

Планирование и оценка исследований биоэквивалентности препаратов розувастатина

Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Статья поступила 25.05.2017 г. Принята к печати 21.08.2017 г.

Резюме: В статье представлены результаты ретроспективного анализа исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов розувастатина отечественного и зарубежного производства с целью унификации подходов к проведению исследований биоэквивалентности розувастатина в Российской Федерации. Описаны существующие в настоящее время регуляторные рекомендации и подходы к изучению биоэквивалентности воспроизведенных препаратов, в частности препаратов розувастатина, высоковариабельных лекарственных препаратов, сформулированы рекомендации в отношении дизайна и оценки результатов исследований препаратов розувастатина.

Ключевые слова: исследование биоэквивалентности; розувастатин; высоковариабельные препараты; фармакокинетика; высокоэффективная жидкостная хроматография.

Библиографическое описание: Ромодановский ДП, Горячев ДВ. Планирование и оценка исследований биоэквивалентности препаратов розувастатина. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(3): 142–149.

В настоящее время регистрируется большое количество воспроизведенных препаратов ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктазы), часто называемых статинами.

Одним из представителей данной группы препаратов является розувастатин, который считается более «мощным» в липидснижающем действии по сравнению с классическими, хорошо зарекомендовавшими себя в клинической практике статинами (аторвастатин и симвастатин) [1, 2].

Проведение исследований биоэквивалентности в сравнении с зарегистрированным референтным препаратом (за исключением препаратов, для которых проведение данного исследования невозможно) является требованием к регистрации для большинства воспроизведенных препаратов [3–5].

В своей предыдущей статье мы уже останавливались на проблемах исследований биоэквивалентности препаратов розувастатина, в частности на возможной высокой вариабельности фармакокинетических параметров розувастатина в исследованиях биоэквивалентности [6]. По результатам проведенного анализа мы предположили, что в отсутствие надежных данных, опровергающих высокую вариабельность препаратов розувастатина, целесообразно предусматривать дизайн исследований биоэквивалентности, как для высоковариабельных препаратов.

Согласно наиболее часто используемому определению, высоковариабельные лекарственные препараты (ЛП) — это препараты, у которых коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) одного из двух основных параметров биоэквивалентности (максимальная концентрация в крови (C_{max}) и площадь под кривой «концентрация–время» (AUC)) составляет $\geq 30\%$. Другими словами, это препараты, скорость и степень всасывания которых демонстрируют высокую вариабельность у одного и

того же субъекта при приеме ЛП в одинаковой дозировке [6, 7].

Цель работы — ретроспективный анализ результатов проведенных экспертиз отчетов исследований биоэквивалентности, поступавших на регистрацию препаратов розувастатина за 2010–2015 гг., и подготовка рекомендаций по планированию, дизайну и оценке результатов исследований биоэквивалентности.

Настоящие рекомендации, с одной стороны, позволяют унифицировать требования к объему необходимых исследований (включая размер выборки участников) с целью доказательства биоэквивалентности препаратов, с другой стороны, позволят разработчикам оптимально планировать программу развития воспроизведенного препарата и избежать ошибок в процессе его разработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Проведен ретроспективный анализ 17 регистрационных досье препаратов розувастатина на предмет выявления особенностей дизайна исследований биоэквивалентности розувастатина, признаков возможной высокой вариабельности по критерию: выявленные факты $CV_{intra} \geq 30\%$, проблемы и ошибки исследований биоэквивалентности розувастатина.

В рамках ретроспективного анализа мы провели перерасчет основных фармакокинетических параметров C_{max} и AUC_{0-t} (AUC в интервале времени от 0 до момента t отбора последней пробы крови) из исходных данных о концентрациях розувастатина исследуемых препаратов в сравнении с референтным препаратом. AUC_{0-t} рассчитывали методом трапеций в программе Microsoft Office Excel 2007. Фармакокинетические параметры были логарифмически преобразованы и подвергнуты дисперсионному анализу (Analysis of variance (ANOVA)) [8] с помощью программы Statistica 10. В дисперсионный анализ были включены следующие факторы, вносящие вклад в

наблюдаемую вариацию данных: различия между препаратами, различия между испытуемыми (межиндивидуальные различия), последовательность приема препаратов, периоды исследования. На основании полученных значений были рассчитаны 90 % доверительные интервалы и CV_{intra} .

2. Проведен анализ научной литературы и данных, полученных по запросам в поисковых системах (PubMed, Google, Researchgate) в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», с целью оценки дизайна и результатов исследований биоэквивалентности препаратов розувастатина. Критерии первичного поиска — «биоэквивалентность», «исследования биоэквивалентности», «розувастатин». В результате проведенного поиска были найдены 12 открытых источников, описывающих исследования биоэквивалентности розувастатина. Среди них проведен более узкий поиск с целью выявления приемлемых для анализа данных по критерию наличия сведений о дизайне исследования, количеству включенных в статистический анализ субъектов, полученных 90 % доверительных интервалов и по данным о CV_{intra} или MSE (среднеквадратическая ошибка). По результатам поиска найдено семь источников, соответствующих всем необходимым критериям. Выявлены и обобщены ключевые аспекты в дизайне проведенных исследований, а также проанализированы полученные в исследованиях результаты (полученные исследователями 90 % доверительные интервалы и CV_{intra}). Если сведения о CV_{intra} не были указаны, нами производился расчет CV_{intra} на основании полученных доверительных интервалов и сведений о разбросе выборки в исследованиях.

3. «Спроектировано» два модельных исследования на основе реальных данных о концентрациях референтного препарата розувастатина (Крестор®) из четырех исследований. Два исследования биоэквивалентности для дозировки 20 мг, проведенные у 18 здоровых добровольцев, с одним и тем же аналитическим центром, с использованием одинакового метода определения розувастатина в плазме крови и одинаковым нижним пределом количественного определения (НПКО). Два других исследования биоэквивалентности для дозировки 40 мг, проведенные у 28 здоровых добровольцев, с одним и тем же клиническим и аналитическим центрами, с использованием одинакового метода определения розувастатина и НПКО. Используемые аналитические методы были валидированы по аналогичной схеме, результаты валидации также были сопоставимы.

В рамках модельных исследований проведен расчет основных фармакокинетических параметров C_{max} и AUC_{0-t} . Значение AUC_{0-t} рассчитано методом трапеций. Фармакокинетические параметры были логарифмически преобразованы и подвергнуты дисперсионному анализу ANOVA [8]. В ANOVA были включены следующие факторы, вносящие вклад в наблюдаемую вариабельность данных: различия между препаратами, различия между субъектами (межиндивидуальные различия), последовательность приема препаратов, периоды исследования. На основании полученных значений был определен CV_{intra} для препаратов, рассчитаны 90 % доверительные интервалы с использованием программ Statistica 10, Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ретроспективный анализ

Проведен анализ результатов 17 исследований биоэквивалентности (табл. 1).

В исследованиях биоэквивалентности изучались дозы розувастатина — 20 и 40 мг. Выбор различных доз был обусловлен возможностью метода определения концентраций розувастатина, а также максимальной дозировкой в линейке дозировок воспроизведенных препаратов.

В качестве референтного препарата во всех исследованиях был использован оригинальный препарат Крестор® в соответствующих дозировках.

В одном исследовании предполагалось, что розувастатин может обладать высокой CV_{intra} , в связи с чем для исследований биоэквивалентности был выбран полуповторный перекрестный дизайн исследования с тремя периодами в двух последовательностях с определением CV_{intra} референтного препарата для возможного расширения границ признания биоэквивалентности в случае высокого значения CV_{intra} ($\geq 30\%$).

В остальных рассмотренных случаях был использован стандартный дизайн — рандомизированное, двухэтапное перекрестное в двух последовательностях исследование с приемом однократной дозы.

Количество здоровых добровольцев в исследованиях значительно варьировало от 18 и более, однако в большинстве случаев или было равно 24, или превышало данное значение (рис. 1). Исследования с количеством добровольцев 18 человек при ретроспективном анализе вызвали ряд сомнений в качестве их проведения, с учетом современных научных подходов в отношении требований к исследованиям биоэквивалентности и отчетности к ним.

В большинстве случаев длительность забора образцов крови для фармакокинетического анализа составляла 72 ч. Среднее время достижения максималь-

Таблица 1

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ПО ПРОВЕДЕННЫМ ИССЛЕДОВАНИЯМ

№	Дизайн	Дозировка, мг	Референтный препарат	Место проведения	Количество добровольцев
1	2×2×2	20	Крестор	Македония	42
2	2×2	40	Крестор	Канада	39
3	2×2	20	Крестор	Россия	18
4	2×2	20	Крестор	Россия	18
5	2×2	20	Крестор	Россия	30
6	2×2	40	Крестор	Россия	24
7	2×2	40	Крестор	Россия	24
8	2×2	40	Крестор	Россия	24
9	2×2	20	Крестор	Россия	40
10	2×2	20	Крестор	Россия	18
11	2×2	20	Крестор	Россия	24
12	2×2	40	Крестор	Россия	24
13	2×2	20	Крестор	Россия	34
14	2×2	40	Крестор	Россия	28
15	2×2	40	Крестор	Россия	28
16	2×2	20	Крестор	Россия	28
17	2×2	20	Крестор	Россия	36

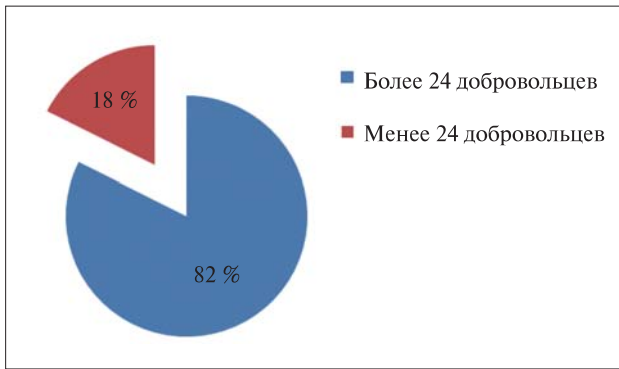


Рис. 1. Количество здоровых добровольцев по данным 17 исследований биоэквивалентности

ной концентрации в исследованиях изучаемых препаратов и референтного препарата составило $3,80 \pm 0,62$ ч и $3,77 \pm 0,59$ ч соответственно (табл. 2). Согласно сведениям, содержащимся в инструкции референтного препарата, время достижения максимальной концентрации составляет 5 часов [9]. Таким образом, при выборе точек забора образцов крови для фармакокинетического анализа следует учитывать общую длительность 72 ч, и более частый отбор образцов крови в диапазоне времени достижения C_{max} (2,5–5,5 ч).

Период отмывки в большинстве исследований составлял 14 дней и соответствовал правилу «не менее пяти периодов полувыведения», учитывая период полувыведения 19 ч [9].

Наиболее часто для определения розувастатина в пробах крови использовался аналитический метод — высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с масс-спектрометрической детекцией или тандемной масс-спектрометрической детекцией.

В зависимости от использованного аналитического метода нижний предел количественного определения (НПКО) варьировал от 0,05 до 2 нг/мл, но наиболее часто значения НПКО находились в диапазоне 0,2–0,5 нг/мл (табл. 2).

В отчетах исследований биоэквивалентности было указано, что CV_{intra} фармакокинетических показателей (AUC_{0-t} , C_{max}) не превышает 30 %, однако в ряде исследований для AUC_{0-t} и C_{max} была показана большая CV_{intra} (около 18 % и 35 % исследований соответственно) (рис. 2, табл. 3).

По результатам ретроспективного анализа было выявлено, что CV_{intra} фармакокинетических показателей AUC_{0-t} и C_{max} превышает 30 % в 12 % и 24 % рассмотренных случаев соответственно (рис. 2, табл. 4). Таким образом, некоторые проведенные исследования не соответствовали современным научным подходам в отношении требований к исследованиям биоэквивалентности и ошибочно продемонстрировали более высокую вариабельность розувастатина.

Таблица 2

ГРАФИКИ ЗАБОРА ОБРАЗЦОВ КРОВИ, T_{max} , ПЕРИОДЫ ОТМЫВКИ, АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

№	Временные точки, ч	T_{max} T, ч	T_{max} R, ч	Период отмывки, сут	Аналитический метод	НПКО, нг/мл
1	1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 18; 24; 30; 48; 72; 96	3,96	4,22	14	ВЭЖХ МС/МС	0,05045
2	1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 7; 8; 9; 12; 16; 24; 36; 48; 72; 96	4,33	4,36	14	ВЭЖХ МС/МС	—
3	0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 12; 24; 36; 48; 72	3,1	3,3	14	ВЭЖХ МС	0,2
4	0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 12; 24; 36; 48; 73	3,3	3,4	14	ВЭЖХ МС	0,2
5	0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 18; 24; 30; 48; 72	4,75	4,63	14	ВЭЖХ УФ	0,2
6	0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,2; 4,4; 5; 5,2; 5,4; 6; 8; 12; 24; 36; 48; 72	3,12	3,77	14	ВЭЖХ МС	0,1
7	0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 24; 48; 80	2,69	2,73	10	ВЭЖХ МС	1
8	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	3,5	3,71	14	ВЭЖХ МС	2
9	0,75; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 7; 8; 10; 14; 24; 36; 48; 72; 96	3,9	4,13	14	ВЭЖХ МС/МС	0,5
10	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	4,22	4,11	14	ВЭЖХ МС	0,5
11	1; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 24; 48; 72	4,46	3,54	14	ВЭЖХ МС/МС	0,5
12	1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 12; 24; 48; 72	3,96	3,96	14	ВЭЖХ МС/МС	1,5
13	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	4,82	4,94	14	ВЭЖХ МС/МС	0,1
14	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	3,43	3,36	14	ВЭЖХ МС	1,5
15	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	3,57	3,29	14	ВЭЖХ МС	1,5
16	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48; 72	4,21	3,75	14	ВЭЖХ МС/МС	0,25
17	1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 16; 24; 36; 48; 72	3,22	2,86	14	ВЭЖХ МС/МС	0,2
Mean		3,80	3,77			
SD		0,62	0,59			

Примечание: T_{max} — время достижения максимальной концентрации в крови; T — тестируемый препарат; R — референтный препарат (оригинальный препарат); НПКО — нижний предел количественного определения; Mean — арифметическое среднее; SD — стандартное отклонение; ВЭЖХ МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с масспектрометрической детекцией; ВЭЖХ МС/МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масспектрометрической детекцией; ВЭЖХ УФ — высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовой детекцией

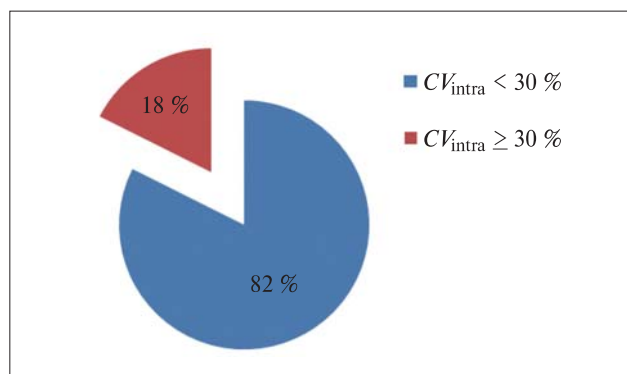


Рис. 2. Значения коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности площади под кривой «концентрация–время» по данным 17 исследований биоэквивалентности

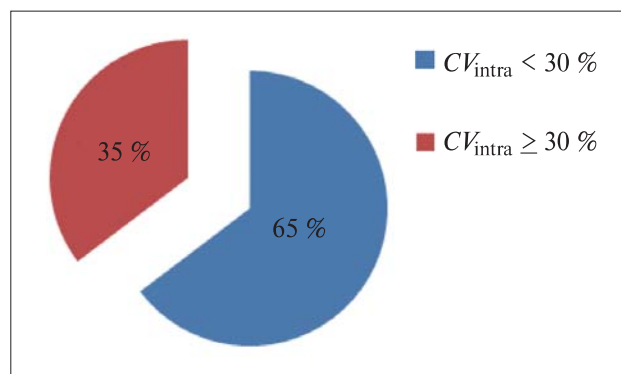


Рис. 3. Значения коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности максимальной концентрации по данным 17 исследований биоэквивалентности

Таблица 3

СВЕДЕНИЯ О КОЭФФИЦИЕНТЕ ВНУТРИИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ ОТЧЕТОВ

№	MSE AUC _{0-t}	MSE C _{max}	CV _{intra} AUC _{0-t} %	CV _{intra} C _{max} %
1	Нет данных	Нет данных	24,50	30,60
2	0,02050	0,03490	14,38	18,85
3	0,00996	0,01417	10,00	11,95
4	0,00470	0,00472	6,86	6,88
5	0,00100	0,00600	3,16	7,76
6	0,06730	0,04545	26,39	21,56
7	0,00600	0,00100	8,02	3,44
8	0,06600	0,03800	26,12	19,68
9	0,04418	0,10723	20,67	33,64
10	0,00600	0,01000	7,49	3,32
11	0,01500	0,03480	12,29	18,82
12	0,06341	0,09555	25,58	31,67
13	0,06300	0,09500	25,50	31,57
14	0,13927	0,11210	38,66	34,44
15	0,06452	0,02191	25,82	14,89
16	0,08974	0,07900	30,64	28,67
17	0,23300	0,20900	48,21	51,22

Примечание: AUC_{0-t} — площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до момента t отбора последней пробы крови; C_{max} — максимальная концентрация в крови; CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности; MSE — среднеквадратическая ошибка

Анализ данных литературы

С целью сравнительной оценки используемых дизайнов и полученных данных были проанализированы результаты опубликованных исследований биоэквивалентности розувастатина. В результате проведенного поиска было выявлено семь доступных источников (табл. 5) [10–16].

В случае отсутствия в источниках данных по CV_{intra}, значение коэффициента рассчитывали, исходя из известных значений полученных 90 % доверительных интервалов и данных о количестве добровольцев, включенных в статистический анализ по следующему формулам.

Таблица 4

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕТРОСПЕКТИВНОГО АНАЛИЗА

№	MSE AUC _{0-t}	MSE C _{max}	CV _{intra} AUC _{0-t} %	CV _{intra} C _{max} %
1	Нет данных	Нет данных	Не рассчитывался	29,73
2	0,02065	0,03491	14,44	18,85
3	0,01037	0,01558	10,21	12,53
4	0,02055	0,02134	14,41	14,69
5	0,00124	0,00590	3,53	7,69
6	0,06692	0,04549	26,31	21,57
7	0,01309	0,00117	11,48	3,43
8	0,06619	0,03804	26,16	19,69
9	0,04241	0,16862	20,81	42,86
10	0,00584	0,01000	7,65	3,16
11	0,01430	0,03479	12,00	18,82
12	0,05300	0,09500	23,33	31,57
13	0,06996	0,07404	26,92	27,72
14	0,11061	0,11201	34,20	34,43
15	0,05301	0,02191	14,88	23,33
16	0,07211	0,07900	27,34	28,67
17	0,19891	0,23302	46,91	51,23

Примечание: AUC_{0-t} — площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до момента t отбора последней пробы крови; C_{max} — максимальная концентрация в крови; CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности; MSE — среднеквадратическая ошибка

Точечная оценка по доверительным интервалам вычислялась с использованием формулы:

$$PE = CL_{lo} \cdot CL_{hi} \tag{1}$$

Далее определяли разницу между верхней границей доверительного интервала и значением полученной точечной оценки на логарифмической шкале:

$$\Delta_{CL} = \ln PE - \ln CL_{hi} \tag{2}$$

Затем определяли значение средней квадратичной ошибки (MSE) по формуле:

$$MSE = 2 \cdot [\Delta_{CL} / \sqrt{1/n_1 + 1/n_2} \cdot t_{1-\alpha, n_1+n_2-2}]^2 \tag{3}$$

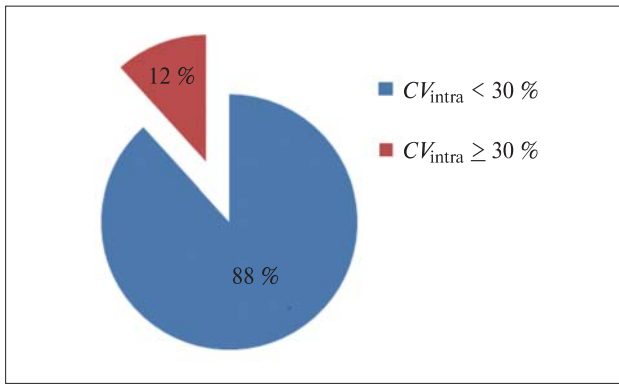


Рис. 4. Значения коэффициента внутрииндивидуальной вариативности площади под кривой «концентрация–время» по данным ретроспективного анализа результатов 17 исследований биоэквивалентности

По значению *MSE* вычисляли CV_{intra} по формуле:

$$CV_{intra} = \sqrt{\exp MSE - 1}. \quad (4)$$

Таким образом, в результате проведенного нами анализа установлено, что по данным литературы в большинстве случаев не наблюдалось высокой внутрииндивидуальной вариативности параметров розувастатина C_{max} и AUC_{0-t} , но полученные значения CV_{intra} колебались в относительно широких пределах

в указанных исследованиях. Это может быть связано с тем, что численность добровольцев в исследованиях существенно варьировала. Дизайны всех исследований были схожими: рандомизированное, двухпериодное перекрестное в двух последовательностях исследование с приемом однократной дозы.

Модельные исследования

Два проведенных нами модельных исследования показали высокую вариативность C_{max} и AUC_{0-t} по данным дисперсионного анализа (табл. 6). В связи с этим мы предположили, что даже в случае одинаковых условий проведения исследований биоэквивалентности (в одинаковых клинических и аналитических центрах, при одинаковой валидации аналитического метода и одинаковых условиях забора крови у здоровых добровольцев) фармакокинетические параметры оригинального препарата могут значительно отличаться. Установить причины данной вариативности в нашем теоретическом исследовании не удалось. Возможно, решить этот вопрос помогло бы экспериментальное исследование биоэквивалентности разных серий оригинального препарата в исследовании с полным повторным дизайном.

Косвенным подтверждением нашего предположения можно считать полученные в одном из исследований результаты CV_{intra} (более 50 % для C_{max}) с участием 36 здоровых добровольцев (табл. 3).

Таблица 5

АНАЛИЗ ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ РОЗУВАСТАТИНА

Источник	Дизайн*	n	Дозировка, мг	C_{max} , 90 % ДИ	AUC_{0-t} , 90 % ДИ	$CV_{intra} C_{max}$, %	$CV_{intra} AUC_{0-t}$, %
Определение розувастатина в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС и его использование в исследовании биоэквивалентности [10]	2×2	14	20	91,45–114,24	84,88–122,25	14***	23,3***
Двухэтапное перекрестное исследование биоэквивалентности таблеток розувастатина 5 мг у здоровых взрослых индийских добровольцев мужского пола натошак [11]	2×2	40	5	93,40–116,4	93,61–112,10	28,5**	23,2**
Валидированный метод ВЭЖХ-МС/МС для определения розувастатина в плазме крови: применение в рамках исследования биоэквивалентности у китайских добровольцев [12]	2×2	20	10	99,4–111,1	96,2–110,8	10,2***	13***
Публичный отчет голландского регулятора с оценкой исследования биоэквивалентности розувастатина фирмы «Торрент» [13]	2×2	48	20	0,87–1,01	0,89–1,00	21***	16,4***
Публичный отчет голландского регулятора с оценкой исследования биоэквивалентности розувастатина фирмы «Торрент» [13]	2×2	48	40	0,87–1,04	0,91–1,02	25,3***	16***
Исследование биоэквивалентности двух препаратов розувастатина в таблетках 40 мг у здоровых колумбийских добровольцев [14]	2×2	30	40	89,5–121,4	82,0–114,6	35,7***	36,03***
Двухэтапное перекрестное исследование биоэквивалентности двух препаратов розувастатина у здоровых добровольцев натошак при однократном приеме [15]	2×2	39	40	91,91–106,06	97,38–108,66	18,85**	14,38**
Исследование биоэквивалентности двух препаратов розувастатина у здоровых индонезийских добровольцев [16]	2×2	24	40	89,37–110,41	87,56–103,53	21,24**	16,82**

Примечание: n — количество добровольцев; AUC_{0-t} — площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 до момента *t* отбора последней пробы крови; C_{max} — максимальная концентрация в крови; CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариативности; * — 2×2 — рандомизированное двухпериодное перекрестное в двух последовательностях исследование с приемом однократной дозы натошак; ** — данные получены из источника; *** — рассчитанные данные

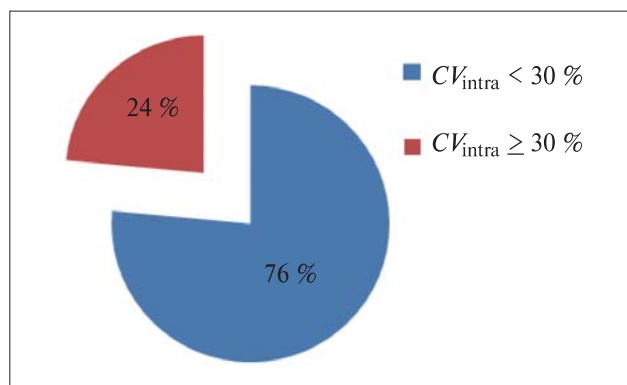


Рис. 5. Значения коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности максимальной концентрации по данным ретроспективного анализа результатов 17 исследований биоэквивалентности

ВЫВОДЫ

1. В качестве референтного препарата в исследованиях биоэквивалентности розувастатина рекомендуется использовать препарат Крестор®.

2. Рекомендуемое количество добровольцев для исследования биоэквивалентности розувастатина должно быть не менее 24 (при этом следует принимать в расчет возможную высокую внутрииндивидуальную вариабельность по C_{max} и/или AUC_{0-t} (CV_{intra} более 30%), что может привести к необходимости включения и большего количества добровольцев для получения статистически значимых результатов). Меньшее количество добровольцев может оказаться достаточным для получения статистически

значимых результатов и подтверждения биоэквивалентности при использовании повторного дизайна исследования, который, как показывает практика, позволяет значительно уменьшить количество добровольцев (табл. 7) — до 18 добровольцев, расширить границы признания биоэквивалентности до 70–133 % и более, в зависимости от вариабельности референтного препарата.

При стандартном дизайне можно рекомендовать включение в исследование 24–28 здоровых добровольцев, однако в том случае, если вариабельность полученных фармакокинетических параметров окажется высокой (более 30%), биоэквивалентность не будет подтверждена в границах признания биоэквивалентности 80–125 %.

3. Длительность забора образцов крови должна быть не менее 72 ч, рекомендованный период отмывки — 14 суток.

При выборе точек забора образцов крови для фармакокинетического анализа следует учитывать общую длительность 72 ч, и более частый отбор образцов крови в диапазоне времени достижения C_{max} (2,5–5,5 ч). Можно рекомендовать следующий график отбора образцов крови: 0,75; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 7; 8; 10; 12; 24; 36; 48; 72 ч.

4. Определять в плазме крови розувастатин рекомендуется аналитическим методом на основе ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией или тандемной масс-спектрометрической детекцией. При этом метод должен позволять достичь адекватного НПКО, например 0,2–0,5 нг/мл. В то же время НПКО должен быть не более 5 % C_{max} для каждого добровольца, в противном случае данные этого добровольца не должны включаться в статистический анализ.

К моменту предоставления протокола клинического исследования биоэквивалентности на экспер-

Таблица 6

РЕЗУЛЬТАТЫ ДВУХ СМОДЕЛИРОВАННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

Моделирование	Количество добровольцев	Аналитический метод	НПКО, нг/мл	$MSE AUC_{0-t}$	$MSE C_{max}$	$CV_{intra} AUC_{0-t}$, %	$CV_{intra} C_{max}$, %
1	18	ВЭЖХ МС	0,2	0,55	0,41	85,13	71,31
2	28	ВЭЖХ МС	1,5	0,29	0,32	57,46	61,83

Примечание: ВЭЖХ МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией; НПКО — нижний предел количественного определения; MSE — среднеквадратическая ошибка; AUC_{0-t} — площадь под кривой «концентрация–время» в интервале времени от 0 о момента t отбора последней пробы крови; C_{max} — максимальная концентрация в крови; CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности

Таблица 7

ЧИСЛО СУБЪЕКТОВ, ТРЕБУЕМЫХ ДЛЯ ДЕМОНСТРАЦИИ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРИ МОЩНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ 80 % В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗНАЧЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА ВНУТРИИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ [17]

Коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}), %	Размер выборки для двухпериодного перекрестного исследования. GMR = 1	Размер выборки для четырехпериодного исследования с двумя перекрестами (полный повторный дизайн). GMR=1
15	10	6
30	32	18
45	66	34
60	108	56
75	156	80

Примечание: GMR — отношение геометрических средних (точечная оценка). При $CV_{intra} = 30\%$, мощности исследования 80 % и прогнозируемом отношении средних, равном 1, необходимо включение не менее 32 субъектов в исследование со стандартным дизайном и всего 18 субъектов в исследование с повторным дизайном

тизу следует определиться с аналитическим методом определения действующего вещества и провести его валидацию, при этом кратко описать описание данного аналитического метода и его валидации в протоколе исследования.

5. Выбор дозировки для исследований биоэквивалентности должен основываться на особенностях фармакокинетики розувастатина, в частности, на ее линейности. Согласно инструкции по применению референтного препарата Крестор®, розувастатин обладает линейной фармакокинетикой — системная экспозиция увеличивается пропорционально дозе. Это свидетельствует в пользу возможности изучения биоэквивалентности только одной дозировки изучаемого препарата, при условии идентичности технологии, места производства и пропорциональности составов между всеми дозировками, а также сопоставимости профилей растворения.

При этом рекомендуется проведение исследования для максимальной заявленной дозировки препарата, так как двукратное применение розувастатина здоровыми добровольцами в максимальной суточной дозе 40 мг/сут, с длительным интервалом времени между приемами, не связано с каким-либо определенным риском, за исключением развития нежелательных явлений, но повышает точность измерения концентрации розувастатина даже при невысокой чувствительности аналитического метода.

6. При представлении результатов исследования биоэквивалентности в отчете следует указывать не только 90 % доверительные интервалы, но и значения *MSE* после дисперсионного анализа ANOVA, значения точечной оценки (отношения геометрических средних) и значения CV_{intra} для *AUC* и C_{max} .

Должны быть представлены отчет по валидации аналитического метода и аналитический отчет, который должен содержать не только хроматограммы от 20 % добровольцев.

В аналитический отчет об исследовании биоэквивалентности необходимо включить хроматограммы из полных аналитических циклов таким образом, чтобы они включали не менее 20 % субъектов, а также соответствующие образцы для контроля качества (КК) и градуировочные растворы (стандарты).

Должен быть представлен детальный статистический отчет.

С конкретными требованиями к отчетности исследований биоэквивалентности целесообразно ознакомиться в «Руководстве по экспертизе лекарственных средств» и «Правилах проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза».

ЛИТЕРАТУРА

1. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, Bays HE, McKenney JM, Miller A, et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial). *Am J Cardiol*. 2003; 92(2): 152–60.
2. Jones PH, Hunninghake DB, Ferdinand KC, Stein EA, Gold A, Caplan RJ, et al. Effects of rosuvastatin versus atorvastatin, simvas-

tin, and pravastatin on non-high-density lipoprotein cholesterol, apolipoproteins, and lipid ratios in patients with hypercholesterolemia: additional results from the STELLAR Trial. *Clin Ther*. 2004; 26(9): 1388–99.

3. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/sUorrH>.
4. Федеральный закон Российской Федерации от 22 декабря 2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/fs6BU4>.
5. Федеральный закон Российской Федерации от 13 июля 2015 г. № 241-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Available from: <https://goo.gl/vNC34n>.
6. Ромодановский ДП, Драницына МА, Горячев ДВ, Ниязов РР, Гавришина ЕВ. Планирование дизайна и оценка результатов исследований биоэквивалентности высоковариабельных препаратов на примере розувастатина. *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2015; 78(6): 19–25.
7. Ромодановский ДП, Еременкова ТВ, Драницына МА, Горячев ДВ, Ниязов РР, Гавришина ЕВ, и др. Высоковариабельные лекарственные препараты — особенности исследования биоэквивалентности. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2015; (4): 5–10.
8. Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/qmaH1d>.
9. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Крестор®. Available from: <https://goo.gl/qcvF3U>.
10. Singh SS, Sharma K, Patel H, Jain M, Shah H, Gupta S, et al. Estimation of rosuvastatin in human plasma by HPLC tandem mass spectrometric method and its application to bioequivalence study. *J Braz Chem Soc*. 2005; 16(5): 944–50.
11. Thota S, Tippabhotla SK, Khan S, Nakkawar M. Two-way crossover bioequivalence study of rosuvastatin tablets 5 mg in healthy, adult, asian-indian male volunteers under fasting condition. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5(3): 289–93.
12. Zhang D, Zhang J, Liu X, Wei C, Zhang R, Song H, et al. Validated LC-MS/MS method for the determination of rosuvastatin in human plasma: application to a bioequivalence study in Chinese volunteers. *Pharmacology & Pharmacy* 2011; 2(4): 341–6.
13. Public Assessment Report Rosuvastatine Torrent 5 mg, 10 mg, 20 mg and 40 mg, film-coated tablets (rosuvastatin calcium). Available from: <https://goo.gl/LZyHVv>.
14. Vargas M, Bustamante C, Villarraga E. Bioequivalence study of two formulations containing rosuvastatin 40 mg tablets in healthy colombians. *J Bioequiv Availab* 2015; (7): 229–32.
15. Trabelsi F, Bartunek A, Vlavonou R, Navratilova L, Dube C., Tanguay M, et al. Single-dose, 2-way crossover, bioequivalence study of two rosuvastatin formulations in normal healthy subjects under fasting conditions. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 50(10): 741–50.
16. HarahapY, Prasaja B, Azmi F, Lusthom W, Sinandang T, Felicia V, et al. Bioequivalence study of two rosuvastatin tablet formulations in healthy Indonesian subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2016; 54(3): 212–6.
17. Davit BM, Chen ML, Conner DP, Haidar SH, Kim S, Lee CH, et al. Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. *AAPS J*. 2012; 14(4): 915–24.
18. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.
19. Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза. Available from: <https://goo.gl/j5KunJ>.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

Ромодановский Дмитрий Павлович. Главный эксперт управления экспертизы № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.

Горячев Дмитрий Владимирович. Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Ромодановский Дмитрий Павлович; Romodanovsky@expmed.ru

PLANNING AND EVALUATION OF BIOEQUIVALENCE STUDIES OF ROSUVASTATIN DRUG PRODUCTS

D. P. Romodanovsky, D. V. Goryachev

Federal State Budgetary Institution
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract: The article reviews bioequivalence studies of Russian and foreign generic rosuvastatin preparations with the goal of harmonizing approaches to rosuvastatin bioequivalence studies in the Russian Federation. The article describes the current regulatory recommendations for and approaches to bioequivalence studies of generic drugs (and in particular of rosuvastatin preparations which are highly variable drugs) and gives recommendations on the design of rosuvastatin studies and evaluation of results.

Key words: bioequivalence study; rosuvastatin; highly variable drugs; pharmacokinetics; high performance liquid chromatography.

For citation: Romodanovsky DP, Goryachev DV. Planning and evaluation of bioequivalence studies of rosuvastatin drug products. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(3): 142–149.

REFERENCES

1. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, Bays HE, McKenney JM, Miller A, et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial). *Am J Cardiol.* 2003; 92(2): 152–160.
2. Jones PH, Hunninghake DB, Ferdinand KC, Stein EA, Gold A, Caplan RJ, et al. Effects of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin on non-high-density lipoprotein cholesterol, apolipoproteins, and lipid ratios in patients with hypercholesterolemia: additional results from the STELLAR Trial. *Clin Ther.* 2004; 26(9): 1388–99.
3. The Federal Law of the Russian Federation of 12.04.2010 No. 61-FZ «On Circulation of Medicines». Available from: <https://goo.gl/sUorrH> (in Russian).
4. The Federal Law of the Russian Federation of 22.12.2014 No. 429-FZ «On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines». Available from: <https://goo.gl/sUorrH> (in Russian).
5. The Federal Law of the Russian Federation of 13.07.2015 No. 241-FZ «On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines» and the Federal Law «On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines». Available from: <https://goo.gl/vNC34n> (in Russian).
6. Romodanovsky DP, Dranitsyna MA, Goryachev DV, Niyazov RR, Gavrishina EV. Design planning and evaluation of bioequivalence results of highly variable preparations based on rosuvastatin. *Experimental and Clinical Pharmacology* 2015; 78(6): 19–25 (in Russian).
7. Romodanovsky DP, Eremenkova TV, Dranitsyna MA, Goryachev DV, Niyazov RR, Gavrishina EV, et al. Highly variable medicines — specific aspects of bioequivalence studies. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2015; (4): 5–10 (in Russian).
8. Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/qmah1d>.
9. Instructions for the use of a medicinal product Crestor® [Internet]. [cited 2016 Oct 20]. Available from: <https://goo.gl/qcvF3U> (in Russian).
10. Singh SS, Sharma K, Patel H, Jain M, Shah H, Gupta S, et al. Estimation of rosuvastatin in human plasma by HPLC tandem mass spectroscopic method and its application to bioequivalence study. *J Braz Chem Soc.* 2005; 16(5): 944–50.
11. Thota S, Tippabhotla SK, Khan S, Nakkawar M. Two-way crossover bioequivalence study of rosuvastatin tablets 5 mg in healthy, adult, asian-indian male volunteers under fasting condition. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5(3): 289–93.
12. Zhang D, Zhang J, Liu X, Wei C, Zhang R, Song H, et al. Validated LC-MS/MS method for the determination of rosuvastatin in human plasma: application to a bioequivalence study in Chinese volunteers. *Pharmacology & Pharmacy* 2011; 2(4): 341–6.
13. Public Assessment Report Rosuvastatine Torrent 5 mg, 10 mg, 20 mg and 40 mg, film-coated tablets (rosuvastatin calcium). Available from: <https://goo.gl/LZyHV5>.
14. Vargas M, Bustamante C, Villarraga E. Bioequivalence study of two formulations containing rosuvastatin 40 mg tablets in healthy colombians. *J Bioequiv Availab* 2015; (7): 229–32.
15. Trabelsi F, Bartunek A, Vlavourou R, Navratilova L, Dube C., Tanguay M, et al. Single-dose, 2-way crossover, bioequivalence study of two rosuvastatin formulations in normal healthy subjects under fasting conditions. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 50(10): 741–50.
16. HarahapY, Prasaja B, Azmi F, Lusthom W, Sinandang T, Felicia V, et al. Bioequivalence study of two rosuvastatin tablet formulations in healthy Indonesian subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2016; 54(3): 212–6.
17. Davit BM, Chen ML, Conner DP, Haidar SH, Kim S, Lee CH, et al. Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. *AAPS J.* 2012; 14(4): 915–24.
18. Guidance on evaluation of medicines. V. I. Moscow: Grif i K; 2013 (in Russian).
19. Rules for bioequivalence studies of drugs of the Eurasian Economic Union. Available from: <https://goo.gl/j5Kunj> (in Russian).

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

Romodanovsky DP. Chief expert of Division No. 2 for Medicinal Products' Evaluation of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences.

Goryachev DV. Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences.

CONTACT E-MAIL

Romodanovsky Dmitry Pavlovich; Romodanovsky@expmed.ru