увеличения их доступности для населения. Это способствует повышенному вниманию в области регулирования проведения исследований биоэквивалентности – совершенствуются методологические подходы, учитываются последние научные достижения в области статистики и доказательной медицины.

Рекомендации и указания по проведению исследований БЭ продолжают периодически обновляться и пересматриваться, однако в разных странах это происходит с разной частотой [86-88]. Последняя версия рекомендаций ВОЗ по подтверждению взаимозаменяемости оригинальных и воспроизведенных ЛС,

вышедшей в 2005 г. [213], в целом предъявляет требования схожие с таковыми в отечественных руководствах.

Требования о включении данных по исследованиям биоэквивалентности в досье, представляемое для регистрации препаратов-дженериков, были приняты в РФ в 1992 г.

Первые методические указания РФ по проведению исследований БЭ были изданы в 1995 г. – «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств» [149]. Затем они периодически пересматривались – 1998, 2001, 2004, 2008 г. – Методические указания МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» [88,69]. Последняя редакция была издана в 2011 г., т.е. уже после проведения клинической части исследования биоэквивалентности в рамках диссертационной работы [70].

Интересно отметить, что только в редакции 2004 г. была прописана норма, по которой препаратом сравнения должен служить соответствующий оригинальный препарат, зарегистрированный в России [23], в то время как в других редакциях допускается сравнение с наиболее широко используемым аналогом.

Согласно методическим указаниям 1995 г. гипотеза биоэквивалентности принималась, если при  $p > 0,95$  двусторонний доверительный интервал для средних значений  $f'$  (отношения  $AUC_t$ ) или  $f$  (отношение  $AUC_\infty$ ) и  $f'$  находился в пределах 80–120% или средние значения  $f'$  или  $f$  находились в пределах 90–110%, а средняя величина  $f''$  (отношение  $C_{max}$ ) – в пределах 85–115% [149]. Затем норма была изменена на 80–125% для  $f$  и  $f'$ . В 2001 г. для  $f''$  был установлен интервал 70–143% [68]. В последующих редакциях документа  $f''$  и  $C_{max}/AUC_t$  ( $C_{max}/AUC_\infty$ ) нормировались в пределах 75–133% [23,88,69].

Согласно редакции 2011 г. нормы биоэквивалентности ужесточились и доверительные интервалы отношений средних величин фармакокинетических параметров  $f$ ,  $f'$ ,  $f''$  должны укладываться в 80–125%, а в случае узкого терапевтического индекса препарата – 90–110%. Однако при высокой внутрииндивидуальной вариабельности (коэффициент вариации более 30)

используется таблица аналогичная зарубежным рекомендациям, расширяющая доверительный интервал для значения соотношений максимальных концентраций до 70–143% (если коэффициент вариации более 50) [70].

В тоже время такой параметр как интервал времени между приемами препаратов изначально был утвержден на уровне не менее 6 периодов полувыведения [140,25,76] и не менялся вплоть до 2011 г. – 5 периодов полувыведения [70].

Минимальное количество добровольцев регламентировалось равным 18 человек, но точное количество определялось на основании данных о вариабельности фармакокинетических параметров [69]. Данный параметр, как и ряд других требований, соответствует рекомендациям нормативных документов ВОЗ. Так, например, согласно ВОЗ общее число добровольцев должно составлять от 12 до 24 человек [71]. В рекомендациях РФ 2011 г. минимальное количество добровольцев было снижено до 12 человек, а также отменена верхняя граница возраста [70].

В отличие от отечественной практики ВОЗ регламентирует исследования БЭ по двум типам: «натощак» и «после приема пищи» – таким образом, учитывается важный параметр влияния приема пищи на биодоступность и биоэквивалентность ЛС [87]. Только в рекомендациях 2011 г. возможность исследования после приема пищи регламентируется при наличии соответствующих указаний в инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата [70].

В документе FDA существует понятие «пилотное исследование», которое может быть проведено с небольшим числом испытуемых перед проведением полного исследования БЭ – данное исследование используется для валидации аналитических методик или определения вариабельности [164].

В отношении оценки биоэквивалентности препаратов с высокой индивидуальной вариабельностью фармакокинетических параметров (более 30%), FDA предлагает перекрестный дизайн исследования, включающий три периода,

из которых препарат сравнения применяется дважды согласно плану рандомизации: TRR, RTR, RRT (T – test, R – reference) [192].

Некоторыми особенностями характеризуются нормативные документы по БЭ в Канаде: регламентируется проведение слепого исследования, когда ни волонтеры, ни персонал исследовательского центра не знают какой препарат (тест или референс) применялся в данном периоде исследования [189]. Период отмывки также отличается от норм других руководств: он несколько больше и составляет 10 периодов полувыведения ЛС (но не более 3–4 недель) [189].

Следует указать, что в целом ряде стран также существуют некоторые специфические особенности проведения исследований БЭ [87,234,190].

Так руководство в Саудовской Аравии регламентирует статистически учитывать эффект влияния пола и менструального цикла в случае, если включаются женщины, а в Мексике в исследование БЭ должны включаться добровольцы одного пола [234].

Если в разных странах возраст добровольцев допускается от 18 до 55 лет, то в Китае верхняя граница ограничивается 40 годами, а разница в возрасте между волонтерами в группе не должна превышать 10 лет [234].

В разных документах несколько отличаются требования к диете. При исследовании натощак большинство руководств указывает интервал в 10 часов до дозирования [87, 234, 190]. За рубежом регламентируется прием пищи не ранее, чем через 4 часа после приема исследуемого препарата [234]. Если в отечественных рекомендациях 1995 г. стандартный завтрак допускался через 2 часа после начала исследования, то в редакции 2011 г. интервал увеличен до 3-4 ч [70, 149].

В случае исследования с пищей зарубежные рекомендации регламентируют время, за которое следует принять пищу и когда принять препарат. В Европе, Австралии и США указывается, что дозирование должно произойти через 30 мин от начала приема пищи, которая за указанный временной интервал должна быть употреблена целиком [234]. В Канаде пищевой стандартизированный рацион должен повторяться в каждый день исследования [234].

В отношении объема жидкости, необходимой для приема исследуемого препарата, указываются различные значения: 150 мл (Европа), 200 мл (Россия, 2008 [69]), 240 мл (США, Южная Корея), 250 мл (Мексика) воды. В отличие от прошлых версий отечественных требований в зарубежных руководствах регламентируются сроки приема жидкости по отношению к дозированию – 1 час до и после приема исследуемого препарата [87,234,190]. Следует отметить, что в рекомендациях 2011 г. объем разрешенной жидкости в РФ сокращен до 150 мл кипяченой воды, а также введен запрет на прием жидкости в течение 1 часа до и после приема исследуемых препаратов [70].

Таким образом, помимо окончательного заключения о биоэквивалентности препаратов, в настоящее время важную информацию несет непосредственно отчет по проведенному исследованию и ссылка на нормативный документ, согласно которому оно было проведено. Однако сложившаяся практика не предусматривает публикацию подобных отчетов, а специальная периодическая литература не отражает опыт исследований БЭ. Подробное описание полученных результатов позволяет не только подтвердить адекватность условий проведения исследования, а также отразить дополнительные характеристики сравниваемого препарата, в том числе, такие как индивидуальный профиль фармакокинетики, безопасности и переносимости. В медицинском сообществе назрела острая необходимость в доступности таких данных и активного обсуждения результатов подобных исследований.

В отечественных публикациях при обсуждении качества препарата-дженерика встречается термин «терапевтическая взаимозаменяемость», предложенный А.П. Мешковским. Также встречается термин клиническая эквивалентность в рамках сравнительного клинического исследования оригинального и воспроизведенного препаратов на популяции пациентов. Следует указать, что использование таких терминов неоднозначно и не закреплено законодательно, а их употребление в профессиональной периодической литературе по сути подразумевает терапевтическую эквивалентность дженериков, так как определяется идентичность эффективности

и безопасности в условиях клинического исследования [19,127,202]. Многочисленные попытки фактически предложить изучение клинической эквивалентности вместо биоэквивалентности требуют дальнейшего обсуждения.

Так в новой редакции №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (2010) впервые появляется определение термина терапевтической эквивалентности: «вид клинического исследования лекарственных препаратов, проведение которого осуществляется для выявления одинаковых свойств лекарственных препаратов определенной лекарственной формы, а также наличия одинаковых показателей безопасности и эффективности лекарственных препаратов, одинаковых клинических эффектов при их применении» [147]. Таким образом, с одной стороны терапевтическая эквивалентность дженериков с подтвержденной биоэквивалентностью не оспаривается. С другой стороны, не запрещается сравнивать в исследованиях терапевтической эквивалентности небиоэквивалентные препараты.

Указанная особенность противоречит практике FDA, согласно которой терапевтическая эквивалентность изучается для безопасных, эффективных, подтвердивших фармацевтическую и биологическую эквивалентность препаратов, произведенных согласно требованиям GMP (Good manufacturing practice – надлежащая производственная практика) [48].

Процессы совершенствования и гармонизации требований и особенностей проведения исследований биоэквивалентности далеки от завершения. Однако и настоящая методологическая база позволяет с достаточным уровнем достоверности дать оценку воспроизведенному лекарственному препарату.

Выбранный в диссертационной работе дизайн исследования БЭ является оптимальным подходом, согласующимся с международным опытом регистрации метопролола сукцината. Так FDA чаще требует проводить исследования с однократным приемом изучаемых препаратов, чем с многократным, так как при таком режиме дозирования достигается большая чувствительность для регистрации возможных отличий между препаратами [192]. Включение 18 добровольцев обеспечивает необходимую статистическую мощность

исследования и соответствует экспериментальной задаче выявления фармакокинетических различий с учетом коэффициента вариации данных параметров и соотношения генеральных средних показателей сравнения исследуемых препаратов. Для исследований БЭ обычно используется максимальная из регистрируемых дозировок, если более низкая не показана по соображениям безопасности [192]. В отношении кардиологического препарата метопролола сукцината существуют ряд этических и медицинских аспектов, ограничивающих использование высокой терапевтической дозировки (200 мг) на здоровых добровольцах в РФ, где население относится к популяции медленных метаболизаторов (аллель дикого типа изофермента CYP2D6). Фенотипирование добровольцев по данному аллелю и определение генотипов «медленного» и «быстрого» метаболизма не производилось с учетом специфики перекрестного дизайна. В новой редакции 2011 г. отечественных рекомендаций проведения исследования БЭ [70] данная процедура стала необходимой для параллельного дизайна. Таким образом, наиболее оптимальной дозировкой для исследования БЭ с учетом безопасности, индивидуальной вариабельности фармакокинетических параметров и коэффициента флуктуации, а также этических аспектов исследования, является дозировка 100 мг метопролола.

Достоверность доказательства отсутствия различий препаратов подтверждается не только адекватным планированием исследования, но и необходимой мощностью статистического критерия – допустимыми различиями при построении 90% доверительного интервала при парном одностороннем тесте значимости. Согласно экспертному медицинскому мнению и накопленному международному практическому опыту регуляторных органов вариация концентрации лекарственного вещества в плазме крови около 20% не приводит к клинически значимым отличиям эффективности препарата [70].

Изучение С.Ю. Марцевичем и соавт. [136] безопасности и эффективности метопролола тартрата Эгилор ретард («Эгис», Венгрия) и метопролола сукцината Беталок ЗОК с использованием открытого перекрестного рандомизированного дизайна было проведено у 30 больных артериальной гипертонией. В

лекарственной форме Эгилек ретард использована система контролируемого и длительного высвобождения лекарственного вещества (CD/ERT – Controlled Delivery/Extended Release Tablets). Длительность поочередного применения составляла 6 недель, дозы – 50-100 мг один раз в сутки, перерыв между двумя фазами исследования – 10-14 дней. После 6-недельной терапии препаратами Эгилек ретард и Беталек ЗОК систолическое артериальное давление снизилось на 15,7 и 15,2 мм рт. ст. соответственно, диастолическое артериальное давление – на 8,0 и 4,5 мм рт. ст., частота сердечных сокращений – на 4,1 и 4,3 в минуту. Различия эффекта двух препаратов оказались недостоверными. Целевого артериального давления удалось достичь у 56 и 48% больных, получавших Эгилек ретард и Беталек ЗОК соответственно. Частота нежелательных явлений была выше при лечении метопролола сукцинатом ( $p=0,003$ ), все они были несерьезными [14,136,80].

Важно отметить, что метопролол не относится к препаратам с узким терапевтическим диапазоном. В тоже время предусмотренный тщательный мониторинг безопасности в период исследования позволяет зарегистрировать нежелательные явления, ассоциированные с приемом препарата. В рамках проведенного исследования была продемонстрирована биоэквивалентность изучаемых препаратов, так как все средние значения фармакокинетических параметров и их 90% доверительные интервалы находятся внутри общепринятого диапазона 80–125%, а нежелательные явления не возникали. Полученные параметры биоэквивалентности позволили зарегистрировать препарат Метозек в качестве лекарственного средства на территории РФ. Согласно международному опыту и общепринятой терминологии это равнозначно определению терапевтической эквивалентности или взаимозаменяемости.

Важность полученных данных подтверждается описанным в литературе примером неудачного опыта сравнительного исследования метопролола сукцината. В исследовании [132,133] двух лекарственных форм метопролола сравнивался пролонгированный метопролол тартрат – Эмзек («Галеника», Чешская Республика) в таблетках по 50 мг, а в качестве препарата сравнения был

избран метопролол сукцинат с модифицированным высвобождением – Беталок ЗОК («АстраЗенека», Швеция) в таблетках по 50 мг. Исследование проводилось согласно требованиям, указанным в действующих на момент исследования методических рекомендациях по проведению исследований БЭ в РФ 2002 г.

Исследование было рандомизированным, двойным перекрестным, основанным на однократном приеме дозы препарата 18 здоровыми добровольцами с периодом отмывки 7 дней. Исследование было открытым, однако аналитическая группа была заслеплена.

Пробы крови отбирали до и через 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24 и 48 ч после приема препарата. Из крови готовили сыворотку стандартным способом и определяли концентрацию метопролола обращенно-фазной ВЭЖХ с флуоресцентной детекцией. Относительная ошибка определения составила 8,79% при концентрации препарата 15 нг/мл.

Для метопролола определяли также соотношение  $C_{\max}/AUC$ , величины MRT (среднее резидентное время) и VRT (дисперсия среднего резидентного времени). AUC,  $C_{\max}$ , MRT и  $C_{\max}/AUC$  сравнивали методом вариационного анализа ANOVA. Были подсчитаны 90% доверительные интервалы. Все тесты и сравнения оценивали при уровне достоверности 95% ( $p \leq 0,05$ ).

Средние значения фармакокинетических параметров метопролола после однократного перорального приема таблеток 50 мг препарата Эмзок (тест) и препарата Беталок ЗОК (стандарт) составили  $T_{\max} = 4,60 \pm 1,24$  и  $8,10 \pm 1,61$  ч,  $C_{\max} = 18,20 \pm 2,99$  и  $10,40 \pm 2,19$  нг/мл,  $MRT = 15,65 \pm 0,82$  и  $20,05 \pm 1,26$  ч,  $AUC_{0-48} = 277,6 \pm 53,8$  и  $249,4 \pm 53,9$  нг\*ч/мл.

Для параметров сравнения  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ , MRT, VRT,  $C_{\max}/AUC$  нулевая гипотеза, согласно которой генеральные средние для этих параметров равны между собой, была отвергнута на уровне значимости  $p < 0,01$ .

На основании приведенных данных делается заключение о несовпадении основных фармакокинетических параметров метопролола при применении таблеток Беталок ЗОК и Эмзок – небиеэквивалентности указанных лекарственных форм. Данные результаты позволяют утверждать, что препарат Беталок ЗОК

(метопролола сукцинат) обладает лучшими фармакокинетическими характеристиками, обеспечивающими более надежное достижение стационарного уровня концентрации метопролола в крови (отчетливое плато на фармакокинетической кривой). Препарат Эмзок (метопролола тартрат) значительно быстрее высвобождается из лекарственной формы, и уровень максимальной концентрации метопролола при его применении существенно выше, чем при использовании таблеток Беталок ЗОК. Также быстрее Эмзок выводится из организма. Таким образом, Беталок ЗОК и Эмзок не могут рассматриваться как взаимозаменяемые лекарственные препараты, Эмзок должен дозироваться 2 раза в сутки [125,126].

Однако стоит отметить некоторые ограничения данного исследования. Исследуемые препараты принимались добровольцами «утром во время завтрака» [132,133], что нарушает методические рекомендации по проведению исследований по биоэквивалентности в РФ (2002). Следует обратить внимание, что препараты не являются фармацевтически эквивалентными: метопролол сукцинат и тартрат являются фармацевтическими аналогами. Не исключено, что в данном случае прием пищи добровольцами дополнительно воздействовал на степень набухания вспомогательных веществ оболочки и эрозии таблетки за счет перистальтики желудка, частиц пищи или кислого содержимого желудка, что привело к усилению высвобождения метопролола из таблеток Эмзок. В тоже время прием пищи не влияет на биодоступность таблеток Беталок ЗОК [35]. Следует отметить, что с 2007 г. регистрационное удостоверение препарата Эмзок недействительно, и он отсутствует в продаже.

В медицинском сообществе РФ существует убеждение, что определение биоэквивалентности не для всех дженериков гарантирует терапевтическую эквивалентность, требующей проведения дополнительного сравнительного рандомизированного клинического исследования, характеризующимся небольшим объемом участников, перекрестным дизайном и учетом суррогатных точек. В рамках оценки эффективности препарата с позиции доказательной медицины подвергается сомнению доктрина, указывающая врачу на идентичность

зарегистрированного дженерика оригинальному препарату. В рекомендациях РФ по рациональной фармакотерапии больных сердечно-сосудистыми заболеваниями (2009) указываются такие недостатки испытаний БЭ, как отсутствие определения качества наполнителя, анализа содержания токсических примесей и продуктов деградации в лекарственной форме дженерика. Активно обсуждается проблема недоступности и отсутствия как таковых данных по биоэквивалентности дженериков, а также подвергается критике понятие биоэквивалентности и ее критерии [19].

В публикациях можно обнаружить предположения существенных различий в терапевтической эквивалентности при доказанной биоэквивалентности: потенциально возможная разница в фармакокинетики у здоровых добровольцев по сравнению с больными, фармакокинетические отличия при исследовании разовых доз вместо многократных, отсутствие определения возможных активных метаболитов, а также, что при исследовании БЭ «не определяют наличие наполнителей и примесей» [152].

Если проблема публикации результатов исследования биоэквивалентности и факты ее фальсификации не вызывает сомнений, то последующая критика биоэквивалентности как этапа в системе экспертной оценки дженерика требует более внимательного отношения. Понятие биоэквивалентности нельзя назвать условным как раз по причине достаточно четко прописанных и зафиксированных законодательно критериев. В настоящее время в большинстве стран мира (как развитых, так и развивающихся) приняты единые критерии для оценки фармакокинетических параметров и их доверительных интервалов, в том числе для отношений максимальных концентраций и площади под экспериментальной кривой концентрация – время. Так в РФ уже более десяти лет для отношений площади кривой концентрация-время критерии остаются неизменными и составляют 80–125%. Однако для соотношений  $C_{max}$  действительно прослеживается череда пересмотров критериев, но, по крайней мере, в сторону ужесточения [70]. В тоже время спекуляция по поводу более мягких критериев (70–143%) в некоторых европейских странах [38] не выдерживает критики –

указанные границы относятся исключительно к высоковариабельным лекарственным препаратам при коэффициенте вариации не менее 50, а в случае коэффициента вариации менее 30 используется стандартный критерий 80–125%. Авторитетные эксперты, в том числе из FDA, полагают, что терапевтическое действие активного ингредиента одинаково у воспроизведенного и оригинального препаратов, а утвержденные границы эквивалентности являются допустимыми для поддержания клинически незначимой разницы в эффективности [70].

Также следует указать, что при доказанной фармацевтической эквивалентности, исследуемые лекарственные препараты первоначально находятся в равных условиях в исследовании БЭ: оба препарата одинаково назначаются здоровым добровольцам согласно схеме рандомизации; активные метаболиты будут идентичными, так как активное вещество на молекулярном уровне остается таким же соединением как у оригинального препарата. Необходимо подчеркнуть, что определение «наполнителей» не является задачей исследования БЭ, так как на этапе анализа качества все вспомогательные вещества были определены и изучены, в том числе на предмет возможной фармакологической и токсикологической активности.

В тоже время согласно европейским рекомендациям терапевтическая эквивалентность может быть подтверждена даже в тех случаях, когда обнаруженная разная скорость всасывания не является клинически значимой [207].

Согласно рекомендациям по рациональной фармакотерапии больных сердечно-сосудистыми заболеваниями предполагается, что «первые несколько дженериков, появившихся на рынке, обладают неплохим качеством» [19]. Также длительное присутствие на рынке дженерика может способствовать высокому доверию врача. Следует подчеркнуть, что качество даже в условиях жесткого государственного регулирования и наличия «добросовестных» практик (GxP) понятие динамичное и определяется для конкретной серии или партии готового лекарственного препарата.

Проблема анализа качества лекарственного препарата является первоочередной для планирования и одобрения исследования биоэквивалентности. Существующая нормативная база не позволяет использовать не разрешенные к медицинскому применению вспомогательные вещества и четко нормирует количество примесей в готовой лекарственной форме. На этапе определения фармацевтической эквивалентности должны выявляться возможные ошибки разработки воспроизведенного лекарственного средства, отражающихся на показателях качества: содержание действующего вещества, кинетика его высвобождения, количество примесей и т.д. В этом состоит задача фармацевтической индустрии: активно разрабатывать и обновлять отечественную нормативную документацию, в первую очередь Государственную фармакопею и, безусловно, жестко следить за ее соблюдением. Отсутствие частных фармакопейных статей на лекарственные препараты, как и отлаженной работы системы контроля качества (контрольно-аналитических лабораторий) на государственном уровне нивелирует возможности воспрепятствовать продвижению на фармацевтический рынок некачественных препаратов. Данный этап также является незаменимой частью системы экспертных оценок воспроизведенных препаратов.

Согласно рекомендациям по рациональной фармакотерапии больных сердечно-сосудистыми заболеваниями (2009) поддерживается активное распространение максимального объема информации о результатах доклинических испытаний новых дженериков среди врачей [19]. Однако данная практика не может привести к решению проблемы врачей при выборе лекарственного препарата. Определенная путаница возникает уже по вопросу, что входит в понятие доклиники: согласно №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» включается физико-химическое исследование лекарственного средства (фармацевтическая эквивалентность), а по ГОСТ Р 2005 «Надлежащая клиническая практика» в раздел брошюры исследователя «доклинические исследования» входят фармакологические свойства, токсичность и фармакокинетика, изученные на животных.

Согласно действующим рекомендациям доклинические исследования дженериков подразумевают в основном изучение острой и хронической токсичности, местнораздражающего и алергизирующего действия на животных (мыши, крысы). Изучаются токсические дозы, которые с учетом приблизительных коэффициентов могут быть экстраполированы на человека. Представляется необходимым наличие свободного доступа для практикующего врача к сводным таблицам по результатам исследований БЭ и фармакокинетическому профилю дженериков.

В ходе проведенного исследования были получены основные параметры фармакокинетического профиля нового отечественного препарата, которые могут быть использованы при расчете индивидуального режима дозирования препарата Метозок.

При необходимости рассчитанные параметры могут стать основой для дополнительного этапа оценки качества воспроизведенного препарата – в клинических исследованиях по подтверждению терапевтической эквивалентности. Однако обоснованность данного этапа требует отдельной дискуссии. Согласно рекомендациям по рациональной фармакотерапии больных сердечно-сосудистыми заболеваниями в данном случае рекомендуется перекрестное исследование. Перед каждым этапом лечения предусматривается двух недельный отмывочный период без терапии, а во время лечения допускается титрация дозы исследуемых препаратов и добавление сопутствующей терапии [19].

Необходимо отметить, что указанный дизайн является не совершенным с точки зрения этики, клинической практики ведения больных, а также рекомендаций и стандартов лечения. Так периоды полной отмены гипотензивной терапии и новый подбор оптимальной комбинации лекарственных препаратов в целом не лучшим образом сказываются на стабильности состояния больных, ставших участниками такого исследования. Стандарты назначения бета-адреноблокатора, отмена и его повторное назначение требуют соблюдения алгоритма постепенной изменения дозы.

В условиях присутствия на фармацевтическом рынке РФ в среднем десятка дженериков на один, например, оригинальный кардиологический препарат этические аспекты выходят на первый план. Зарубежный опыт характеризуется иными схемами проведения такого рода исследований – использование параллельного дизайна, согласно которому требуется включение достаточно большого количества пациентов и увеличение длительности наблюдения. Помимо положительных этических аспектов преимуществами такого подхода являются замена ряда суррогатных конечных точек на более жесткие, регистрация лекарственных взаимодействий. В данном случае особого внимания требуют возможная оптимизация дизайна исследования, мониторинг его проведения, обязательные публикации результатов.

Таким образом, все публикации, которые указывают на различие терапевтической эффективности при условии проведенного исследования биоэквивалентности, должны быть тщательно изучены с использованием системы экспертных оценок, предложенной в рамках данной диссертации. Представляется рациональным рассмотреть необходимость новых испытаний серии препаратов, не подтвердивших взаимозаменяемости при условии грамотно спланированного и достоверного клинического исследования. Возможно, препарат необходимо вновь пропустить через цепочку фармацевтическая эквивалентность – эквивалентность *in vitro* – исследование биоэквивалентности – терапевтическая эквивалентность, а также подтвердить межсерийную однородность продукции.

Масштабы использования теста сравнительной кинетики растворения в рамках подтверждения эквивалентности *in vitro* соответствуют последним тенденциям совершенствования системы экспертных оценок воспроизведенных препаратов [245]. Использование данного подхода для подтверждения взаимозаменяемости лекарственных препаратов является рациональным и обоснованным, что подтверждено одобрением целого ряда методик FDA [187]. Для закрепления на законодательном уровне в России данного механизма регистрации дженериков метопролола сукцината и других препаратов требуются дальнейшие исследования и консенсус экспертов.

Не вызывает сомнения необходимость таких исследований для регистрации различных дозировок лекарственного препарата (включая метопролола сукцинат) при условии проведения на одной из них полноценного исследования биоэквивалентности на здоровых добровольцах. Для метопролола сукцината тест сравнительной кинетики высвобождения рационально проводить параллельно с фармакопейным тестом по показателю «Растворение» в связи с использованием идентичной методики. Такие испытания должны быть проведены и тщательно проанализированы перед исследованием на здоровых добровольцах. Включение результатов теста растворения в брошюру исследователя в рамках клинического исследования позволит более тщательно оценить риски и рациональность исследования биоэквивалентности, в том числе в рамках работы этического комитета.

Однако следует отметить, что найденная *in vitro/in vivo* корреляция уровня А является специфичной и имеет ограничение только в рамках изученной лекарственной формы препарата [230].

Определение эквивалентности *in vitro* следует более широко использовать в рамках пострегистрационного анализа качества воспроизведенного препарата. Тест сравнительной кинетики растворения может использоваться для контроля пострегистрационных изменений в случае незначительных модификаций биофармацевтических свойств фармацевтической субстанции [121]. Данное испытание позволит также подтвердить приемственность новых серий дженерика в рамках взаимозаменяемости лекарственных препаратов в случае выявления некачественной продукции. Наряду с внедрением оценки межсерийной однородности с помощью БИК-спектрометрии, позволяющей определить возможные отклонения на стадии производства и транспортирования препарата, подобная система качества позволит жестко контролировать межсерийную воспроизводимость дженериков и выявлять некачественную или фальсифицированную продукцию.

Полученные результаты анализа качества и фармацевтической эквивалентности являются основой для разработки отечественной нормативной

документации – проектов фармакопейных статей на субстанцию и таблетки метопролола сукцината. Данные документы необходимы для контроля качества, как новых серий зарегистрированного препарата, так и пресечения поступления фальсификатов.

Доля фальсифицированных и недоброкачественных лекарственных средств на фармацевтическом рынке России по разным данным колеблется от 0,1 до 40% [144,157]. Фальсификации подвергаются широко применяемые, имеющие доверие врачей и потребителей препараты, в том числе для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Высокая эффективность бета-адреноблокатора метопролола, доказанная в крупных клинических исследованиях и признанная в руководствах лечения [223], способствует увеличению частоты назначений оригинального препарата и стимулирует появление воспроизведенных лекарственных средств.

Для выявления недоброкачественной или фальсифицированной продукции может быть использован весь потенциал современных методов анализа качества. Помимо активно развивающихся методик ВЭЖХ и ИК-спектromетрии в средней области для анализа качества таблеток, необходимо отметить необходимость активного внедрения в нормативную документацию на субстанцию метопролола сукцината дифференциальной сканирующей калориметрии и использования альтернативного способа определения влаги – титрование по К. Фишеру.

Следует отметить наличие ряда преград, связанных с приобретением зарубежных фармакопейных стандартных образцов и проблем производства и создания банка фармакопейных стандартных образцов в России, что привело к широкому использованию стандартных рисунков ИК-спектров [145].

Однако в случае метопролола сукцината ИК-метод с использованием прессования таблеток с калия бромидом является оптимальным и информативным методом, что позволяет его рекомендовать для внедрения в отечественную частную фармакопейную статью на субстанцию метопролола сукцината.

Для оценки межсерийной воспроизводимости препарата возможно использование банка данных БИК-спектров лекарственного средства конкретного производителя [184].

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

Особенно важное значение приобретает требование гармонизации нормативно-правовой базы с международными стандартами, а также анализ современных научно обоснованных подходов фармацевтического анализа, приведенный в данной работе.

## 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  $85.4\pm 24.4$  нг/мл,  $T_{\max}=6.3\pm 1.5$  и  $6.1\pm 1.4$  час,  $AUC_{48ч}=1141.2\pm 333.2$  и  $1126.8\pm 335.7$  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<sup>-1</sup>.

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:  $C_{\max}$  – 84,71 нг/мл,  $T_{\max}$  – 6.3 ч,  $AUC_{48ч}$  – 1141.2 нг\*ч/мл, средний период полувыведения – 3.0 ч, относительный объем распределения – 5.5 л/кг, клиренс – 1.5 л/мин, константа элиминации –  $0.229 \text{ ч}^{-1}$ .
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 И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	Артериальное давление
БИК-спектрометрия	Ближняя инфракрасная спектрометрия
БКС	Биофармацевтическая классификационная система
БЭ	Биоэквивалентность
ВОЗ	Всемирная Организация Здравоохранения
ВТО	Всемирная Торговая Организация
ДАД	Диастолическое артериальное давление
ДИ	Доверительный интервал
ЕС	Европейский союз
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ЛС	Лекарственное средство
МУ МЗСР	Методические указания Министерства здравоохранения и социального развития
ОФС	Общая фармакопейная статья
САД	Систолическое артериальное давление
ФЗ	Федеральный закон
ФСП	Фармакопейная статья предприятия
ФЦП	Федеральная целевая программа
ЧСС	Частота сердечных сокращений
ЭКГ	Электрокардиография
ANOVA	Analysis of Variance – дисперсионный анализ
AUC	area under the curve, площадь под кривой время – концентрация
ВР	Британская фармакопея
CD/ERT	Controlled Delivery/Extended Release Tablets – система контролируемого и длительного высвобождения

лекарственного вещества из таблеток

CDER	Center for Drug Evaluation and Research – центр оценки и исследований лекарств
$C_{\max}$	Максимальная концентрация
$C_{\max, ss}$	Максимальная стационарная концентрация
$C_{\min}$	Минимальная концентрация
$C_{\min, ss}$	Минимальная стационарная концентрация
CR	Controlled Release – контролируемое высвобождение
Durules	Лекарственная форма с постепенным высвобождением лекарственного средства и с равномерным поступлением в кровь
EMA	European Medical Agency (ранее EMEA) – Европейское Медицинское Агентство
FDA	Food and Drug Administration – Федеральное агентство по контролю за медикаментами и пищевыми продуктами
GCP	Good Clinical Practice – надлежащая клиническая практика
GLP	Good Laboratory Practice – надлежащая лабораторная практика
GMP	Good manufacturing practice – надлежащая производственная практика
ICH	International Conference on Harmonisation – международная конференция по гармонизации
IR	Immediate Release – немедленное высвобождение лекарственного средства
IVIVC	In vitro/in vivo корреляции
MRT	Среднее резидентное время
MSC	Multiplicative Signal Correction pathlength – функция

	мультипликативной коррекции рассеяния
Ph. Eur.	European Pharmacopoeia – Европейская фармакопея
RSD	Relative standard deviation – стандартное относительное отклонение
SMLR	Stepwise Multiple Linear Regression – пошаговая множественная линейная регрессия
SR	Sustained Release – замедленное высвобождение лекарственного средства
$T_{\max}$	Время достижения максимальной концентрации
VRT	Дисперсия среднего резидентного времени
ZOK	Zero-Order-Kinetics – кинетика нулевого порядка
Mean	Среднеарифметическое
GMean	Среднегеометрическое
SD	Стандартное отклонение
CV	Коэффициент вариации
L-95%	Минимальная интервальная оценка показателя
Up-95%	Максимальная интервальная оценка показателя
Median	Медиана

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азимова, И. Д. Анализ омепразола методом ближней инфракрасной спектроскопии [Текст] / И. Д. Азимова, А. П. Арзамасцев, А. В. Титова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 152–156.
2. Аналитический обзор фармрынка России за январь 2012. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://remedium.ru/news/detail.php?ID=50703&spphrase\\_id=1715677](http://remedium.ru/news/detail.php?ID=50703&spphrase_id=1715677).
3. Антиишемические и метаболические эффекты небивалола и метопролола CR/XL у больных постинфарктной дисфункцией сердца [Текст] / А. В. Кузнецова, Т. А. Степачева, А. Т. Тепляков [и др.] // Клиническая медицина. – 2005. – № 4. – С. 56–59.
4. Арзамасцев, А. П. Анализ ранитидина гидрохлорида методом ближней ИК-спектроскопии [Текст] / А. П. Арзамасцев, Е. В. Степанова, А. В. Титова // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – № 7. – С. 51–53.
5. Арзамасцев, А. П. Выявление фальсифицированных лекарственных средств с использованием современных аналитических методов [Текст] / А. П. Арзамасцев, В. Л. Дорофеев, А. А. Коновалов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – № 3. – С. 48–51.
6. Арзамасцев, А. П. Метод ближней ИК-спектроскопии в системе контроля качества лекарственных средств (обзор) [Текст] / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, А. В. Титова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 1. – С. 16–20.
7. Арзамасцев, А. П. Современное состояние проблемы применения ИК-спектроскопии в фармацевтическом анализе лекарственных средств [Текст] / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, А. В. Титова // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – № 8. – С. 27–30.
8. Арзамасцев, А. П. Эквивалентность воспроизведенных лекарственных средств: фармацевтические аспекты [Текст] / А. П. Арзамасцев, В. Л. Дорофеев // Ведомости НЦЭСМП. – М., 2007. – № 1. – С. 27–35.
9. Афанасьева, Н. Л. Гипотензивная эффективность и церебропротективное влияние бета-блокатора метопролола [Текст] / Н. Л. Афанасьева, В. Ф.

- Мордови, Н. Ю. Ефимова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 60–64.
10. Ахапкин, Р. В. Оценка терапевтической эквивалентности двух препаратов кветиапина (Кетилепт и Сероквель) у больных с расстройствами шизофренического спектра [Текст] / Р. В. Ахапкин, А. С. Аведисова // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 13–17.
11. Ахмедова, О. О. Антигипертензивная эффективность бета-блокаторов метопролола и небиволола при монотерапии у больных мягкой и умеренной артериальной гипертензией в сочетании с сахарным диабетом 2 типа [Текст] / О. О. Ахмедова, Ю. В. Гаврилов, В. И. Маколкин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2003. – № 2. – С. 43–47.
12. Балыкова, К. С. Использование метода ближней инфракрасной спектроскопии в анализе субстанций и таблеток сульфалена [Текст] / К. С. Балыкова, Н. П. Садчикова, А. П. Арзамасцев [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 1. – С. 97–100.
13. Беликов, В. Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов [Текст] / В. Г. Беликов // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – т. XLVI, № 4. – С. 52–56.
14. Белоусов, Ю. Б. Эволюция пероральных лекарственных форм метопролола: преимущества пролонгированных форм с модифицированным высвобождением [Текст] / Ю. Б. Белоусов, М. В. Леонова, О. А. Манешина // Кардиология. – 2010. – № 12. – С. 79–83.
15. Бритов, А. Н. Роль кардиоселективного  $\beta$ -адреноблокатора (бисопролола) в лечении больных артериальной [Текст] / А. Н. Бритов // Рус. мед. журн. – 2002. – № 10. – С. 446–449.
16. В США дженерики заняли 78% рецептурного сегмента [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://www.chemrar.ru/i-news/index.php?ELEMENT\\_ID=11150](http://www.chemrar.ru/i-news/index.php?ELEMENT_ID=11150).
17. В США разработан законопроект об отмене рыночной эксклюзивности для первых дженериков [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/dgeneriki/891-v-ssha-razrabotan-zakonoproekt-ob-otmene-rynochnoy-eksklyuzivnosti-dlya-pervyh-dzhenerikov.html>.
18. Воробьева, Р. П. Техника и интерпретация инфракрасных спектров поглощения органических молекул [Текст] : учебно-методическое пособие / Р. П. Воробьева, О. В. Овчинников, М. А. Ефимова // Воронеж : Изд-во. ВГУ. – 2005. – 39 с.

19. Всероссийское Научное Общество Кардиологов. Рекомендации по рациональной фармакотерапии больных сердечно-сосудистыми заболеваниями [Текст]. – М. – 2009. – 72 с.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации XII издание [Текст]. – М. : Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – 2008. – 704 с.
21. Государственный стандарт качества лекарственных средств (2004). Общая фармакопейная статья 42-0003-04 «Растворение».
22. Гуревич, К. Г. Определение биоэквивалентности: сравнительный подход [Электронный ресурс] / К. Г. Гуревич, А. П. Мешковский. – М. – Октябрь, 2001. – Том 2, ст. 43. – С. 215–216. – Режим доступа : <http://www.medline.ru/public/art/tom2/art43.phtml>.
23. Давыдова, К. С. Оригинальные и воспроизведенные лекарственные средства – реалии современного фармацевтического рынка [Электронный ресурс] / К. С. Давыдова // Ремедиум. – 2011. – № 2. – С. 69–70. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/847/RM%2002-2011\\_13.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/847/RM%2002-2011_13.pdf).
24. Дегтерев, Е. В. Анализ лекарственных средств в исследованиях, производстве и контроле качества [Текст] / Е. В. Дегтерев // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – т. XLVI, № 4. – С. 43–51.
25. Дженерики наступают [Электронный ресурс] // Web-портал hospital-apteka.ru от 15-11-2012. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/dgeneriki/2401-dzheneriki-nastupayut.html>.
26. Документ о соглашении экспертов по блокаторам b-адренергических рецепторов. Рабочая группа Европейского общества кардиологов по бета-блокаторам [Текст] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2005. – № 1. – С. 99–124.
27. Елизарова, Т. Е. Изменение во времени спектральных характеристик лекарственных субстанций (БИК-область) [Текст] / Т. Е. Елизарова, М. А. Морозова, Т. В. Плетенева // Вестник РУДН (серия медицина). – 2011, апрель. – С. 153–158.
28. Елизарова, Т. Е. Оценка возможности применения метода ближней ИК-спектроскопии для контроля качества лекарственных препаратов по показателю «однородность дозирования» [Текст] / Т. Е. Елизарова, М. А. Морозова, Т. В. Плетенева // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – № 5. – С. 143–146.
29. Елизарова, Т. Е. Применение метода спектрофотометрии ближнего инфракрасного диапазона для идентификации лекарственных субстанций и

- готовых лекарственных средств [Текст] / Т. Е. Елизарова, С. В. Штылева, Т. В. Плетенева // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – № 7. – С. 51–53.
30. Елизарова, Т. Е. Спектрометрия в ближней инфракрасной области как метод контроля качества лекарственных средств [Текст] / Т. Е. Елизарова, М. А. Морозова, Т. В. Плетенева // Здоровье и образование в XXI веке : тез. докл. XI международного конгресса 8-12 декабря 2010 г. – Москва, 2010. – С. 750.
31. Елизарова, Т. Е. Хемометрический анализ ИК-спектров в ближнем диапазоне при оценке подлинности лекарственных средств [Текст] / Т. Е. Елизарова, Т. В. Плетенева // Вестник РУДН (серия медицина). – 2008. – № 6. – С. 171–173.
32. За 10 лет американцы сэкономили на дженериках 931 млрд долл. [Электронный ресурс] // Web-портал hospital-apteka.ru от 23.09.2011. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/allnews/585-za-10-let-amerikancy-sekonomili-na-dzhenerikah-931-mlrd-doll.html>.
33. За последние 10 лет дженерики сэкономили американцам 734 млрд долл. [Электронный ресурс] // Web-портал Фарманалитик от 19.05.2009. – Режим доступа : <http://fbr.info/content/view/717112/96>.
34. ИК-спектроскопия в фармацевтическом анализе [Текст] : учебно-методическое пособие для студентов 5 курса фармацевтического факультета // Нижний Новгород : Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии. – 2006. – 65 с.
35. Инструкция по медицинскому применению препарата Беталок ЗОК®. АстраЗенека, 2007.
36. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений [Текст] : учебное пособие / А. В. Васильев, Е. В. Гриненко, А. О. Щукин [и др.] // СПб. : СПбГЛТА. – 2007. – 54 с.
37. Испытание «Растворение» в фармацевтической практике. Современные подходы, концепции и биофармацевтические аспекты. Итоги научно-практической конференции с международным участием [Текст] / Ремедиум. – ноябрь 2011. – С. 79–80.
38. Исследование биоэквивалентности как способ доказательства идентичности оригинального препарата и препарата-дженерика [Текст] / С. Ю. Марцевич, Я. В. Суханов, В. Г. Белолипецкая, Н. П. Кутищенко // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 2. – С. 48–53.
39. Ишмухаметов, А. Генерическая экспансия на фармрынке ЕС [Электронный ресурс] / А. Ишмухаметов // Ремедиум. – 2011. – № 1. – С. 8–13. – Режим доступа : <http://remedium-journal.ru/upload/iblock/f49/Pages%20from%20RM%2001-2011-2.pdf>. 42

40. К 2015 г. объем мирового дженерикового рынка достигнет 137,6 млрд долл. США [Электронный ресурс] // Web-портал hospital-apteka.ru. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/dgeneriki/532-k-2015-g-obem-mirovogo-dzhenerikovogo-gynka-dostignet-1376-mlrd-doll-ssha.html>.
41. Кобалава, Ж. Д. Метопролол CR/XL: усовершенствованная форма эталонного бета-блокатора [Текст] / Ж. Д. Кобалава, К. М. Гудков // Кардиология. – 2003. – № 9. – С. 91–100.
42. Конради, А. О. Бета-адреноблокаторы при артериальной гипертензии [Текст] / А. О. Конради // Кардиология. – 2009. – № 7. – С. 111–114.
43. Конуровский, В. В. Бета-адреноблокаторы: прошлое, настоящее и будущее [Текст] / В. В. Конуровский, Л. Н. Малай, А. Н. Мирошниченко, Б. В. Шарыкин // Здоровоохранение Дальнего Востока. – 2009. – № 4. – С. 75–80.
44. Корчинская, А. Опыт США: насколько целесообразно применение дженериков с экономической точки зрения [Электронный ресурс] / А. Корчинская // Web-портал hospital-apteka.ru. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/dgeneriki/879-opyt-ssha-naskolko-celesoobrazno-primeneniye-generikov-s-ekonomicheskoy-tochki-zreniya.html>.
45. Косенко, В. В. Результаты внедрения неразрушающих экспресс-методов контроля качества лекарственных средств в систему государственного контроля [Текст] / В. В. Косенко // Вестник росздравнадзора. – 2011. – № 2. – С. 59–63.
46. Краткий обзор клинических исследований, одобренных МЗ РФ в августе 2013 года [Текст]. – Sciencefiles Consulting group. – 2013. – 3 с.
47. Кукес, В. Г. Клиническая фармакология б-адреноблокаторов [Текст] / В. Г. Кукес, Д. А. Сычев, Д. А. Андреев // Русский мед. Журнал. – 2005. – № 14. – С. 932–938.
48. Кутишенко, Н. П. Что такое терапевтическая эквивалентность воспроизведенного препарата (дженерика) и как ее доказать [Текст] / Н. П. Кутишенко, С. Ю. Марцевич, И. В. Вашурина // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2011. – № 2. – С. 241–245.
49. Леонова, М. В. Метопролол в гипотензивной терапии [Текст] / М. В. Леонова, А. Н. Грацианская // Фарматека. – 2003. – № 12. – С. 36–41.
50. Ляпунов, Н. А. Требования к регистрации препаратов-дженериков в европейском союзе и государствах СНГ [Текст] / Н. А. Ляпунов, В. Л. Багирова, В. В. Береговых // Фармация. – 2004. – № 5. – С. 6–11.
51. Маколкин, В. И. Бета-адреноблокаторы в лечении стабильной стенокардии: фокус на небиволол [Текст] / В. И. Маколкин // Трудный пациент. – 2011. – № 6. – С. 6–10.

- 52.Маколкин, В. И. Комплексная оценка эффективности и переносимости бета-блокатора метопролола CR/ZOK при лечении гипертонической болезни [Текст] / В. И. Маколкин, В. И. Подзолков, Л. А. Стрижаков, В. И. Павлов // Терапевтический архив. – 2002. – № 11. – С. 74–77.
- 53.Малашенко, Е. А. Установление эквивалентности воспроизведенных гипотензивных ЛС I класса БКС по процедуре «биоверификация» [Текст] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2012. – № 1 (1). – С. 19–28.
- 54.Мареев, В. Ю. Сравнительная характеристика больных с ХСН в зависимости от величины фракции выброса по результатам российского многоцентрового исследования ЭПОХА—ХСН: снова о проблеме ХСН с сохраненной систолической функцией левого желудочка [Текст] / В. Ю. Мареев, М. О. Даниелян, Ю. Н. Беленков // Сердечная недостаточность. – 2006. – № 7 [4 (38)]. – С. 164–171.
- 55.Мартынов, А. И. Метопролол: результаты контролируемых клинических исследований [Текст] / А. И. Мартынов // Клиническая фармакология и терапия. – 2004. – № 3. – С. 48–52.
- 56.Марцевич, С. Ю. Копии лекарств, как и копии в искусстве, бывают разными [Электронный ресурс] / С. Ю. Марцевич // Web-портал [remedium.ru](http://remedium.ru) от 25.06.2010. – Режим доступа : [http://remedium.ru/section/detail.php?ID=36621&spphrase\\_id=1111370](http://remedium.ru/section/detail.php?ID=36621&spphrase_id=1111370).
- 57.Марцевич, С. Ю. Бета-блокаторы. Принципы терапии в свете международных рекомендаций [Текст] / С. Ю. Марцевич // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 4–8.
- 58.Марцевич, С. Ю. Еще раз о проблеме взаимозаменяемости лекарств. Взгляд на дженерики с позиций доказательной медицины [Текст] / С. Ю. Марцевич, Н. П. Кутишенко, В. В. Якусевич // Вести кардиологии. – 2010. – № 2. – С. 11–22.
- 59.Марцевич, С. Ю. Как практическому врачу разобраться в многообразии дженериков [Текст] / С. Ю. Марцевич, Н. П. Кутишенко, А. Д. Деев // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 67–69.
- 60.Марцевич, С. Ю. Лечение Б-блокаторами сердечно-сосудистых заболеваний: место метопролола и его различных лекарственных форм [Текст] / С. Ю. Марцевич // Кардиология. – 2003. – № 12. – С. 78–81.
- 61.Марцевич, С. Ю. Лечение В-адреноблокаторами: позиции доказательной медицины и реальная клиническая практика [Текст] / С. Ю. Марцевич // Кардиология. – 2003. – № 7. – С. 98–101.

62. Медведев хочет насытить рынок отечественными лекарствами [Электронный ресурс] // Web-портал [remedium.ru](http://remedium.ru) от 26.12.2012. – Режим доступа : <http://remedium.ru/news/video/detail.php?ID=54944>.
63. Мелихов, О. Г. Клинические исследования [Текст] / О. Г. Мелихов. – М. : Изд-во Атмосфера, 2013. – 200 с.
64. Метод ближней инфракрасной спектроскопии для идентификации лекарственных средств [Текст] / Д. В. Долбнев, В. Л. Дорофеев, А. П. Арзамасцев [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 6. – С. 27–30.
65. Метод ближней инфракрасной спектроскопии как перспективное направление в оценке качества лекарственных средств [Текст] / Д. В. Долбнев, В. Л. Дорофеев, А. П. Арзамасцев [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 4. – С. 7–9.
66. Методические рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* генерических лекарственных средств согласно процедуре «биоэвейвер» [Текст]. – М. : Ремедиум, 2010. – 16 с.
67. Методические рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по изучению сравнительной кинетики растворения твердых дозированных лекарственных форм [Текст]. – М. : Ремедиум, 2010. – 28 с.
68. Методические рекомендации по проведению качественных клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов [Текст]. М., МЗСР РФ, 2001. – 15 с.
69. Методические указания «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» [Текст]. – М., МЗСР РФ, 2008. – 32 с.
70. Методические указания «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» [Текст]. – М., МЗСР РФ, 2011. – 34 с.
71. Методические указания «Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств» [утв. Министерством здравоохранения и социального развития РФ от 10 августа 2004 г.] [Текст] // Клиническая фармакокинетика. – 2005. – № 1(2). – 13 с.
72. Метопролола сукцинат и тартрат: влияет ли соль на эффективность препарата? [Текст] / Ю. Б. Белоусов, М. В. Леонова, О. А. Манешина [и др.] // Фарматека. – 2006. – №19 (134). – С. 14–19.

73. Мешковский, А. П. Международная гармонизация в регулировании лекарственного рынка [Текст] / А. П. Мешковский // Менеджмент качества в сфере здравоохранения и социального развития. – 2011. – № 3. – С. 93–101.
74. Мешковский, А. П. Место дженериков в лекарственном обеспечении / А. П. Мешковский [Текст] // Фарматека. – 2003. – № 3. – С. 103–104.
75. Милушин, М. И. Требования к проведению клинических исследований лекарственных средств [Электронный ресурс] / М. И. Милушин // Web-портал [healtheconomics.ru](http://healtheconomics.ru) от 30.11.2011. – Режим доступа : [http://healtheconomics.ru/index.php?option=com\\_content&view=article&id=13013:2011-11-30-16-07-31&catid=55:2009-05-29-19-56-44&Itemid=104](http://healtheconomics.ru/index.php?option=com_content&view=article&id=13013:2011-11-30-16-07-31&catid=55:2009-05-29-19-56-44&Itemid=104).
76. Мировой фармацевтический рынок: состояние, прогнозы, перспективы [Электронный ресурс] // Web-портал [remedium.ru](http://remedium.ru) от 12.07.2011. – Режим доступа : [http://remedium.ru/section/detail.php?ID=45820&sphrase\\_id=1113609](http://remedium.ru/section/detail.php?ID=45820&sphrase_id=1113609).
77. Мировой фармацевтический рынок: состояние, прогнозы, перспективы [Электронный ресурс] // Web-портал от 11.01.2013. – Режим доступа : <http://www.remedium.ru/section/state/detail.php?ID=45820>.
78. Мировой фармацевтический рынок: состояние, прогнозы, перспективы [Электронный ресурс] // Российские аптеки. – 2010. – № 23. – Режим доступа : [http://www.remedium.ru/section/detail.php?ID=50791&sphrase\\_id=1715504](http://www.remedium.ru/section/detail.php?ID=50791&sphrase_id=1715504).
79. Миронов, А. Н. Экспертные подходы к планированию и анализу результатов сравнительного теста кинетики растворения воспроизведенных лекарственных препаратов в твердых лекарственных формах с немедленным высвобождением [Текст] // А. Н. Миронов, Д. П. Ромодановский, Р. Р. Ниязов, Д. В. Горячев / Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2014. – № 2. – С. 3–8.
80. Моисеев, С. В. Бета-адреноблокаторы. Клиническое применение метопролола (на примере эгилока) [Текст] / С. В. Моисеев, В. С. Моисеев. – М., 2006. – С. 5–6.
81. Нам ли, генерикам, быть в печали: как чувствуют себя генерические препараты в мире и в Украине? [Электронный ресурс] // Web-портал издание [www.apteka.ua](http://www.apteka.ua) от 07.09.2009. – № 706 (35). – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/9378>.
82. Научно-технические достижения приведут к возрождению фармотрасли после 2020 г. [Электронный ресурс] // Web-портал [hospital-apteka.ru](http://hospital-apteka.ru) от 11.12.2012. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/farmacevtrinok/2580-nauchno-tehnicheskie-dostizheniya-privedut-k-vozhrozhdeniyu-farmotrasli-posle-2020-g.html>.

83. Небиеридзе, Д. В. Актуальные вопросы применения бета-адреноблокаторов в клинической практике [Текст] / Д. В. Небиеридзе // Системные гипертензии. – 2009. – № 4. – С. 6–9.
84. Никитина, Г. Опыт назначения дженериков зарубежом [Электронный ресурс] / Г. Никитина // Он-лайн издание Фармацевтический вестник от 18.07.2006. – Режим доступа : <http://pharmapractice.ru/1844>.
85. Обзор мирового рынка розничных продаж лекарственных препаратов за 12 месяцев [Электронный ресурс] / Web-портал [healthconomics.ru](http://healthconomics.ru). – Режим доступа : [http://healthconomics.ru/index.php?option=com\\_content&view=article&id=14002:obzor-mirovogo-rynka-roznychnykh-prodazh-lekarstvennykh-preparatov-za-12-mesyatsev&catid=104&Itemid=107](http://healthconomics.ru/index.php?option=com_content&view=article&id=14002:obzor-mirovogo-rynka-roznychnykh-prodazh-lekarstvennykh-preparatov-za-12-mesyatsev&catid=104&Itemid=107).
86. Обзор требований к исследованиям биоэквивалентности генерических лекарственных средств. Требования ЕМА [Электронный ресурс] / А. Н. Конюшкова, А. Ю. Савченко, К. С. Давыдова [и др.] // Ремедиум. – 2011. – № 6. – С. 74–77. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/6e2/Pages%20from%20RM%2006-2011\\_11.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/6e2/Pages%20from%20RM%2006-2011_11.pdf).
87. Обзор требований к исследованиям биоэквивалентности генерических лекарственных средств. Требования ВОЗ и министерства здравоохранения Канады [Электронный ресурс] / А. Н. Конюшкова, А. Ю. Савченко, К. С. Давыдова [и др.] // Ремедиум. – 2011. – № 7. – С. 52–55. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/c4d/Pages%20from%20RM%2007-2011\\_09.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/c4d/Pages%20from%20RM%2007-2011_09.pdf).
88. Обзор требований к исследованиям биоэквивалентности генерических лекарственных средств. Требования FDA [Электронный ресурс] / А. Н. Конюшкова, А. Ю. Савченко, К. С. Давыдова [и др.] // Ремедиум. – 2011. – № 5. – С. 54–56. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/b79/Pages%20from%20RM%2005-2011\\_13.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/b79/Pages%20from%20RM%2005-2011_13.pdf).
89. Объем мирового рынка дженериков достигнет 231 млрд долл. США к 2017 г. [Электронный ресурс] // Web-портал от 9-02-2012. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/dgeneriki/1242-obem-mirovogo-rynka-dzhenerikov-dostignet-231-mlrd-doll-ssha-k-2017-g.html>.
90. Объем мирового фармацевтического рынка за 12 мес – к июню 2012 г. [Электронный ресурс] // Web-портал [remedium.ru](http://remedium.ru) от 09.10.2012. – Режим доступа : <http://remedium.ru/news/world/detail.php?ID=53565>.
91. Объем мирового фармрынка за 12 мес – к сентябрю 2011 [Электронный ресурс] // Web-портал [hospital-apteka.ru](http://hospital-apteka.ru). – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/farmacevtrink/1030-obem-mirovogo-farmrynka-za-12-mes-k-sentyabryu-2011.html>.

92. Объем российского фармрынка вырастет до 30 млрд долл. [Электронный ресурс] // Web-портал hospital-apteka.ru. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/farmacevtrinov/1029-k-2013-g-obem-rossiyskogo-farmrynka-vyrastet-do-30-mlrd-doll.html>.
93. Оганов, Р. Г. Современные стратегии профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний [Текст] / Р. Г. Оганов, Г. В. Погосова // Кардиология. – 2007. – № 12. – С. 4–9.
94. Оптимизация применения Бета-блокатора ЗОК у больных ХСН в повседневной врачебной практике. Дизайн и результаты исследования БЕЗЕ [Текст] // Сердечная недостаточность. – 2005. – № 6. – С. 251–257.
95. Организация и результаты украинского многоцентрового исследования ретардного S-изомера метопролола сукцината при хронической сердечной недостаточности – ЛАЗУРЬ-СН (Левовращающий АЗопрол ретард в Украине при Сердечной Недостаточности) [Электронный ресурс] / Л. Г. Воронков, С. А. Андриевская, В. Н. Жебель [и др.] // Украинский кардиологический журнал. – 2008. – № 3. – Режим доступа : <http://www.ukrcardio.org/journal.php/article/238>.
96. Остроумова, О. Д. Существуют ли различия в клинической эффективности метопролола? [Текст] / О. Д. Остроумова, В. А. Поликарпов, Е. А. Смолярчук [и др.] // Consilium medicum. – 2006. – № 5. – С. 114–118.
97. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.05.001-00 Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.
98. Очеретяная, Н. Бета-блокаторы в XXI веке: спорное и доказанное [Текст] / Н. Очеретяная // Здоровье Украины. – 2009. – № 8. – С. 8–9.
99. Панюшин, Р. Оригинальные и дженериковые препараты: единство или борьба противоположностей? [Текст] / Р. Панюшин // Фармацевтический вестник. – № 13 (295) от 13 мая 2003 г.
100. Перова, Ю. М. Изучение возможностей процедуры биоэквиалентности воспроизведенных препаратов, влияющих на сердечно-сосудистую систему [Текст] : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.01 / Перова Юлия Михайловна; [Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия]. – Санкт-Петербург, 2010. – 163 с.
101. Перспективы развития фармрынка Германии [Электронный ресурс] // Web-портал hospital-apteka.ru от 06.01.2012. – Режим доступа : <http://hospital-apteka.ru/digest/farmacevtrinov/1016-perspektivy-razvitiya-farmrynka-germanii.html>.

102. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 19 ноября 2010 г. № 04И-1145/10 "О клинических исследованиях".
103. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 27 апреля 2010 г. № 04И-383/10 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
104. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 17 октября 2007 г. № 02И-178/07 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
105. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 12 июля 2010 г. № 04И-675/10 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
106. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 12 октября 2009 г. № 04И-671/09 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
107. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 16 ноября 2010 г. № 04И-1115/10 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
108. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 3 августа 2009 г. № 04И-474/09 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
109. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 14 мая 2009 г. № 04И-274/09 "О клинических исследованиях лекарственных средств".
110. Погода на рынке [Электронный ресурс] // Web-портал elitetrader от 05.04.2012. – Режим доступа : <http://www.elitetrader.ru/index.php?newsid=143965>.
111. Погонченкова, И. В. Опыт применения пролонгированного препарата метопролола в лечении артериальной гипертонии [Текст] / И. В. Погонченкова, В. С. Задионченко, Е. Д. Ли // Кардиология. – 2000. – № 5. – С. 36–38.
112. Подзолков, В. И. Бета-андреноблокаторы и периферический кровоток [Текст] / В. И. Подзолков, В. А. Булатов, В. И. Павлов // Кардиология. – 2004. – № 4. – С. 38–42.
113. Померанцев, А. Л. Метод главных компонент (РСА) [Электронный ресурс]. / А. Л. Померанцев. – Режим доступа : <http://www.chemometrics.ru/materials/textbooks/pca.htm#Contents>.

114. Попов, Я. Обзор российского рынка брендированных дженериков (май 2011) [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.pharmexpert.ru/analytics/6/2206>.
115. Появилась генерическая версия Toprol-XL® – «AstraZeneca» не согласна [Электронный ресурс] // Он-лайн издание [www.apteka.ua](http://www.apteka.ua) от 4 декабря 2006 г. – № 47 (568). – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/34616>.
116. Практическая газовая и жидкостная хроматография: учебное пособие [Текст] / Б. В. Столяров, И. М. Савинов, А. Г. Витенберг [и др.]. – СПб. : Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. – 616 с.
117. Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу : распоряжение Правительства РФ от 1 октября 2010 г. №1660-р «О Концепции федеральной целевой программы.
118. Раменская, Г. В. In vivo-in vivo корреляция (IVIVC): современный инструмент для оценки поведения лекарственных форм в условиях in vivo [Текст] // Г. В. Раменская, И. Е. Шохин, К. С. Давыдова, А. Ю. Савченко / Медицинский альманах. – 2011. – № 1 (14). – март 2011. – С. 222–226.
119. Раменская, Г. В. Испытание «Растворение» в средах, моделирующих физиологические условия, как способ оценки поведения лекарственных средств [Текст] // Г. В. Раменская, И. Е. Шохин, А. Ю. Савченко, Е. А. Волкова / Биомедицинская химия. – 2011. – том 57, вып. 5. – С. 482–489.
120. Родионова, О. Е. Хемометрика в аналитической химии [Электронный ресурс] / О. Е. Родионова, А. Л. Померанцев. – Режим доступа : [http://www.chemometrics.ru/materials/articles/chemometrics\\_review.pdf](http://www.chemometrics.ru/materials/articles/chemometrics_review.pdf).
121. Ромодановский, Д. П. Анализ международных рекомендаций к проведению сравнительного теста растворения в случае пострегистрационных изменений состава вспомогательных веществ лекарственных препаратов [Текст] // Д. П. Ромодановский, Р. Р. Ниязов, Д. В. Горячев, Н. Д. Бунятян / Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2014. – № 3. – С. 39–45.
122. Российское медицинское общество по артериальной гипертензии (РМОАГ), Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК). Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (третий пересмотр) [Текст] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2008. – № 6, приложение 2.
123. Российское медицинское общество по артериальной гипертензии (РМОАГ), Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК). Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (четвертый пересмотр) [Текст] // Системные гипертензии. – 2010. – № 3. – С. 5–26.

124. Российское медицинское общество по артериальной гипертонии (РМОАГ), Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК). Национальные рекомендации по диагностике и лечению хронической сердечной недостаточности [Текст] // Сердечная недостаточность. – 2010. – Том 11, №1 (57).
125. Савченко, А. Ю. Оригинальное лекарственное средство: первый опыт клинического применения (I фаза). Современные требования [Текст] / А. Ю. Савченко, К. С. Давыдова, Г. В. Раменская, В. Г. Кукес // Ремедиум. – 2011. – № 9. – С. 49–51.
126. Савченко, А. Ю. Оригинальное лекарственное средство: первый опыт клинического применения (I фаза). Современные требования [Текст] / А. Ю. Савченко, К. С. Давыдова, Г. В. Раменская, В. Г. Кукес // Ремедиум. – 2011. – № 10. – С. 51–54.
127. Сизова, Ж. М. Взаимозаменяемость миокардиальных цитопротекторов в лечении больных с ишемической болезнью сердца. Трудные вопросы – простые решения [Текст] / Ж. М. Сизова // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2013. – № 9 (2). – С. 183–187.
128. Снегирев, Ф. Человек и лекарство. – 2010. Часть 2. Лекарственная независимость страны в призме лекарственной безопасности пациента: проблемы и приоритеты, стратегии и тактики РФ [Электронный ресурс] / Ф. Снегирев // Он-лайн издание [www.apteka.ua](http://www.apteka.ua) от 03.05.2010. – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/38965>.
129. Совокупный доход от реализации лекарственных препаратов к 2017 г. достигнет 231 млрд. долл. [Электронный ресурс] / Web-портал [remedium.ru](http://www.remedium.ru) от 14.02.2012. – Режим доступа : <http://www.remedium.ru/news/detail.php?ID=50325B>.
130. Современное состояние и перспективы развития российской фармацевтической промышленности. Доклад [Электронный ресурс] // Финансовая газета. – Июль 2012 года. – 28 с. – Режим доступа : [http://fingazeta.ru/pdf3/doklad\\_farma.pdf](http://fingazeta.ru/pdf3/doklad_farma.pdf). 126
131. Соколов, А. В. Исследование биоэквивалентности [Текст] / А. В. Соколов // Клиническая фармация. – 2012. – № 1. – С. 95–97.
132. Соколов, А. В. Сравнительное исследование биоэквивалентности двух лекарственных форм метопролола [Текст] / А. В. Соколов, Ю. Б. Белоусов, И. Ф. Тищенко // Фарматека. – 2004. – № 2. – С. 70–75.

133. Соколов, А. В. Сравнительное исследование биоэквивалентности двух лекарственных форм метопролола [Текст] / А. В. Соколов, Ю. Б. Белоусов, И. Ф. Тищенко // Клиническая фармакокинетика. – 2004. – № 1. – С. 27–33.
134. Соловьев, А. И. Первый в Украине успешный опыт применения биоэвейвера для экспертной оценки лекарственного средства (летромара) [Текст] / А. И. Соловьев [и др.] // Журнал Академии Медицинских Наук Украины. – 2006. – Том 12, № 4. – С. 781–793.
135. Состояние мирового фармацевтического рынка [Электронный ресурс] / Информационный web-портал журнала «Больничная аптека». – Режим доступа : [http://www.znaytovar.ru/s/Sostoyanie\\_mirovogo\\_farmaceutich.html](http://www.znaytovar.ru/s/Sostoyanie_mirovogo_farmaceutich.html).
136. Сравнительное изучение нового препарата метопролола тартрата пролонгированного действия – Эгилока ретард и оригинального препарата метопролола сукцината – Беталока ЗОК у больных мягкой и умеренной артериальной гипертонией [Текст] / Ю. В. Лукина, А. Д. Деев, Н. А. Дмитриева [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2005. – № 3. – С. 35–40.
137. Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года : утверждена приказом Минпромторга России от 23 октября 2009 года № 965.
138. Терещенко, С. Н. Все ли мы знаем об особенностях метопролола в лечении ишемической болезни сердца? [Текст] / С. Н. Терещенко, И. В. Косицина, Н. А. Джаиани // Кардиология. – 2004. – № 5. – С. 98–101.
139. Терещенко, С. Н. Метопролол в терапии сердечно-сосудистых заболеваний [Текст] / С. Н. Терещенко, Н. А. Джаиани // Справочник поликлинического врача. – 2007. – № 3. – С. 16–19.
140. Титрование. Информационная брошюра [Текст]. – М., АВРОРА Лаб. – 52 с.
141. Уварова, Ю. Европейский рынок дженериков [Электронный ресурс] / Ю. Уварова // Ремедиум. – 2011. – № 5 – С. 24–26. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/4b2/Pages%20from%20RM%2005-2011\\_04.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/4b2/Pages%20from%20RM%2005-2011_04.pdf).
142. Установление взаимозаменяемости воспроизведенных лекарственных средств [Текст] / К. С. Давыдова, И. Е. Шохин, Г. В. Раменская [и др.] // Ремедиум. – 2010. – № 7. – С. 36–38. – Режим доступа : [http://remedium-journal.ru/upload/iblock/33b/RM%2007-2010\\_10.pdf](http://remedium-journal.ru/upload/iblock/33b/RM%2007-2010_10.pdf).
143. Ушкалова, Е. А. Российский фармацевтический рынок: проблемы качества воспроизведенных препаратов [Текст] / Е. А. Ушкалова // Трудный пациент. – 2005. – № 7–8. – С. 7–10.

144. Файзрахманов, Н. Ф. Выявление и документирование ложной информации о лекарственных средствах при расследовании преступлений, совершаемых на фармацевтическом рынке Российской Федерации [Текст] / Н. Ф. Файзрахманов // Клиническая фармакология и терапия. – 2010. – № 6. – С. 46–49.
145. Фармацевтический анализ: монография (серия «Проблемы аналитической химии. Т. 16) / Под ред. Г. К. Будникова и С. Ю. Гармонова. – М. : Аргамедиа, 2013. – 778 с.
146. Фармацевтический рынок России [Электронный ресурс]. – ДСМ групп, Москва, 2013. – 32 с. – Режим доступа : <http://www.dsm.ru/docs/analytics/0113.pdf>.
147. Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (с изменениями и дополнениями) [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc;base=LAW;n=107431>.
148. Федеральный закон от 22 июня 1998 г. № 86-ФЗ «О лекарственных средствах» (с изменениями и дополнениями) [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc;base=LAW;n=83340>.
149. Фирсов, А. А. Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Часть I. Фармакокинетические аспекты [Текст] // А. А. Фирсов, А. П. Родионов, Л. С. Страчунский [и др.]. – М., 1995. – 11 с.
150. Чазова, И. Е. Эффективность и безопасность применения Беталока ЗОК и Логимакса у больных мягкой артериальной гипертензией в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / И. Е. Чазова, Л. Г. Ратова, А. Ю. Литвин // Consilium medicum. – 2005. – № 1П (приложение). – С. 6–9.
151. Чайлахян, Л. М. Возможности метода дифференциальной сканирующей калориметрии в фармацевтике и фармакопее [Текст] / Л. М. Чайлахян, Б. Н. Бойко, И. М. Колпаков // Школа – конференция молодых ученых, аспирантов и студентов «Биомедицинская инженерия – 2007». – Пушино, 2007. – С. 112–115.
152. Чекулдаева, Л. Е. Проблема взаимозаменяемости лекарственных препаратов. Триметазидин МВ – эффективная терапия больных ишемической болезнью сердца [Текст] / Л. Е. Чекулдаева, С. В. Обухова, А. А. Симаков [и др.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2012. – № 8 (4). – С. 515–520.

153. Шатц, В. Д. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии [Текст] / В. Д. Шатц, О. В. Сахартова. – Рига : Зинатне, 1988. – 390 с.
154. Швец, А. А. Методические указания к лабораторным работам по применению инфракрасной спектроскопии в химии координационных соединений для студентов дневного и вечернего отделений химического факультета РГУ [Текст] / А. А. Швец. – Ростов-на-Дону, 1994. – 25 с.
155. Шлыков, В. С. Сравнительная оценка высвобождения *in vitro/in vivo* препаратов пролонгированного действия индапамида, триметазида, ципрофлоксацина [Текст] : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / Шлыков Вадим Сергеевич; [Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И. М. Сеченова]. – М., 2011. – 139 с.
156. Шляхто, Е. В. Альфа- и бета-адреноблокаторы в лечении артериальной гипертензии [Текст] / Е. В. Шляхто, Е. И. Баранова, О. О. Большакова // Новая аптека. – 2008. – № 5. – С. 60–61.
157. Электронный портал Минздравсоцразвития от 26.10.2011 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.minzdravsoc.ru/health/remedy/140>.
158. Ягудина, Р. И. Инновации в системе лекарственного обеспечения [Электронный ресурс] / Р. И. Ягудина // Новая Аптека. – 2010. – № 10. – Режим доступа : <http://www.nov-ap.ru/10-2010/1.asp>.
159. Ягудина, Р. И. Регулирование обеспечения качества и доступности лекарственных средств в Российской Федерации [Текст] / Р. И. Ягудина // Пятигорск, 2010.
160. Яшин, Я. И. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Состояние и перспективы [Текст] / Я. И. Яшин, А. Я. Яшин // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. Хим. об-ва. Им. Д.И. Менделеева). – 2003, т. XLVII. – № 1. – С. 64–79.
161. 870 KF Titrino plus. Information list [Text]. – Metrohm. – 2011.
162. Amidon, G. L. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability [Text] / G. L. Amidon, H. Lennerlas, V. P. Shah [et al.] // Pharmaceutical Research. – 1995. – № 12. – P. 413–420.
163. Badulescu, M. UV-VIS spectrophotometric assay of metoprolol. Note 2. Method Validation / M. Badulescu, D. Balalau, I. Cacovean [et al.] [Text] // Pharmacia. – 2008. – Vol. LVI, 4. – P. 363–370.
164. Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations [Electronic resource]. – U.S. Department of

- Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, March 2003. – Mode of access : <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070124.pdf>.
165. Bristow, M. R. The COMET trial [Text] / M. R. Bristow, K. F. Jr. Adams, J. L. Bauman [et al.] // *Congest. Heart Fail.* – 2005. – № 11(1), Jan–Feb. – P. 39–47.
166. Cardot, J. M. In Vitro–In Vivo Correlation: Importance of Dissolution in IVIVC [Text] // J. M. Cardot, E. Beyssac, M. Alric / *Dissolution Technologies.* – 2007, February. – P. 15–19.
167. Carrasco-Portugal, M. C. Bioequivalence of Two Oral Formulations of Metoprolol [Text] / M. C. Carrasco-Portugal, J. E. Herrera, F. J. Flores-Murrieta // *Proc. West. Pharmacol. Soc.* – 2006. – № 49. – P. 42–44.
168. Colucci, W. S. REVERT Study Group. Metoprolol reverses left ventricular remodeling in patients with asymptomatic systolic dysfunction: the REversal of VEntricular Remodeling with Toprol-XL (REVERT) trial [Text] / W. S. Colucci, T. J. Koliass, K. F. Adams [et al.] // *Circulation.* – 2010. – № 116 (1). – P. 49–56.
169. Demirturk, E. In Vitro–In Vivo Correlations [Text] // E. Demirturk, L. Oner / *FABAD J. Pharm. Sci.* – 2003. – № 28. – P. 215–224.
170. Drug information : Dutoprol™. AstraZeneca. – 2011. – 5 pp.
171. Drug information : Toprol-XL®. – 2009 – 4 pp.
172. Economics of Science, Technology and Innovation (Technological systems and industrial dynamics) / Ed. Bo Carlsson. – Kluwer academic publishers, 1997. – P. 97–121.
173. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF) [Text] / The MERIT-HF investigators // *Lancet.* – 1999. – № 353. – P. 2001–2007.
174. Efficacy and safety of S-Metoprolol extended release tablet in the management of congestive heart failure (SMART-HF Study) [Text] // *Indian Medical Gazette.* – Vol. CXLII, № 5. – P. 194–197.
175. Elizarova, T. E. Using Near-Infrared Spectrophotometry for the Identification of Pharmaceuticals and Drugs [Text] / T. E. Elizarova, S. V. Shtyleva, T. V. Pleteneva // *Pharmaceutical chemistry journal.* – 2008. – V. 42, № 7. – P. 432–434.
176. Emami, J. In vitro–In vivo Correlation: From Theory to Applications [Text] // J. Emami / *J Pharm Pharmaceut Sci.* – 2006. – № 9 (2). – P. 169–189.
177. European Pharmacopoeia 5-th ed [Text]. – Germany, 2007. – 2416 pp.
178. European Pharmacopoeia 7-th ed [Text]. – Germany, 2011. – 2416 pp.

179. Evard, D. Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. IV. Influence of food and digestive secretions on metoprolol jejunal absorption [Text] / D. Evard, N. Vidon, J. Godbillon [et. al.] // *Br J Clin Pharmacol.* – 1985. – 19 Suppl 2. – P. 119–125.
180. Executive Summary: HFSA 2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline [Text] / J. Lindenfeld, S. P. Collins, J. A. Ezekowitz [et. al.] // *Journal of Cardiac Failure.* – 2010. – Vol. 16. – P. 475–539.
181. FDA, Electronic Orange E-Book. Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations, twentieth Edition, 2000.
182. FDA-Recommended Dissolution Methods [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution>.
183. Gattone, M. Interventional Strategies in early Atherosclerosis [Text] / M. Gattone, P. Giannuzzi // *Monaldi Arch Chest Dis.* – 2006. – 66. – P. 54–62.
184. Gemperline, P. J. Classification of Near Infrared Spectra Using Wavelength Distances: Comparison to the Mahalanobis Distance and Residual Variance Methods [Text] / P. J. Gemperline, N. R. Boyer // *Anal. Chem.* – 1995. – Vol. 67. – P. 160–166.
185. Godbillon, J. Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. III. Metoprolol in the colon [Text] / J. Godbillon, D. Evard, N. Vidon [et al.] // *Br J Clin Pharmacol.* – 1985. – 19 Suppl 2. – P. 113–118.
186. Greenberg, B. H. Role of Angiotensin Receptor Blockers in Heart Failure: Not Yet RESOLVD [Text] / B. H. Greenberg // *Circulation.* – 1999. – № 100. – P. 1032–1034.
187. Guidance for Industry: Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In Vivo Correlations. – U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), U.S. Government. – Washington. DC, September, 1997.
188. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System [Text]. – U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). – August 2000. – 16 pp.
189. Guideline on Conduct and Analysis of Comparative Bioavailability Studies. [Electronic resource]. – Canadian Health Protection Branch (HPB). Health Products and Food Branch, Draft Date 2009/11/08. – Mode of access : <https://www.fip.org/files/fip/BPS/BCS/canada%20babe00101468.pdf>.

190. Guideline on the Investigation of Bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1 [Electronic resource]. – 2008. – Mode of access : [http://www.emea.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003011.pdf](http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003011.pdf).
191. Guidelines on submission of documentation for a multisource (generic) finished product. General format: preparation of product dossiers in common technical document format: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. 45th report [Electronic resource]. – Geneva, World Health Organization, 2011 (WHO Technical Report Series, No. 961), Annex 15. – Mode of access : [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_961\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_961_eng.pdf).
192. Haidar, S. H. Bioequivalence Approaches for Highly Variable Drugs and Drug Products [Text] / S. H. Haidar, B. Davit, M-L. Chen [et al.] // *Pharmaceutical Research*. – 2008. – Vol.25, № 1.– P. 237–241.
193. Hedblad, B. Low-Dose Metoprolol CR/XL and Fluvastatin Slow Progression of Carotid Intima-Media Thickness: Main Results From the b-Blocker Cholesterol-Lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS) [Electronic resource] / B. Hedblad, J. Wikstrand, L. Janzon [et al.] // *Circulation*. – 2001. – № 103. – P. 1721–1726. – Mode of access : <http://circ.ahajournals.org/content/103/13/1721>.
194. Herlitz, J. Göteborg Metoprolol Trial: design, patient characteristics and conduct [Text] / J. Herlitz, S. Holmberg, K. Pennert [et al.] // *Am J Cardiol*. – 1984. – № 53 (13). – P. 3–8.
195. Herlitz, J. Göteborg Metoprolol Trial: mortality and causes of death [Text] / J. Herlitz, S. Holmberg, K. Pennert [et al.] // *Am J Cardiol*. – 1984. – № 53 (13). – P. 9–14.
196. Hughes, S. COMET shows 17% relative reduction in mortality with carvedilol vs metoprolol [Electronic resource] / S. Hughes. – Mode of access : <http://www.theheart.org/article/249513.do>.
197. In Vitro and In Vivo Evaluation of Dosage Forms. United States Pharmacopeia and National Formulary USP 32–NF 27. – United States Pharmacopeial Convention, Inc. : Rockville MD, 2008.
198. Janosi, A. Metoprolol CR/XL in Postmyocardial Infarction Patients With Chronic Heart Failure: Experiences from MERIT-HF [Electronic resource] / A. Janosi, J. K. Ghali, J. Herlitz [et al.] // *American Heart Journal*. – 2003. – № 146 (4). – Mode of access : <http://www.medscape.com/viewarticle/463283>.
199. Jobin, G. Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. V. Effect of the beta-adrenoceptor antagonist, metoprolol, on postprandial gastric function [Text] / G. Jobin, A. Cortot, E. Danquechin-Dorval [et al.] // *Br J Clin Pharmacol*. – 1985. – № 19, Suppl 2. – P.127–135.

200. Jobin, G. Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. I. Metoprolol in the stomach, duodenum and jejunum [Text] / G. Jobin, A. Cortot, J. Godbillon [et al.] // *Br J Clin Pharmacol.* – 1985. – № 19, Suppl 2. – P. 97–105.
201. Jolliffe, I. T. Principal component analyses: 2nd ed. [Text] / I. T. Jolliffe – UK: Springer, 2002. – 487 pp.
202. Kesselheim, A. S. Clinical Equivalence of Generic and Brand-Name Drugs Used in Cardiovascular Disease [Text] / A. S. Kesselheim, A. S. Misono, J. L. Lee [et al.] // *JAMA.* – № 300 (21). – 2008. – P. 2514–2526.
203. Kulkarni, M. N. Development and validation of spectrophotometric method for determination of metoprolol succinate [Text] / M. N. Kulkarni, R. V. Kshirsagar, D. M. Sakarkar // *International Journal of ChemTech Research.* – 2009. – Vol. 1, № 4.– P. 1273–1277.
204. Kveiborg, B. Carvedilol in the treatment of chronic heart failure: lessons from the Carvedilol Or Metoprolol European Trial [Text] / B. Kveiborg, A. Major-Petersen, B. Christiansen, C. Torp-Pedersen // *Vasc Health Risk Manag.* – 2007. – № 3(1). – P. 31–37.
205. Lomenberg, R. Pharmacokinetics of an immediate release, a controlled release and a two pulse dosage form in dogs [Text] / R. Lomenberg, J. S. Kim, G. L. Amidon // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* – 2005. – v. 60. – P. 17–23.
206. Mark, J. Prospects for multivariate classification of a pharmaceutical intermediate with near-infrared spectroscopy as a process analytical technology (PAT) production control supplement [Text] / J. Mark, M. Andre, M. Karner [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* – 2010. – № 76. – P. 320–327.
207. Maxwell, R. A. Drug discovery: a casebook and analysis [Text] / R. A. Maxwell, S. B. Eckhardt. – Human press inc., 1990. – P. 3–18.
208. Menon, S. Bioequivalence study of chirally pure s-metoprolol IR 50 mg tablet: a randomized, open label, single dose, crossover study in healthy adult Indian subjects [Text] / S. Menon, B. Khairnar, A. Palekar [et al.] // *International Journal of Current Pharmaceutical Research.* – 2011. – Vol 3, Issue 3. – P. 33–35.
209. Metoprolol in acute myocardial infarction (MIAMI). A randomised placebo-controlled international trial [Text] / THE MIAMI TRIAL RESEARCH GROUP // *Eur Heart J.* – 1985. – № 6 (3). – P. 199–226.
210. Moe, G. Update on ACE inhibitors: The ATLAS and RESOLVD trials [Electronic resource] / G. Moe // *The American Collage of Cardiology 47th Annual Scientific Session, Atlanta, Georgia, March 29–April 1, 1998.* – Mode of access : <http://www.cardiologyupdate.ca/crus/120-164.pdf>.

211. Morais, J. A. G. The New European Medicines Agency Guideline on the Investigation of Bioequivalence [Text] / J. A. G. Morais, M. R. Lobato // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. – 2010. – № 106. – P. 221–225.
212. Morozova, M. A. Definition of manufacturing variability using discriminant analysis : Abstract book of 14 International Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis [Text] / M. A. Morozova, T. E. Elizarova, T. V. Pleteneva. – Pavia, September 21-24, 2011.
213. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fortieth report [Electronic resource]. – Geneva, World Health Organization, 2006 (WHO Technical Report Series, No. 937), Annex 7. – Mode of access : [http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_trs\\_937\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_937_eng.pdf).
214. Murtaza, G. Development of in vitro-in vivo correlation for pharmacokinetic simulation [Text] / G. Murtaza, S. Azhar, A. Khalid [et al.] // African Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2012. – Vol. 6 (4). – P. 257–263.
215. Mark, J. Analytical technology (PAT) production control supplement / J. Mark, M. Andre, M. Karner, C. W. Huck [Text] // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2010. – № 76. – P. 320–327.
216. National Clinical Guideline Centre. Chronic heart failure: the management of chronic heart failure in adults in primary and secondary care [Electronic resource]. – London: National Clinical Guideline Centre, 2010. – Mode of access : <http://guidance.nice.org.uk/CG108/Guidance/pdf/English>.
217. Navneet, V. UV-Spectrophotometric Determination of Metoprolol Succinate [Text] / V. Navneet, A. K. Ghosh, P. Chattopadhyay // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2011. – Vol. 4, Issue 2. – P. 271–272.
218. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, CPMP /EWP /QWP / 1401 / 98 [Electronic resource]. – Mode of access : [http://www.emea.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003519.pdf](http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003519.pdf).
219. Orange Book: Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/docs/tempai.cfm>.
220. Perit, S. Crystal-chemistry of talc: A near infrared (NIR) spectroscopy study [Text] / S. Perit, F. Martin, A. Wiewiora [et al.] // American Mineralogist. – 2004. – Vol. 89. – P. 319–326.
221. Phase I Results of Randomized Evaluation of Left Ventricular Dysfunction (RESOLVD) Trial [Electronic resource] // The American Journal of Management

- Care. – 1998. – Vol. 4, № 7. – Mode of access : <http://www.ajmc.com/media/pdf/AJMCJuly1998YusufS380-S383.pdf>.
222. Plosker, G. L. Controlled release metoprolol formulations. A review of their pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in hypertension and ischaemic heart disease [Text] / G. L. Plosker, S. P. Clissold // *Drugs*. – 1992. – № 43. – P. 382–414.
223. Plugge, W. Near-infrared spectroscopy as a tool to improve quality [Text] / W. Plugge, C. Vlies // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1996. – Vol. 14. – P. 891–898.
224. Sakore, S. Correlation (IVIVC): A Strategic Tool in Drug Development [Text] / S. Sakore, B. Chakraborty // *J Bioequiv Availab*. – 2011. – S3. – P. 1–12.
225. Samal, H. B. Development and characterization of transdermal patches of metoprolol succinate [Text] / H. B. Samal, S. Dey, I. J. Das // *Journal of Pharmacy Research*. – 2011. – Vol. 4, Issue 6. – P. 1644–1647.
226. Saranadasa, H. A multivariate test for similarity of two dissolution profiles [Text] / H. Saranadasa, K. Krishnamoorthy // *Journal of Biopharmaceutical Statistics*. – 2005. – № 15. – P. 265–278.
227. Sawant, S. N. Three simple spectrometric methods for metoprolol succinate in tablet form [Text] / S. N. Sawant, M. R. Ghante, A. S. Deshpande [et al.] // *International Journal of Chemical and Analytical Science*. – 2010. – Vol. 1, Issue 9. – P. 217–218.
228. SE/H/0760/001-004/DC. Public assessment report. Scientific discussion. Metoprolol ratiopharm (metoprolol succinate) [Electronic resource]. – Lakemedelsverket (medical product agency). – Mode of access : [http://www.lakemedelsverket.se/SPC\\_PIL/Pdf/par/Metoprolol%20ratiopharm%20prolonged-release%20tablet.pdf](http://www.lakemedelsverket.se/SPC_PIL/Pdf/par/Metoprolol%20ratiopharm%20prolonged-release%20tablet.pdf).
229. Single-Dose Food In Vivo Bioequivalence Study of Metoprolol Tartrate Tablets (100 mg; Mylan) and Lopressor® (100 mg; Novartis) in Healthy Volunteers. Synopsis [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.mpibiostudies.com/clinicalTrialDetails.aspx?detail=292>.
230. Sirisuth, N. In Vitro–In Vivo Correlation Definitions and Regulatory guidelines [Electronic resource] // N. Sirisuth, N. D. Eddington / *International Journal of Generic Drugs*. – Access of mode : <http://www.locumusa.com/pdf/members/ivivc-01.pdf>.
231. Sneader, W. Drug discovery: a history [Text] / W. Sneader. – John Wiley&Sons Ltd., 2005. – P. 192–194.

232. Sohn, D. R. Utility of a one-point (3-hour postdose) plasma metabolic ratio as a phenotyping test using metoprolol in two east asian populations // D. R. Sohn, M. Kusaka, S. G. Shin [et al.] / *Ther Drug Monitor.* – 1992. – № 14 – P. 184.
233. Solid Materials Checking Using the Near-IR Reflectance Accessory (NIRA). Application Note FT-NIR Spectroscopy [Electronic resource]. – Perkin Elmer Inc., 2010. – Mode of access : [http://www.perkinelmer.com/pdfs/downloads/app\\_solidmaterialsbynira.pdf](http://www.perkinelmer.com/pdfs/downloads/app_solidmaterialsbynira.pdf).
234. Tamboli, A. M. An Overview on Bioequivalence: Regulatory Consideration for Generic Drug Products [Text] / A. M. Tamboli, P. Todkar, P. Zope, F. J. Sayyad // *Journal of Bioequivalence and Bioavailability.* – 2010. – Vol. 2 (4). – P. 86–92.
235. *The British Pharmacopoeia.* – London, 2009.
236. *The Japanese Pharmacopoeia 15-th ed.* – Japan, 2007. – 1357 pp.
237. The SMART Trial (S-Metoprolol Assessment in Hypertension Trial) [Text] / The SMART Trial Study Group // *Cardiology Today.* – July-August 2005. – Vol. IX, № 4. – P. 222–229.
238. *The United States Pharmacopoeia 30-th ed.* – Toronto, 2007 – 3539 pp.
239. *The United States Pharmacopoeia 34-th ed.* Toronto, 2011 – 3539 pp.
240. Thermo Electron Corporation Antaris II. Guide. – USA, 2006.
241. Vachhani, K. H. Development and validation of spectrophotometric method for simultaneous estimation of metoprolol succinate and olmesartan medoxomil in tablet [Text] / K. H. Vachhani, S. A. Patel // *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* – 2011. – № 01 (07). – P. 112–115.
242. Vidon, N. Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. II. Metoprolol in the jejunum and ileum [Text] / N. Vidon, D. Evard, J. Godbillon [et al.] // *Br J Clin Pharmacol.* – 1985. – № 19, Suppl 2. – P. 107–112.
243. Wahlund, G. The b<sub>1</sub>- and b<sub>2</sub>-adrenoreceptors affinity and b-blocking potency of S- and R-metoprolol [Text] / G. Wahlund, V. Nerme, T. Abrahamsson, P. O. Sjoquist // *Brit. J. Pharmacol.* – 1990. – Vol. 99. – P. 592–596.
244. Wankhede, S. B. Validated spectrophotometric methods for quantitative determination of Atorvastatin calcium and Metoprolol succinate in Capsules [Text] / S. B. Wankhede, N. R. Dixit, S. S. Chitlange // *Der Charma Chemica.* – 2010. – № 2 (1). – P. 134–140.
245. Wen, H. Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice [Text] // H. Wen, K. Park. – John Wiley & Sons, 2011. – 363 pp.
246. Wiklund, O. Effect of Controlled Release/Extended Release Metoprolol on Carotid Intima-Media Thickness in Patients With Hypercholesterolemia: A 3-Year

- Randomized Study [Electronic resource] / O. Wiklund, J. Hulthe, J. Wikstrand [et al.] // *Stroke*. – 2002. – № 33. – P. 572–577. – Mode of access : <http://stroke.ahajournals.org/content/33/2/572>.
247. Wikstrand, J. Metoprolol versus thiazide diuretics in hypertension: morbidity results from the MAPHY Study [Text] / J. Wikstrand, I. Warnold, J. Tuomilehlo [et al.] // *Hypertension*. – 1991. – № 17. – P. 579–588.
248. Wikstrand, J. Antiatherosclerotic effects of beta-blockers [Text] / J. Wikstrand, G. Berglund, B. Hedblad, J. Hulthe // *Am J Cardiol*. – 2003. – № 91 (12A). – P. 25–29.
249. Wikstrand, J. Pharmacokinetic Consideration of Formulation: Extended-Release Metoprolol Succinate in the Treatment of Heart Failure [Text] / J. Wikstrand, B. Andersson, M. Kendall [et al.] // *J Cardiovasc Pharmacol*. – 2003. – № 41 (2). – P. 151–157.
250. Wormke, M. A comparative bioequivalence study of two prolonged-release metoprolol preparations [Text] / M. Wormke, A. Puzik, I. Pochic [et al.] // *Geriatrics* – 2012. – № 6. – P. 34–40.

ПРИЛОЖЕНИЯ

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

(обязательное)

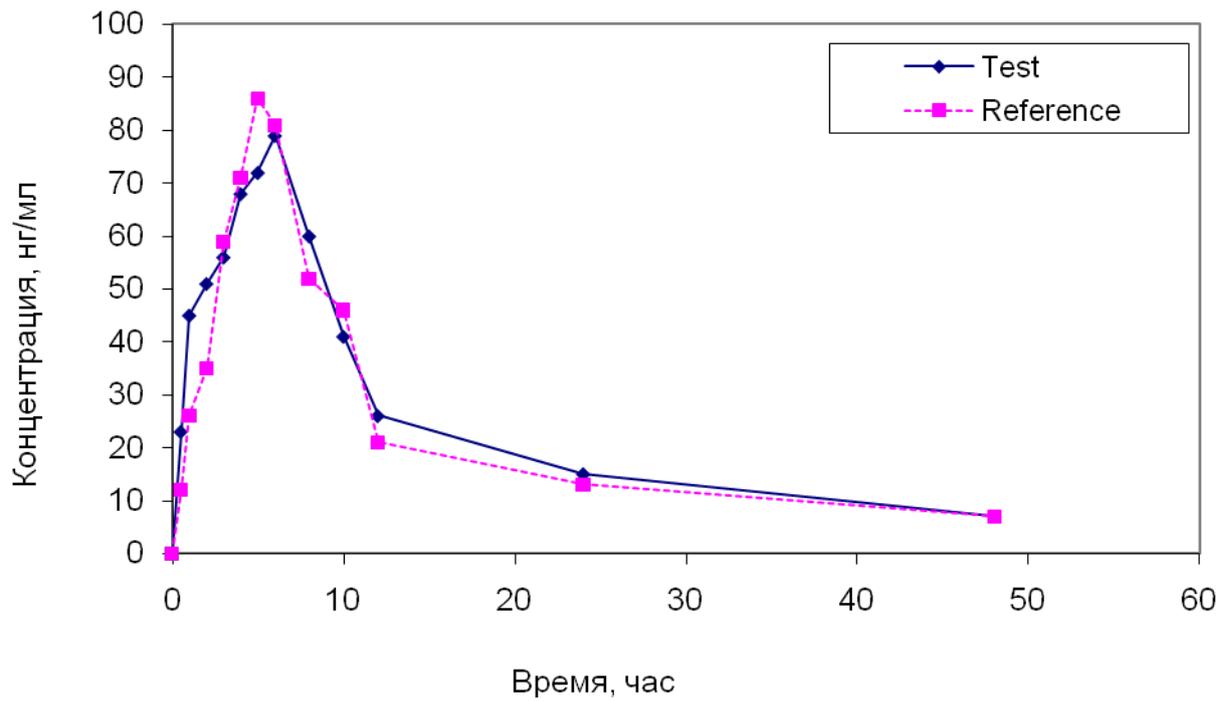
**Фармакокинетическое исследование****Испытуемый №1**

Рисунок 1 – Динамика концентрации метопролола добровольца №1 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 2

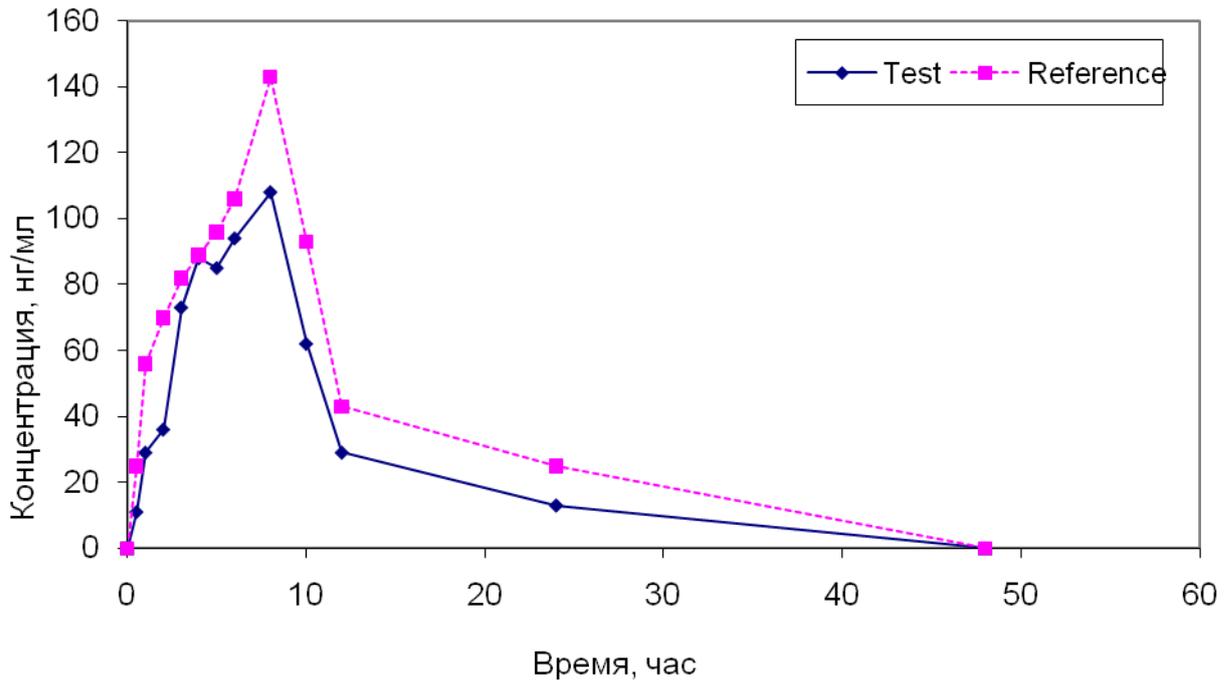


Рисунок 2 – Динамика концентрации метопролола добровольца №2 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 3

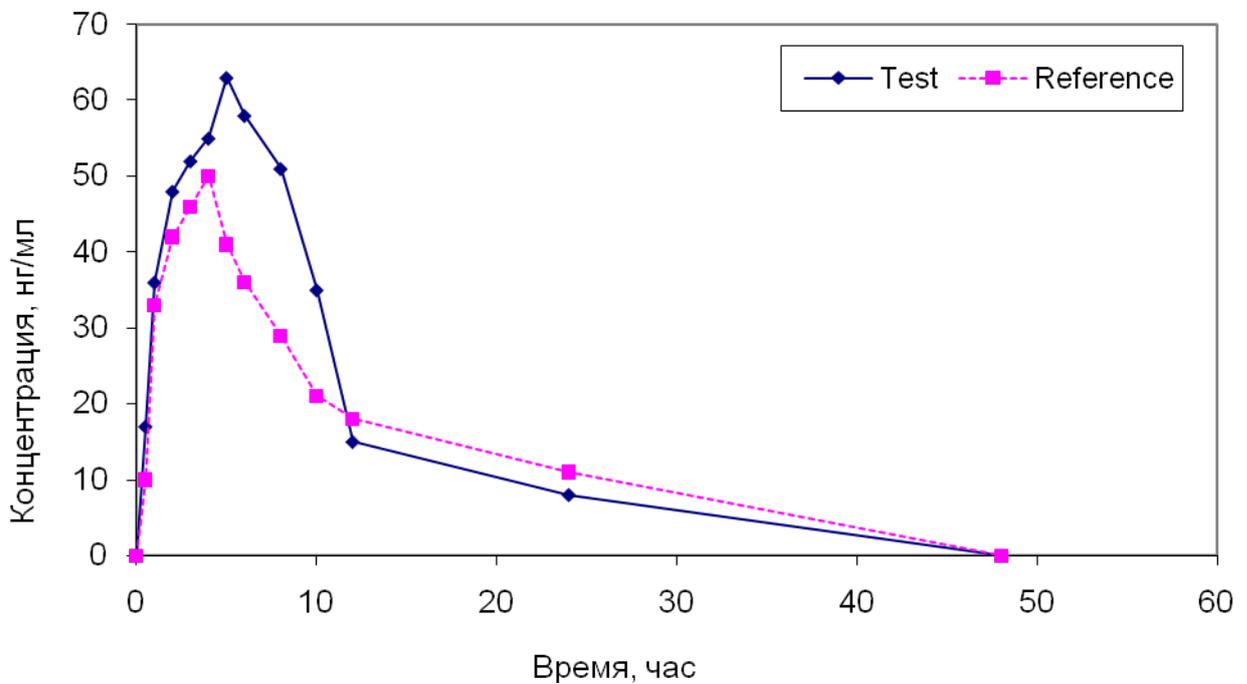


Рисунок 3 – Динамика концентрации метопролола добровольца №3 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 4

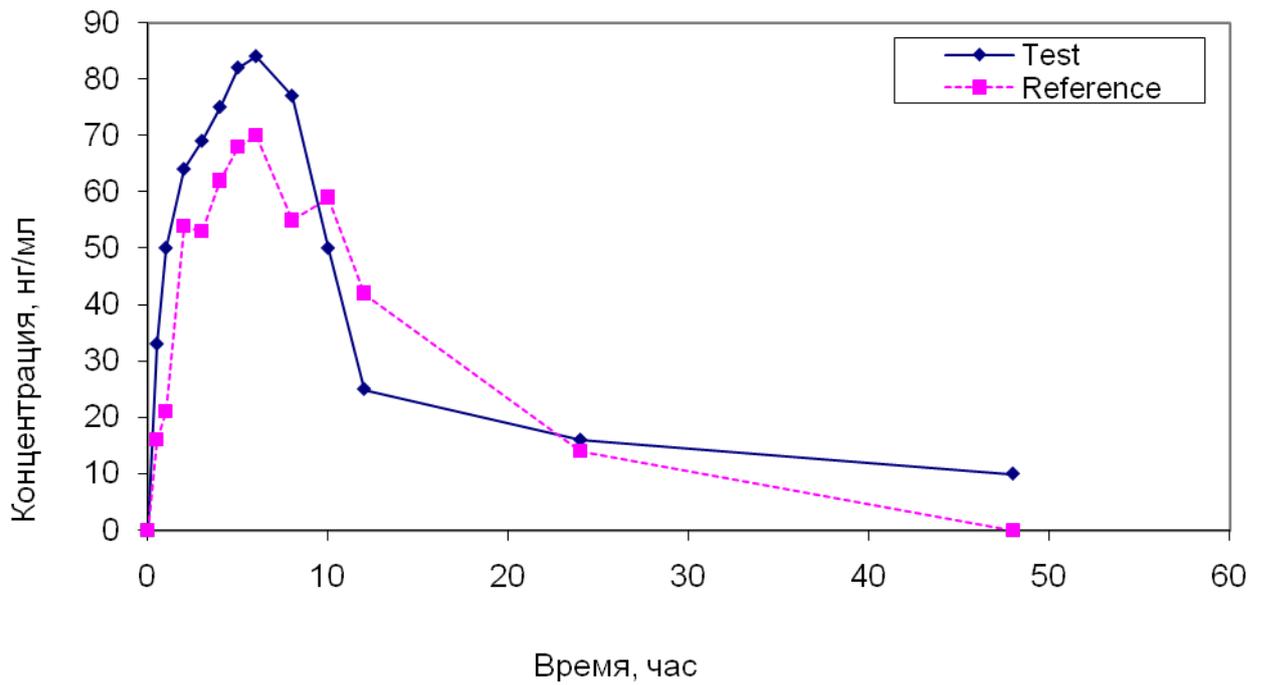


Рисунок 4 – Динамика концентрации метопролола добровольца №4 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 5

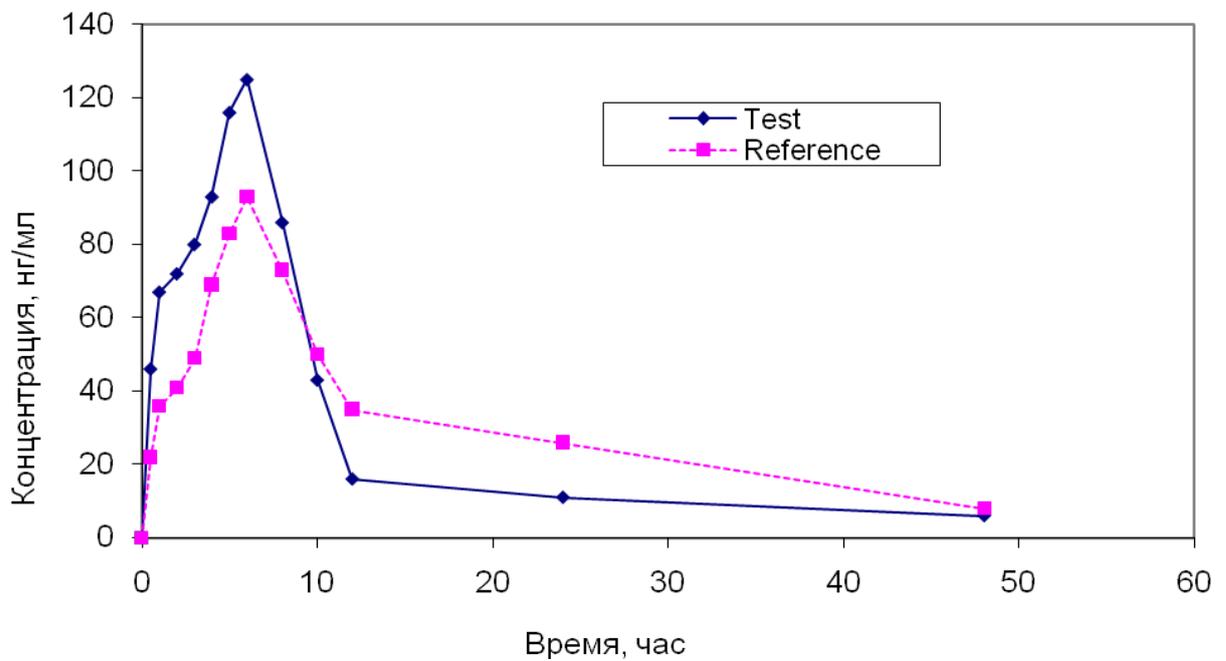


Рисунок 5 – Динамика концентрации метопролола добровольца №5 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 6

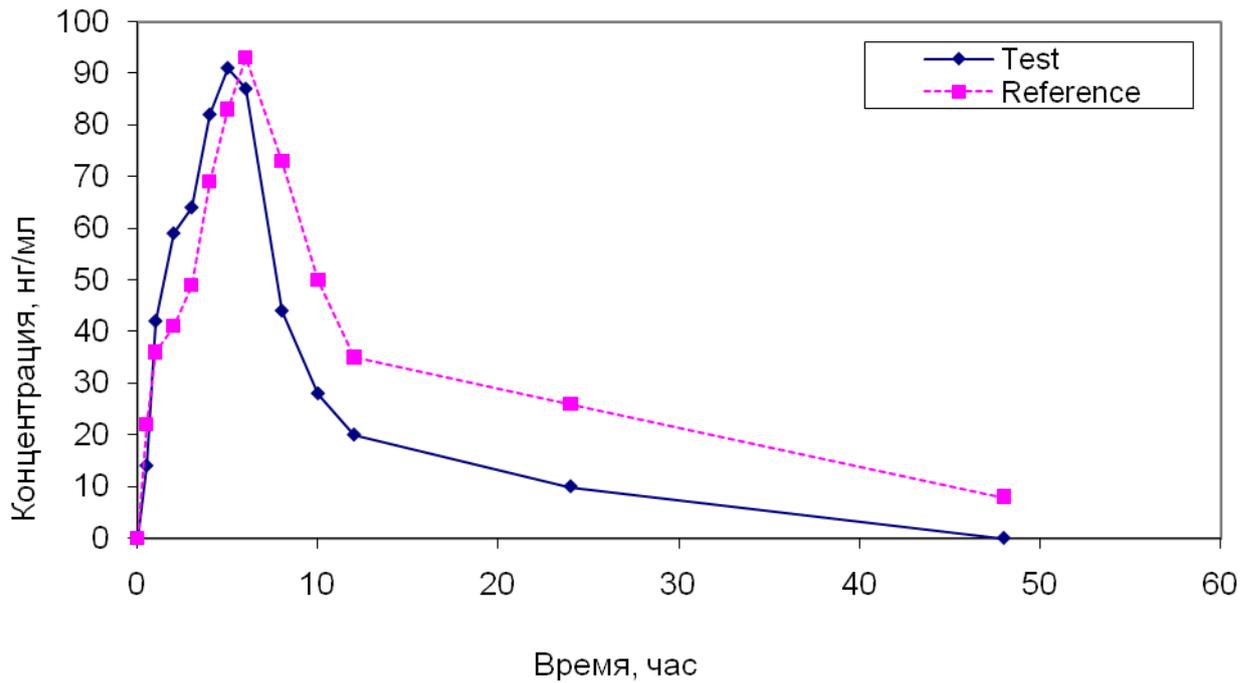


Рисунок 6 – Динамика концентрации метопролола добровольца №6 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 7

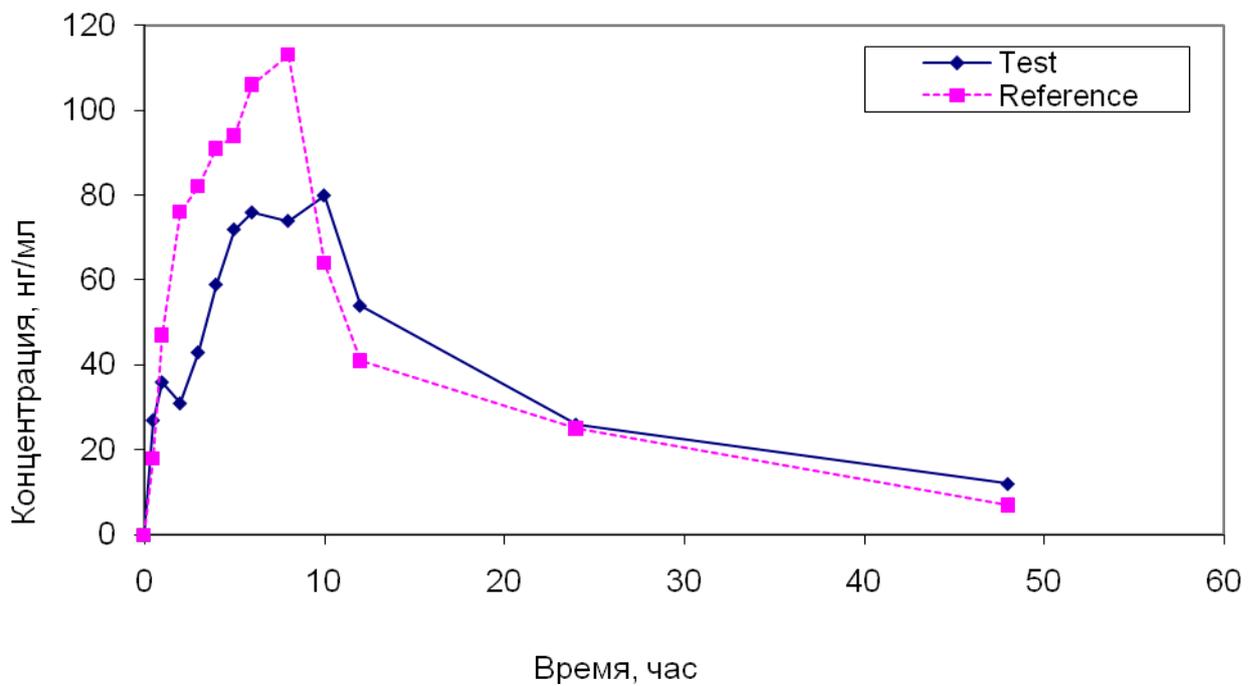


Рисунок 7 – Динамика концентрации метопролола добровольца №7 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 8

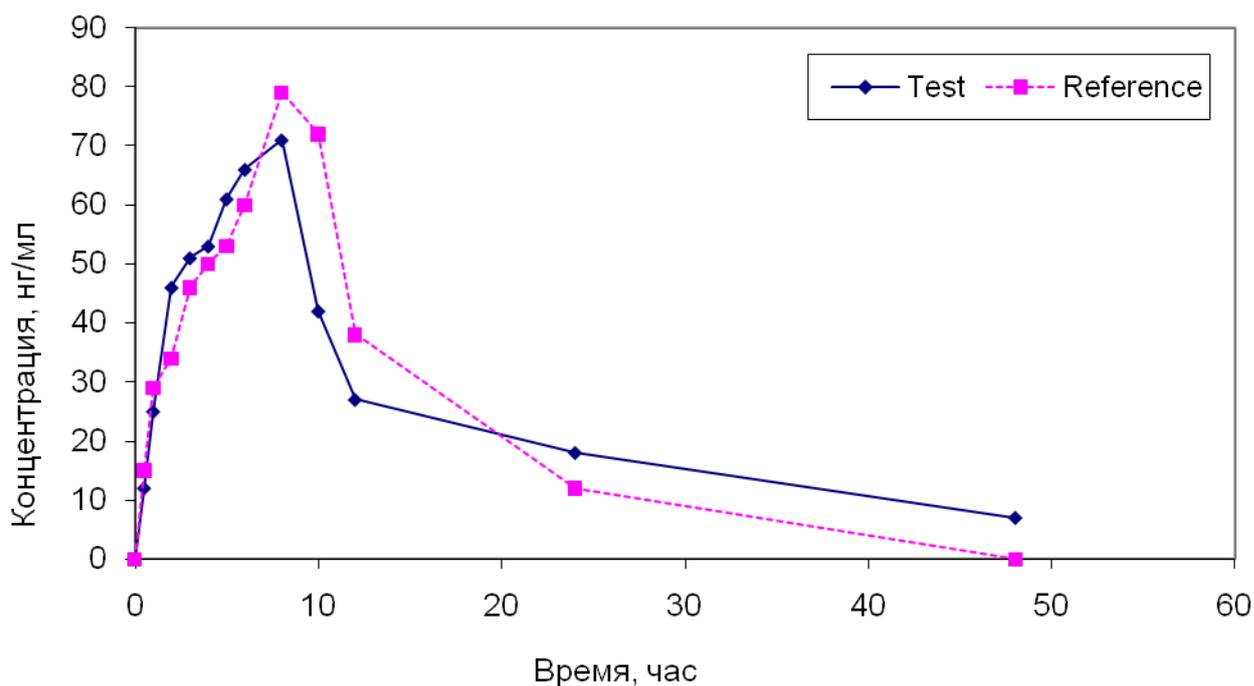


Рисунок 8 – Динамика концентрации метопролола добровольца №8 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 9

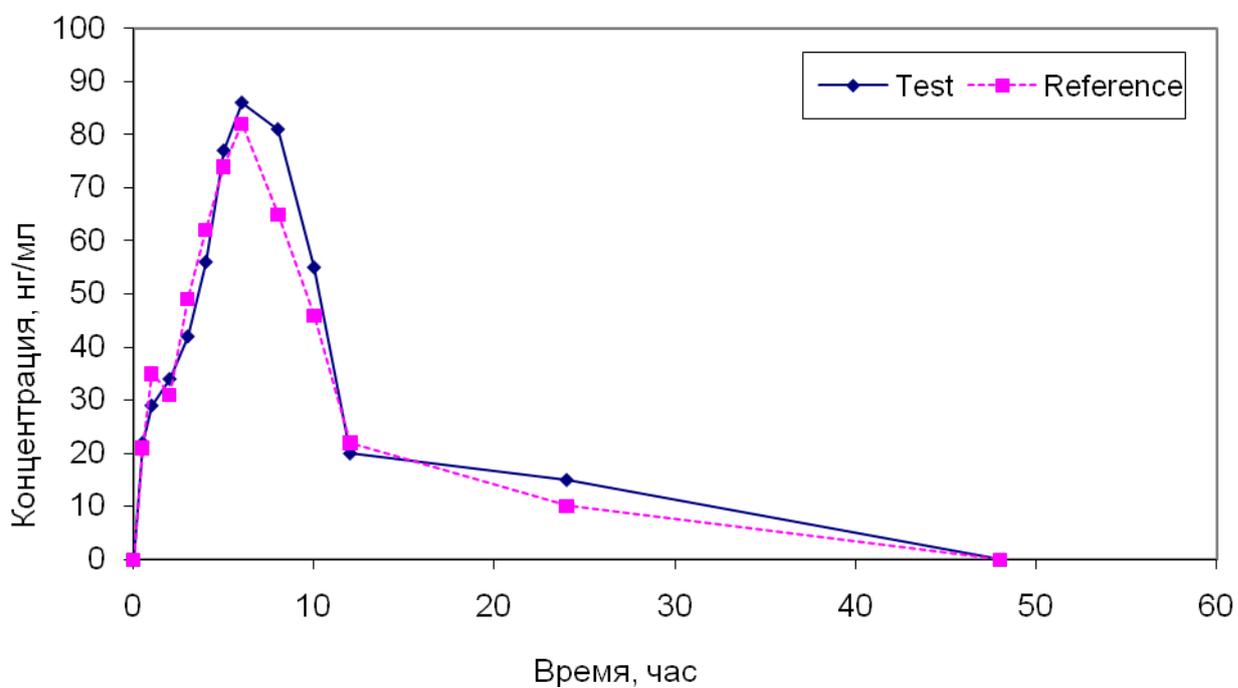


Рисунок 9 – Динамика концентрации метопролола добровольца №9 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 10

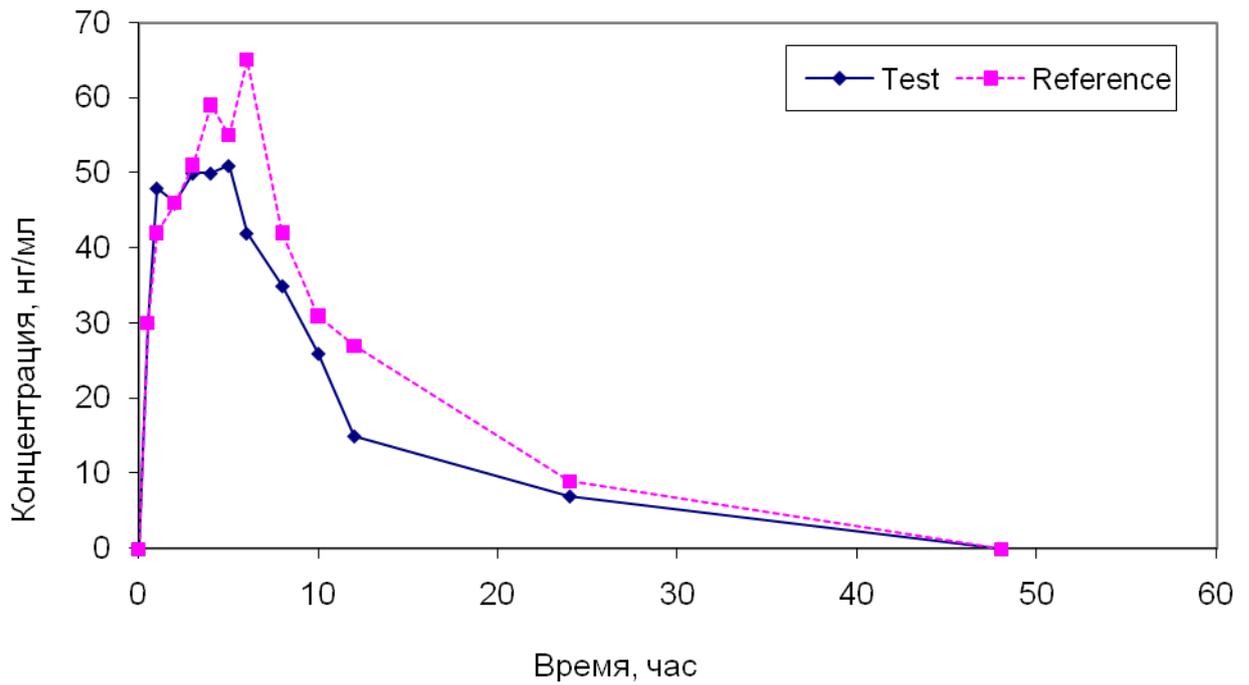


Рисунок 10 – Динамика концентрации метопролола добровольца №10 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 11

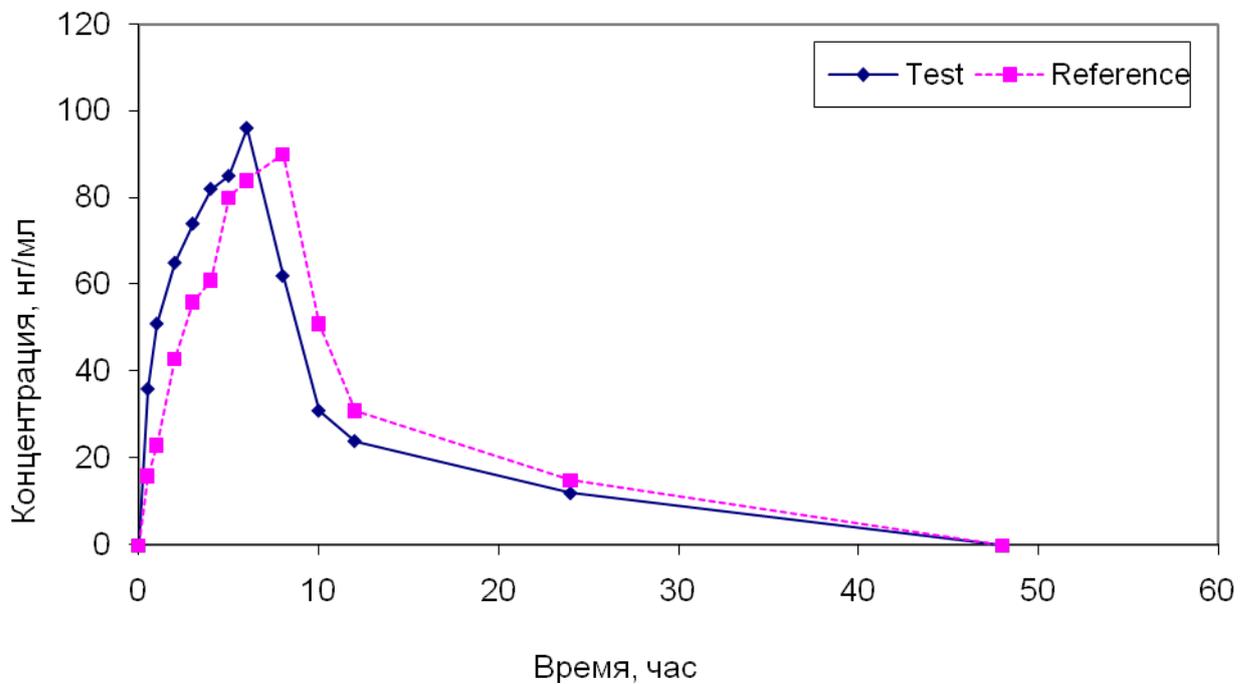


Рисунок 11 – Динамика концентрации метопролола добровольца №11 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 12

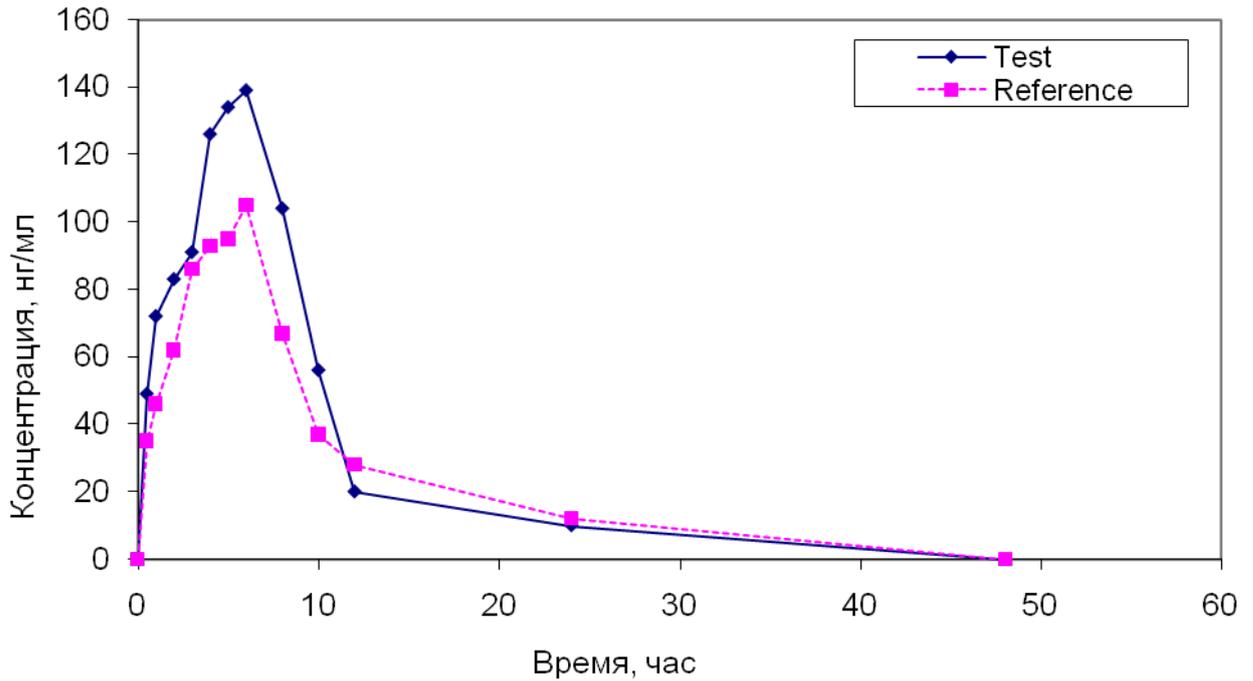


Рисунок 12 – Динамика концентрации метопролола добровольца №12 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 13

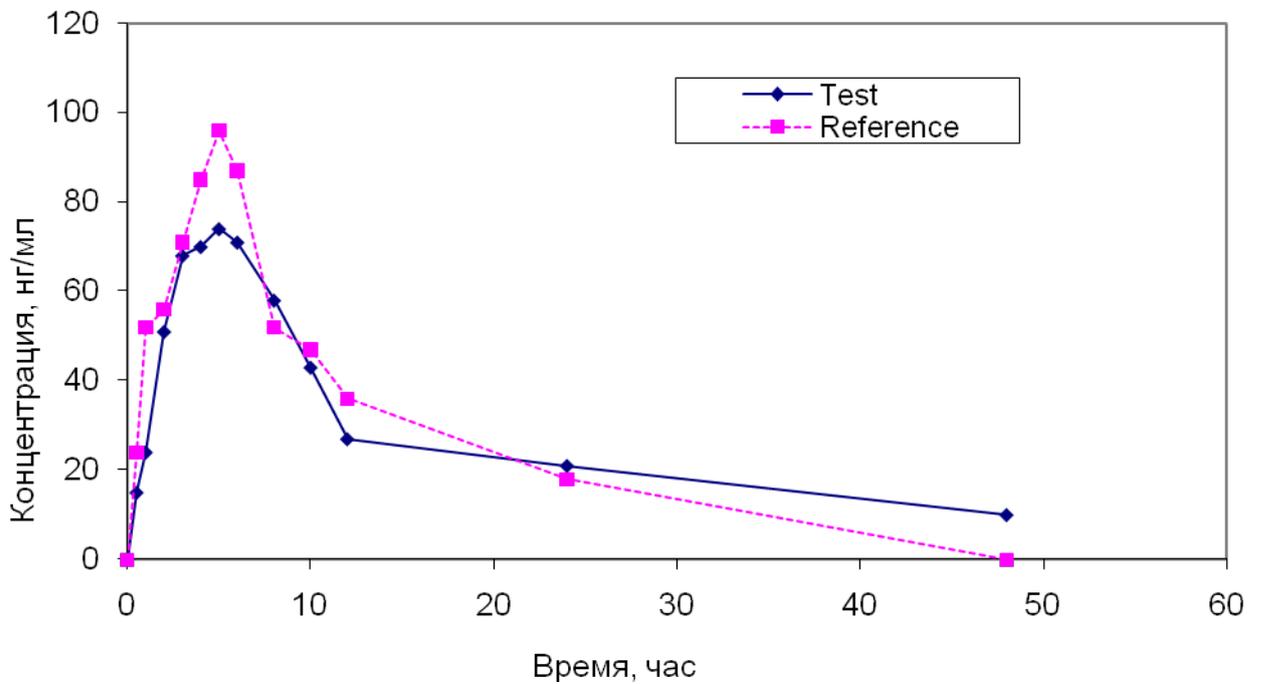


Рисунок 13 – Динамика концентрации метопролола добровольца №13 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 14

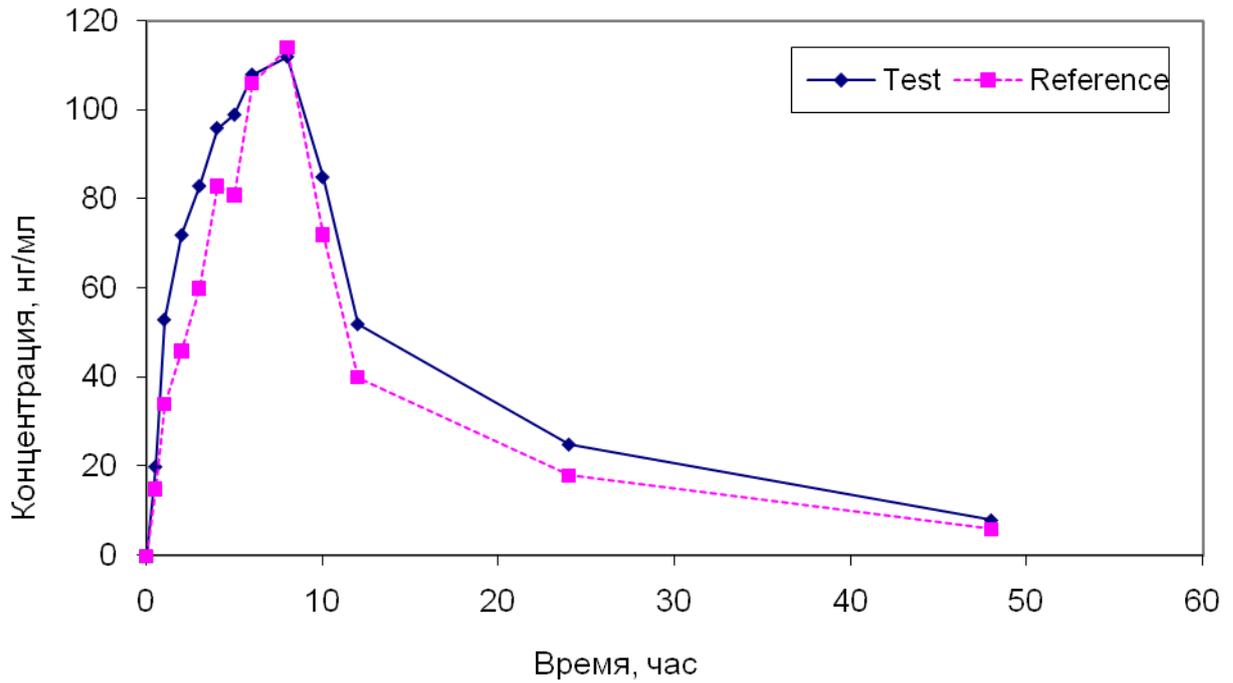


Рисунок 14 – Динамика концентрации метопролола добровольца №14 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 15

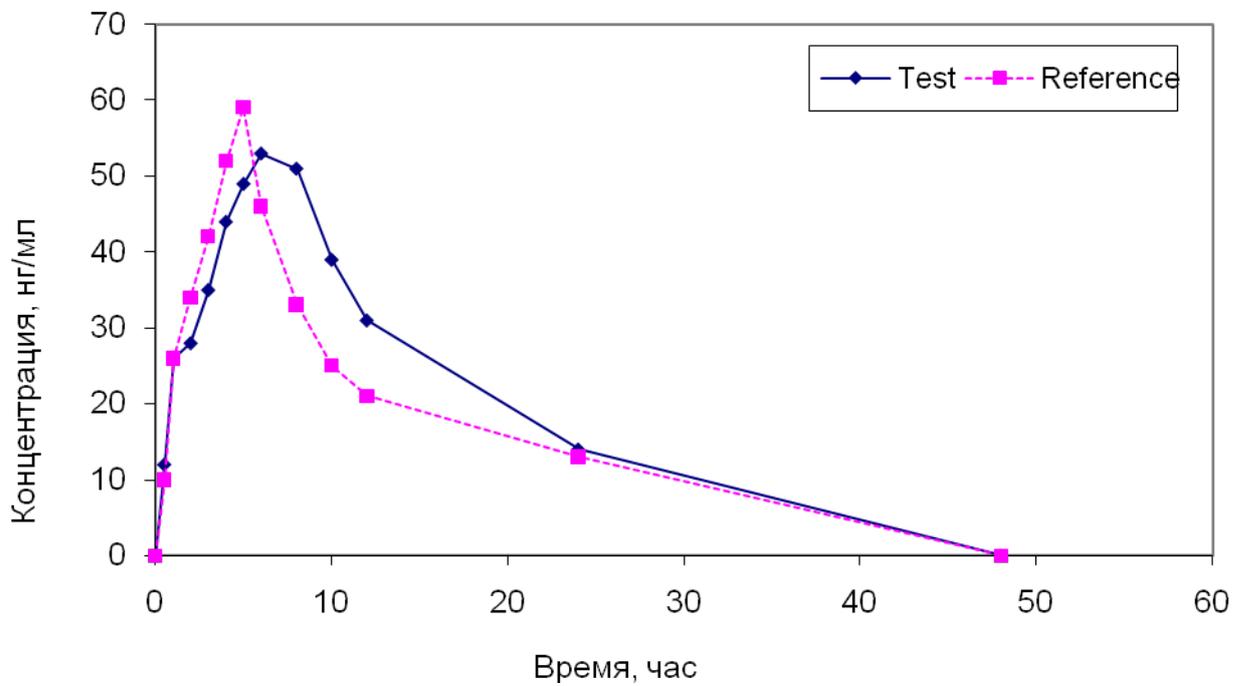


Рисунок 15 – Динамика концентрации метопролола добровольца №15 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 16

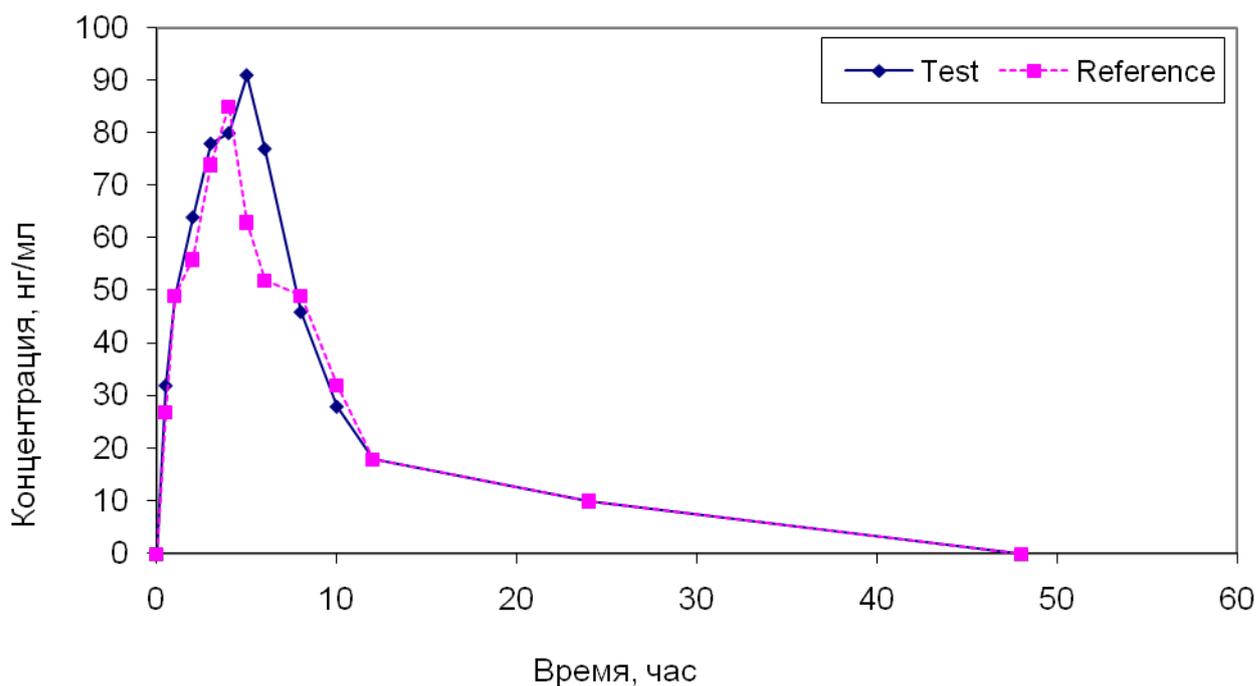


Рисунок 16 – Динамика концентрации метопролола добровольца №16 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 17

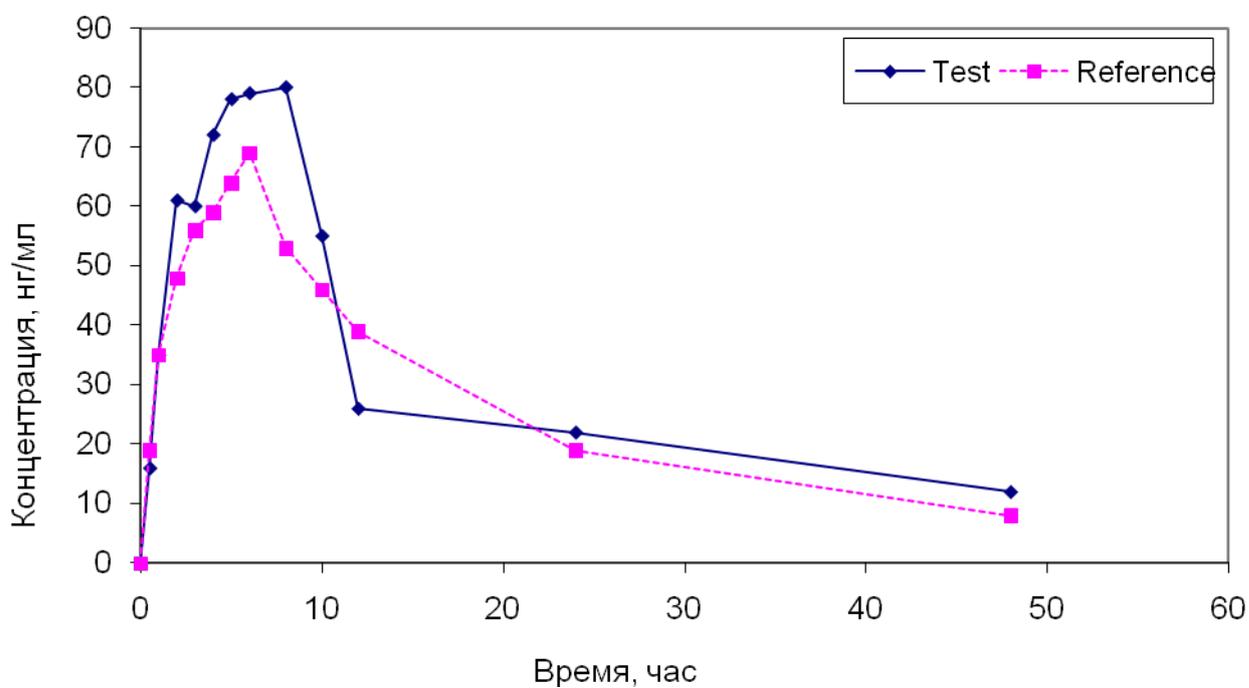


Рисунок 17 – Динамика концентрации метопролола добровольца №17 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)

## Испытуемый № 18

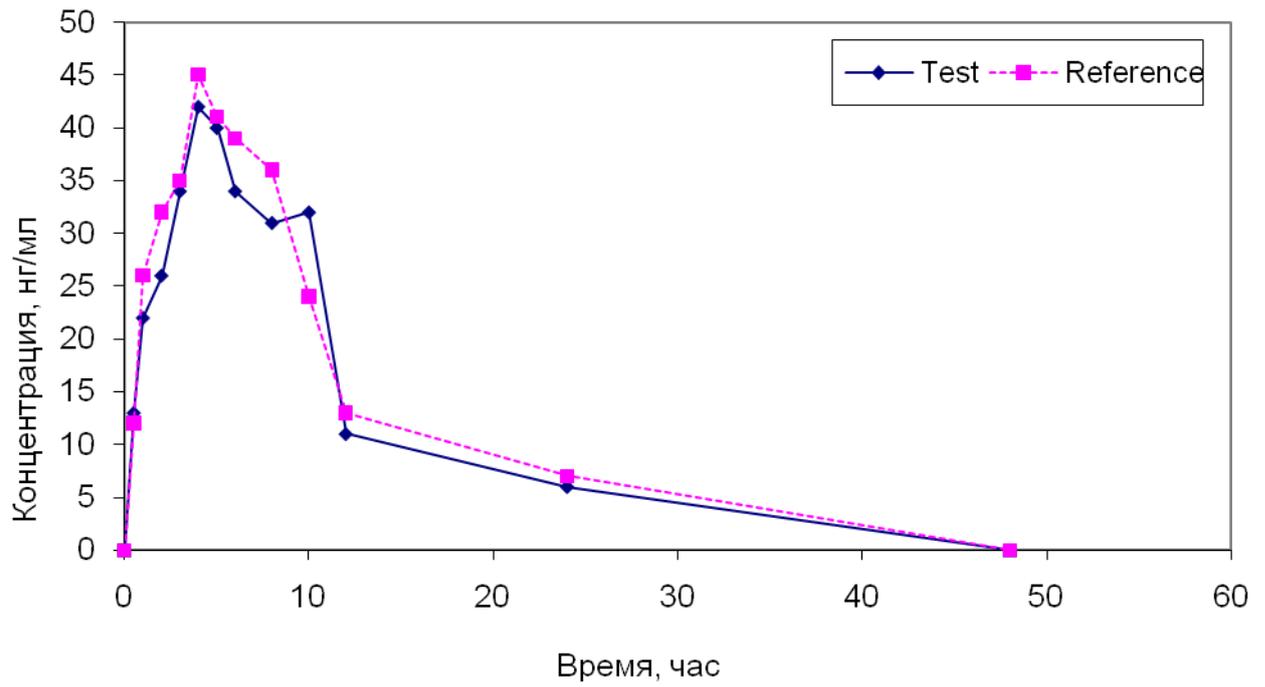


Рисунок 18 – Динамика концентрации метопролола добровольца №18 (Test – Метозок, Reference – Беталок ЗОК)