

## ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.07:615.453.6

И. Е. Смехова, В. Ц. Болотова, Ю. М. Перова

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ДЖЕНЕРИКОВ ТРИМЕТАЗИДИНА МЕТОДАМИ IN VITRO И IN VIVO

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия»

В настоящее время в России зарегистрировано 13 тыс. лекарственных средств (ЛС), среди которых воспроизведённые (дженерики) составляют до 90%. Дженерики, вне зависимости от фирмы-производителя, должны отвечать всем требованиям, предъявляемым к оригинальным лекарственным препаратам (ЛП) по надлежащему качеству, эффективности и безопасности. С целью обеспечения взаимозаменяемости при фармакотерапии дженерики должны быть фармацевтически, биологически и терапевтически эквивалентны оригинальному препарату или препарату сравнения.

Биоэквивалентность определяют методами *in vivo* (фармакокинетические, фармакодинамические, клинические испытания) и в некоторых случаях — методом *in vitro*. В настоящее время в РФ используются только методы *in vivo*, которые являются дорогостоящими и продолжительными. Рекомендательные документы ВОЗ (2006), Европейского медицинского агентства (2010), США, а также МЗ Украины (2007) допускают определение взаимозаменяемости дженериков на основании оценки их биофармацевтических свойств и эквивалентности профилей растворения по так называемой процедуре биовэйвер (*biowaiver*) [1, 2].

При выборе для испытания биоэквивалентности метода *in vitro* необходимо учитывать следующие положения: растворимость и проницаемость лекарственного вещества (ЛВ) через биомембраны, его высвобождение из ЛП в различных условиях, вспомогательные вещества (ВВ), входящие в состав ЛП, а также риск для больных в случае некорректного решения об отказе от испытаний биоэквивалентности *in vivo*.

Дженерики широко назначаются для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих лидирующую позицию среди опасных болезней XX и XXI вв. Одним из препаратов, оказывающих антиангинальное, антигипоксическое и кардиопротективное действие, является триметазидин — ингибитор окисления жирных кислот. Назначается в комплексной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Триметазидин выпускается в форме таблеток, покрытых оболочкой (п/о), капсул и таблеток с модифицированным высвобождением. В РФ зарегистрировано около 20 дженериков

триметазидина. В связи с вышесказанным актуальна оценка эквивалентности таблеток и капсул триметазидина, выпускаемых различными предприятиями.

**Цель настоящей работы** — исследование методами *in vitro* и *in vivo* эквивалентности дженериков таблеток триметазидина, представленных на фармацевтическом рынке РФ.

**Материалы и методы.** Объектами исследования являлись зарегистрированные в РФ «Триметазидин» таблетки, покрытые оболочкой, 20 мг, шести отечественных (условно обозначенные как Т1, Т2, Т3, Т4, Т5, Т6) и двух зарубежных (обозначенные Т8, Т9) производителей и «Триметазидин» капсулы, 20 мг, отечественного производителя (Т7) (далее — таблетки и капсулы триметазидина). Препарат сравнения — «Медарум 20» — таблетки, п/о, производства ЗАО ФП «Оболенское», РФ (условно обозначенные Т1). Все препараты соответствовали требованиям действующих нормативных документов (НД) и фармакопейных статей предприятий-изготовителей.

Исследование по тесту «Растворение» проводили на приборе «Erweka» DT6 (Германия) на аппарате «вращающаяся корзинка» при скорости вращения 100 об/мин. Эквивалентность методом *in vitro* определяли в соответствии с рекомендациями [2], в средах объемом 900 мл с различными значениями рН: 0,1 М растворе кислоты хлористо-водородной (НС1), рН 1,2, ацетатном буферном (АБ), рН 4,5 и фосфатном буферном (ФБ), рН 6,8 растворах. Испытание проводили на 12 таблетках каждого ЛП. Для построения кривых высвобождения через 5, 15, 30, 45 и 60 мин после начала испытания отбирали пробы объемом 10 мл, фильтровали через бумажный фильтр типа «белая лента». Отобранный объем восполняли соответствующей средой растворения.

Определение содержания вещества, перешедшего в среду растворения, проводили методом УФ спектрофотометрии. Оптическую плотность измеряли в максимумах поглощения при длинах волн 232 нм (в среде ФБ и НС1) или 270 нм (в среде АБ). В качестве раствора сравнения использовали соответствующую среду растворения. Для каждого испытания готовили раствор стандартного образца триметазидина.

Для установления подобия полученных кривых рассчитывали коэффициент подобия ( $f_2$ ) по формуле (1) [2]:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |R_i - T_i|^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}, \quad (1)$$

где  $n$  — число точек времени,  $R$  и  $T$  — значения растворения препарата сравнения и дженерика (в %) за время  $t$ .

Антигипоксическое действие таблеток триметазидина оценивали на трех моделях гипоксии: острой гистотоксической, гемической и гиперкапнической в гермообъеме на 300 белых беспородных мышях-самцах, массой тела 20–25 г, полученных из питомника «Рапполово» РАМН. Водные суспензии исследуемых таблеток вводили перорально в дозе 6,7 мг/кг. Регистрировали продолжительность жизни и выживаемость мышей. Контрольным животным тем же путем и в те же сроки вводили равный объем воды очищенной.

Для сравнения влияния дженериков триметазидина на продолжительность жизни мышей рассчитывали взвешенную среднюю по формуле (2):

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i \cdot f_i}{\sum f_i}, \quad (2)$$

где  $X_i$  — продолжительность жизни;  $X$  — средняя величина, показывающая, во сколько раз продолжительность жизни превышает контроль;  $f_i$  — повторяемость индивидуальных значений.

Для оценки антигипоксической активности препаратов, используя методы статистических обработок, определяли усредненную интегральную активность ( $\Sigma$  УИА) по формуле (3):

$$\Sigma \text{УИА} = \frac{\sqrt{a^2 + b^2 + c^2}}{3},$$

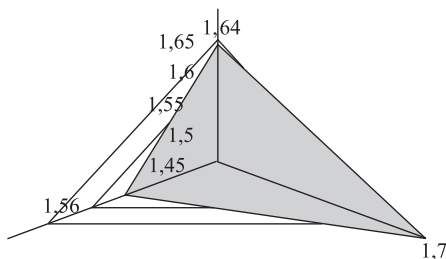


Рис. 1. Эффективность дженерика Т1 на трех моделях гипоксических состояний

где  $a$  — расстояние от точки на оси «гемическая гипоксия» до точки на оси «гипоксия с гиперкапнией в гермообъеме» (рис. 1);  $b$  — расстояние от точки на оси «гемическая гипоксия» до точки на оси «гистотоксическая гипоксия»;  $c$  — расстояние от точки на оси «гистотоксическая гипоксия» до точки на оси «гипоксия с гиперкапнией в гермообъеме».

**Результаты и обсуждение.** В соответствии с международными НД оценка биоэквивалентности дженериков таблеток с немедленным высвобождением методом *in vitro* по процедуре биовэйвер возможна при соответствии ЛП ряду требований [1, 2]: ЛВ должны иметь определенные растворимость и проницаемость, широкий терапевтический индекс. В состав таблеток должны входить ВВ, обычно используемые в исследуемой лекарственной форме, хорошо изученные, не влияющие на всасывание ЛВ и на моторику желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Профили растворения таблеток дженерика и препарата сравнения должны быть подобны в трех средах со значениями рН, имитирующими рН различных отделов ЖКТ.

В соответствии со свойствами растворимости и проницаемости, триметазидин относится к III классу по биофармацевтической классификации [3]. У него высокий терапевтический индекс, его не назначают по критическим показаниям. В состав исследуемых ЛП входят хорошо изученные, широко используемые ВВ [4, 5]. Таким образом, объект исследования удовлетворяет критериям возможности проведения процедуры биовэйвер согласно рекомендациям международных документов.

Установлено, что в средах с рН 1,2; 4,5 и 6,8 из таблеток производителей Т1, Т2, Т3, Т5 и Т9, а также капсул Т7 к 15 мин высвободилось более 85% триметазида. Полученные результаты позволяют сделать вывод об эквивалентности кинетики растворения препаратов этих производителей без математической оценки. В то же время, дженерики производителей Т4, Т6, Т8 нельзя считать взаимозаменяемыми с таблетками триметазида производителя Т1 в соответствии со значениями коэффициентов подобия, которые не укладывались в необходимые пределы (50–100) (табл. 1).

Таблица 1. Коэффициенты подобия ( $f_2$ ) профилей растворения дженериков триметазидина (препарат сравнения — Т1)

Производитель (усл. обозначен.)	Т4			Т6			Т8		
	НCl	АБ	ФБ	НCl	АБ	ФБ	НCl	АБ	ФБ
Среда растворения	НCl	АБ	ФБ	НCl	АБ	ФБ	НCl	АБ	ФБ
Значение $f_2$ (50–100)	52,70	45,27	50,05	23,01	48,47	48,96	31,84	53,47	41,90
Подобие	Да	Нет	Да	Нет	Нет	Нет	Нет	Да	Нет

Для подтверждения результатов, полученных методом *in vitro*, нами были проведены исследования *in vivo*. Обобщенные результаты антигипоксической активности препаратов триметазидина, полученные на трех моделях гипоксии, представлены в таблице 2. Было установлено, что ЛП производителей Т4 и Т8 не влияли на прирост продолжительности жизни животных на двух моделях гипоксии, производителя Т9 — на одной. Максимальный прирост продолжительности жизни, независимо от модели гипоксии, наблюдали после введения таблеток производителей Т1, Т6 и капсул Т7.

Таблица 2. Влияние дженериков триметазидина на изменение продолжительности жизни животных (результаты представлены относительно контроля, который принят за 1,00)

ЛП (условное обозначение)	Модели гипоксии			
	гемическая	гистотоксическая	гипоксия с гиперкапнией в гермообъеме	взвешенная средняя
Контроль	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Т1	1,64 ± 0,64*	1,70 ± 0,70*	1,56 ± 0,56*	1,63 ± 0,07*
Т2	1,31 ± 0,31*	1,61 ± 0,61*	1,22 ± 0,22*	1,38 ± 0,20*
Т3	1,06 ± 0,06	1,23 ± 0,23*	1,42 ± 0,41*	1,24 ± 0,19
Т4	1,93 ± 0,93*	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,31 ± 0,54*
Т5	1,43 ± 0,43*	1,12 ± 0,12	1,37 ± 0,37*	1,31 ± 0,11*
Т6	1,54 ± 0,54*	1,77 ± 0,77*	1,41 ± 0,41*	1,57 ± 0,18*
Т7	1,26 ± 0,26	2,03 ± 1,03*	1,53 ± 0,53*	1,61 ± 0,39*
Т8	1,43 ± 0,43*	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,14 ± 0,25
Т9	0,98 ± 0,02	1,76 ± 0,76*	1,61 ± 0,61*	1,45 ± 0,41*

Примечание: \* — отличия от контроля статистически значимы.

Для оценки антигипоксической активности ЛП строили график (на рис. 1 приведен пример для таблеток производителя Т1), отражающий эффективность дженериков на трех моделях гипоксических состояний, и рассчитывали  $\Sigma$  УИА (формула 3). Сравнительная антигипоксическая активность препаратов представлена на рис. 2.

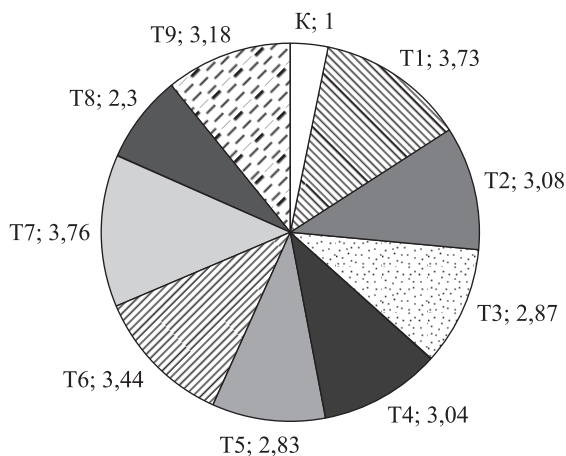


Рис. 2. Сравнительная антигипоксическая характеристика дженериков триметазидина

Максимальный антигипоксический эффект наблюдался после введения таблеток производителя Т1 и капсул Т7. Близкими по антигипоксической активности были дженерики производителей Т2, Т3, Т5, Т9, что согласуется с результатами, полученными в опытах *in vitro*.

**Вывод.** Показана возможность проведения процедуры биоэвивер для таблеток триметазидина пяти производителей (Т1, Т2, Т3, Т5 и Т9) на основании установленной без математической оценки эквивалентности профилей растворения в трех средах. Результаты исследования *in vitro* подтверждены данными, полученными при изучении антигипоксической активности препаратов *in vivo*.

#### Литература

1. Guidelines on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/ Corr \*. — EMEA, 27 p. (2010).
2. Multisource (Generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability // WHO Technical Report Series. 2006. № 937. Annex 7.
3. Biopharmaceutics Classification System (BCS). Электронный ресурс. Режим электронного доступа: <http://69.20.123.154/services/bcs/results.cfm>
4. FDA Inactive Ingredient Database. Available from: URL: <http://www.fda.gov/cder/iig/iigfaqWEB.htm>.
5. О контроле качества вспомогательных веществ // Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. № 01И-343/05. (2005)

Статья поступила в редакцию 15 июля 2011 г.