

Биоэквивалентность бисопролола, таблетки покрытые оболочкой 10 мг АО «Химфарм», Республики Казахстан

Будац Я.М.¹, Курилов О.Э.¹, Сариев А.К.², Абаимов Д.А.², Ширяева М.В.², Стырова Е.Ю.², Алтынбеков С.А.³, Джолдыгулов Г.А.³, Серяков В.Н.³, Алтынбеков К.С.³

¹ — АО «Химфарм», Республика Казахстан

² — ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Москва

³ — РГКП «Республиканский научно-практический центр психиатрии, психотерапии и наркологии» МЗ Республика Казахстан

Резюме

В рамках перекрёстного, однократного, открытого, рандомизированного исследования с 10 дневным периодом отмывки, с двумя последовательностями была изучена биоэквивалентность двух таблетированных форм бисопролола на 18 добровольцах (дозировка 10 мг). Образцы плазмы крови анализировали валидированным методом ВЭЖХ-МС/МС в течение 48 часов. Для анализируемых препаратов рассчитаны следующие фармакокинетические параметры: AUC_{0-t} , C_{max} , t_{max} , C_{max}/AUC . 90% доверительный интервал для логарифмически преобразованных значений для AUC_{0-t} составил 0,9142 — 1,0568 и для C_{max} — 0,9371 — 1,0473. По результатам исследования был сделан вывод о биоэквивалентности сравниваемого препарата бисопролола.

Ключевые слова: бисопролол, биоэквивалентность, фармакокинетика

Bioequivalence of bisoprolol, coated tablets 10 mg

JSC «Chimpharm» Republic of Kazakhstan

Budach Y.M.¹, Kurilo O.E.¹, Sariev A.K.², Abaimov D.A.², Shiryayev M.V.², Styrova E.Y.², Altynbekov S.A.³, Dzholdygulov G.A.³, Seryakov V.N.³, Altynbekov K.S.³

¹ — JSC «Chimpharm» Republic of Kazakhstan

² — FGBI «Neurology Research Center», RAMS

³ — State Enterprise «Republican Scientific and Practical Centre for Psychiatry, Psychotherapy and Addiction» MoH Republic of Kazakhstan

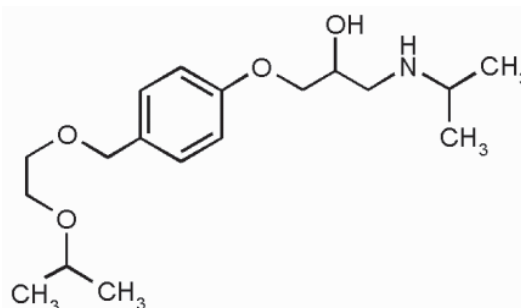
Summary

Within the cross, a single, open, randomized study with 10 day washout period, the two sequences has been studied bioequivalence of tablet forms two bisoprolol 18 volunteers (10 mg dosage). Plasma samples were analyzed by a validated HPLC-MS/MS within 48 hours. For preparations analyzed following pharmacokinetic parameters were calculated: AUC_{0-t} , C_{max} , T_{max} , C_{max}/AUC . 90% confidence interval for log-transformed values for AUC_{0-t} was 0.9142—1.0568 for C_{max} — 0.9371—1.0473. The study concluded that comparable drugs were bioequivalence of bisoprolol.

Keywords: bisoprolol, bioequivalence, pharmacokinetics

Введение

Известно, что в клинической практике препараты, которые содержат одно и то же действующее активное вещество, но разработанные различными фармацевтическими производителями, могут существенно отличаться по фармакологической активности. Нередко это обусловлено различием ингредиентного состава вспомогательных веществ, содержащихся в твёрдой лекарственной форме [6]. Во всём мире для подтверждения одинаковой терапевтической активности воспроизводимых препаратов проводятся исследования биоэквивалентности. При этом в качестве основного критерия выбирается достаточно «близкая» биодоступность изучаемых



1-/-4-//2-(1-метил-этокс) этокси/метил/фенокси/-3-/(1-метилэтил) амино/-2-пропанол (в виде фумарата), мол. масса — 325.443 г/моль

Рис. 1. Структурная химическая формула бисопролола

лекарственных средств. В этой связи, целью настоящей работы являлось исследование биоэквивалентности воспроизведённого лекарственного препарата Бисопролола таблетки, покрытые оболочкой 10 мг (Т, test — АО «Химфарм», Республика Казахстан) в сравнении с Конкором® (R, standart — «Мерк КГаА.» Германия).

Материалы и методы исследования

Исследуемые препараты

В качестве тест-препарата (Тест; Т) был использован Бисопролол таблетки, покрытые оболочкой (производитель — АО «ХИМФАРМ», Республика Казахстан), в качестве препарата-сравнения (Референс; R) использовался препарат Конкор® таблетки, покрытые оболочкой («Мерк КГаА.», Германия).

Дизайн исследования

Дизайн исследования соответствовал утверждённому протоколу исследования (№ *BEq-Bis-02-2013*, Версия 1.0 от «24» январь 2013г.), а также требованиям «Надлежащей клинической практики» (GCP) [1, 2, 3, 4, 8]. 18 здоровых волонтеров молодого возраста мужского (n=7) и женского (n=11) пола (возраст — $35,2 \pm 7,4$ лет, массы тела — $68,7 \pm 13,4$ кг) после подписания информированного согласия были направлены в клиническую базу РГКП «Республиканский научно-практический центр психиатрии, психотерапии и наркологии» МЗ Республики Казахстан. Там они были разделены на 2 группы случайным образом, согласно схеме рандомизации. Все участники были проверены на наличие наркотических веществ и алкоголя, кроме того, волонтерам женского пола был проведён тест на беременность. Общий анализ крови, биохимия и ЭКГ были проведены дважды: до начала исследования и в последний визит (в конце второго этапа исследования). В оба периода исследования участники находились в исследовательском центре непрерывно в течение 48 ч. Период «отмывки» (wash-out) между этапами составлял 10 дней (1 этап — 18.04.2013; 2 этап — 29.04.2013). На обоих этапах исследования отбор образцов крови (5 мл) производился: до введения дозы (0 ч), и в течение 48 часов после введения препарата. Взятие образцов крови для последующего определения содержания бисопролола в плазме крови осуществлялось в дискретные интервалы времени 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0; 24,0 и 48,0 ч после приёма препаратов. Перед каждым отбором крови больной находился в течение 5 минут в лежачем положении. Кровь была взята из локтевой вены (с нулевого фона до 4 ч, путём катетеризации локтевой вены) и с 6 по 48 ч. одноразовыми шприцами в количестве 5–10 мл в стеклянные пробирки с добавлением гепарина. Образцы крови отстаивались в течение 15 мин в условиях комнатной температуры, затем путём центрифугирования (3000 об/мин в течение 10 мин) получали плазму крови. Плазма хранилась при температуре -24°C . Приготовление стандартных растворов бисопролола осуществлялось в плазме крови.

Аналитический метод

Для количественного определения бисопролола применяли метод [9] с модификациями.

Растворители, реактивы и материалы

Все реактивы, использованные в работе, имели характеристики чистоты не ниже х.ч., растворители имели маркировку HPLC-grade.

Приготовление образцов для анализа

Для приготовления растворов стандартных образцов использовали субстанции стандартов бисопролола (производитель «Аревифарма GmbH», Германия, серия 4047807) и метопролола (производитель «Ипка Лабораториз Лимитед», Индия, серия 001505RI). Для количественного определения готовили маточные растворы стандартов бисопролола и метопролола в метаноле с концентрациями 1 мг/мл. Раствор бисопролола применяли для приготовления растворов рабочих стандартных образцов на плазме крови с концентрациями 0,78 нг/мл; 1,56 нг/мл; 3,125 нг/мл; 6,25 нг/мл; 12,5 нг/мл; 25 нг/мл; 50 нг/мл, 100 нг/мл. Раствор внутреннего стандарта с концентрацией 1 мг/мл разбавляли в 400 раз для получения рабочего раствора метопролола с концентрацией 2,5 мкг/мл.

Экстракция бисопролола из плазмы крови

Жидкостную экстракцию бисопролола и метопролола осуществляли согласно *Peste G. et al.*, 2009 [9]. К 0,5 мл плазмы с содержащимися в ней аналитом добавляется 50 мкл раствора внутреннего стандарта с концентрацией 2,5 мкг/мл для достижения конечной концентрации 250 нг/мл. Затем плазму крови подщелачивали 0,5 мл 0,1 М NaOH, образец перемешивали. Далее к образцу добавляли 5 мл диэтилового эфира, полученную смесь встряхивали на вибромиксере на скорости 2000 об/мин в течение 5 мин. Далее образцы центрифугировали для разделения слоёв в течение 5 мин, надосадочный органический слой декантировали и упаривали в вакуумном центрифужном концентраторе при температуре 45°C . Сухой остаток растворяли в 0,5 мл метанола и инжестировали в петлю хроматографа в объёме 10 мкл.

Хромато-масс-спектрометрический анализ

Насос — «Finnigan Surveyor LC Pump Plus». Детектор — масс-спектрометрический детектор «LCQ Fleet MS» (квадрупольная ионная ловушка). Аналитическая колонка — Hypersil Gold C18 фирмы Thermo Electron Corp., США (100×4,6 мм; 5 мкм). Подвижная фаза состояла из двух растворов: 10 мМ ацетат аммония (раствор А) и ацетонитрил — 10 мМ ацетат аммония (90:10) (раствор Б), взятых в соотношении 15%А:85%Б, работа проводилась в изократическом режиме элюирования. Скорость потока подвижной фазы 0,6 мл/мин. Объём пробы — 10 мкл. Температура разделения 25°C . Продолжительность хроматографирования — 8 минут. Время удерживания аналита — 4,95 мин. Время удерживания внутреннего стандарта (метопролол) — 4,65 мин. Детектирование: масс-спектрометрическое, по дочернему

иону с m/z 116,1 образующемуся в результате распада молекулярного иона бисопролола с m/z 326,4 при нормализованной энергии соударений 25 eV (масс-спектр второго порядка для бисопролола представлен на рис. 2). Внутренний стандарт (метопролол) детектировали по дочернему иону с m/z 191,0 образующемуся в результате распада молекулярного иона метопролола с m/z 268,4. Масс-спектрометр работал в режиме регистрации ионов, положительно заряженных электроспреем (ESI), создаваемым напряжением в 5 кВ. Скорость потока газа-небулайзера (азота): 5 л/мин, давление на распылителе — 100 psi. Температура интерфейса капилляра составляла 350°C, температура нагревателя — 300°C. Амплитуда возбуждения на концевых электродах ловушки 0,1 В. Детектирование проводилось в режиме полного сканирования МС/МС — Full Scan ms^2 , в диапазоне m/z 120-900. В качестве демпфирующего газа в ионной ловушке использовался гелий. Данные обрабатывались с помощью Xcalibur 2.1 w/Foundation 1.0.1.

Метод количественного определения: отношение площадей хроматографических пиков аналита и внутреннего стандарта — концентрация. Метод внутреннего стандарта.

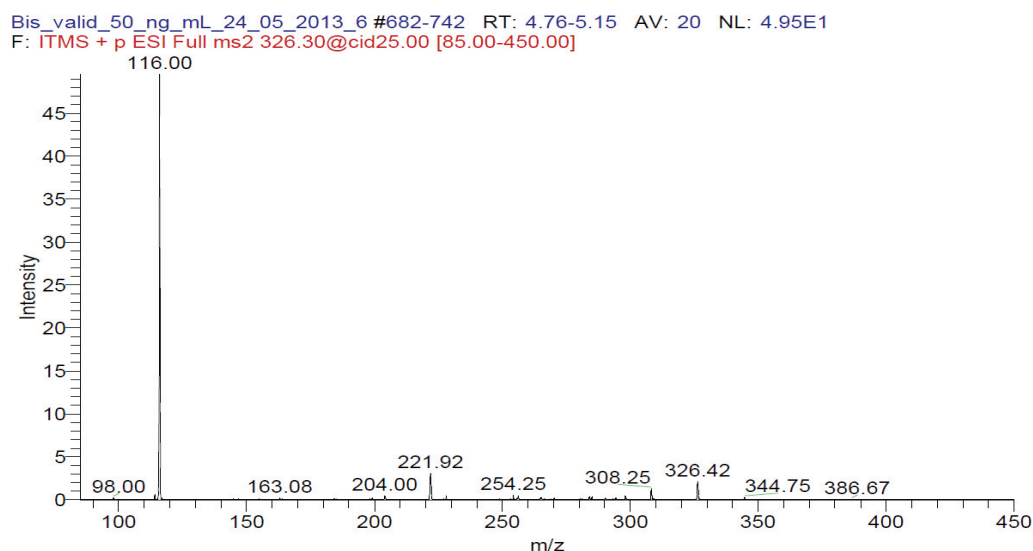
Регрессия: линейная. Метод наименьших квадратов.

Диапазон калибровки: 0,78 — 100 нг/мл. Точность количественного определения бисопролола представлена в табл. 1.

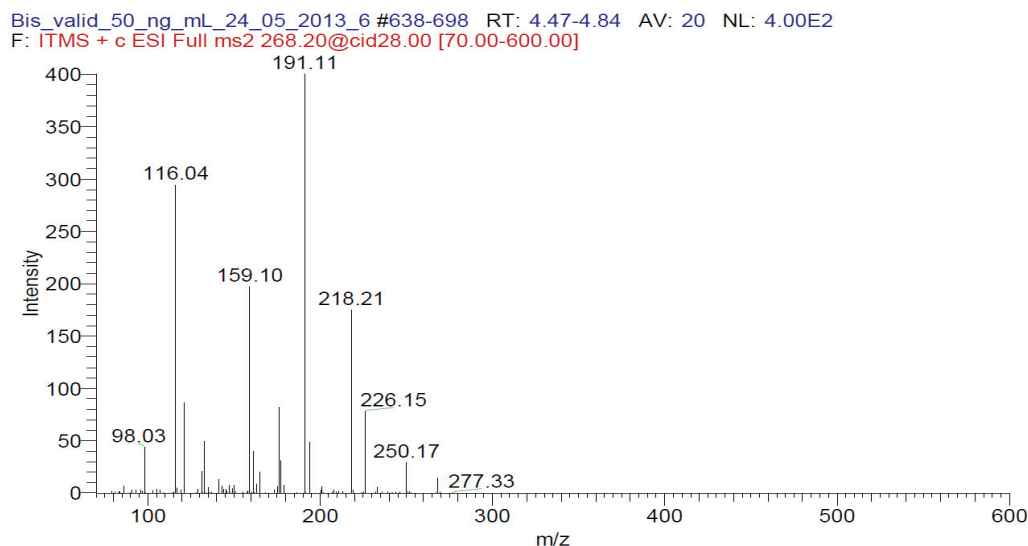
Таблица 1

Точность количественного определения бисопролола в течение рабочего дня

Концентрация нг/мл	%C.V.	%dev	n
3,125	7,82	-3,71	6
12,5	5,50	4,27	6
50	6,63	-3,88	6
Предел количественного определения — 0,78 нг/мл			

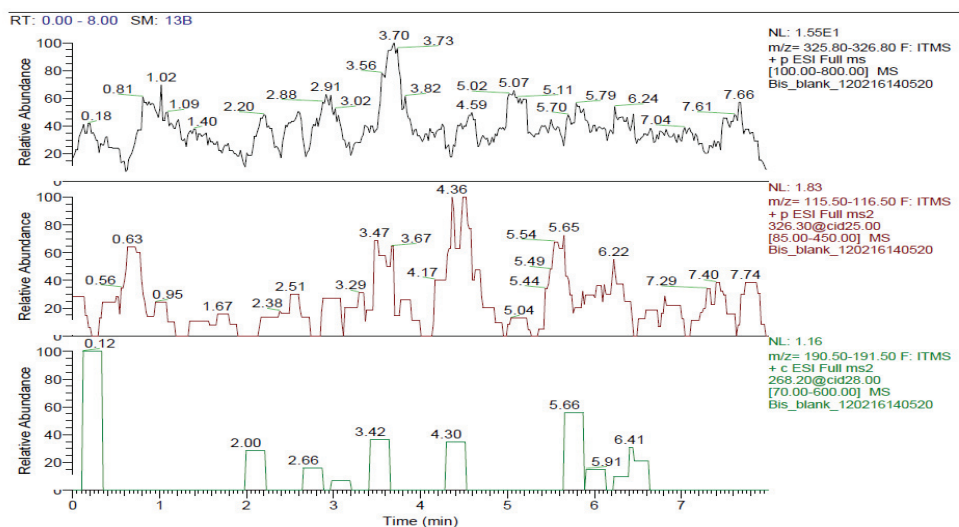


А

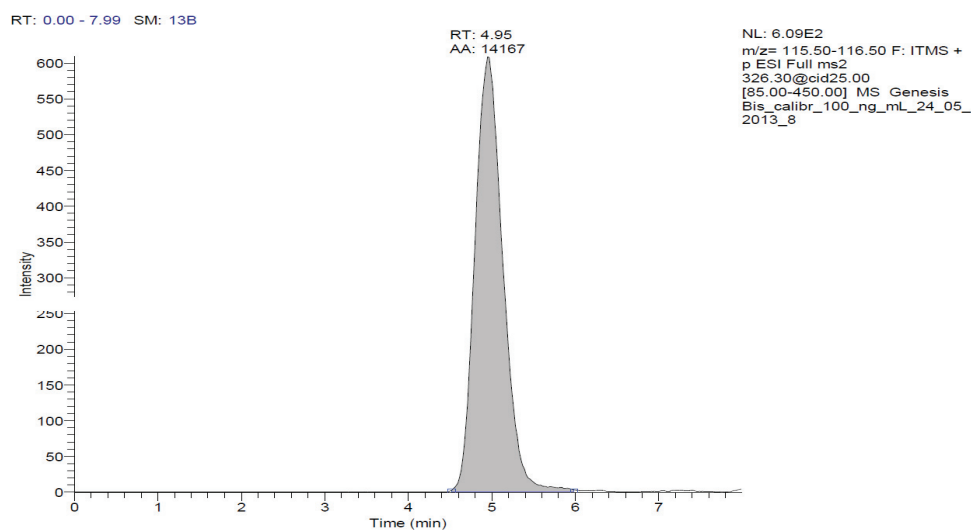


Б

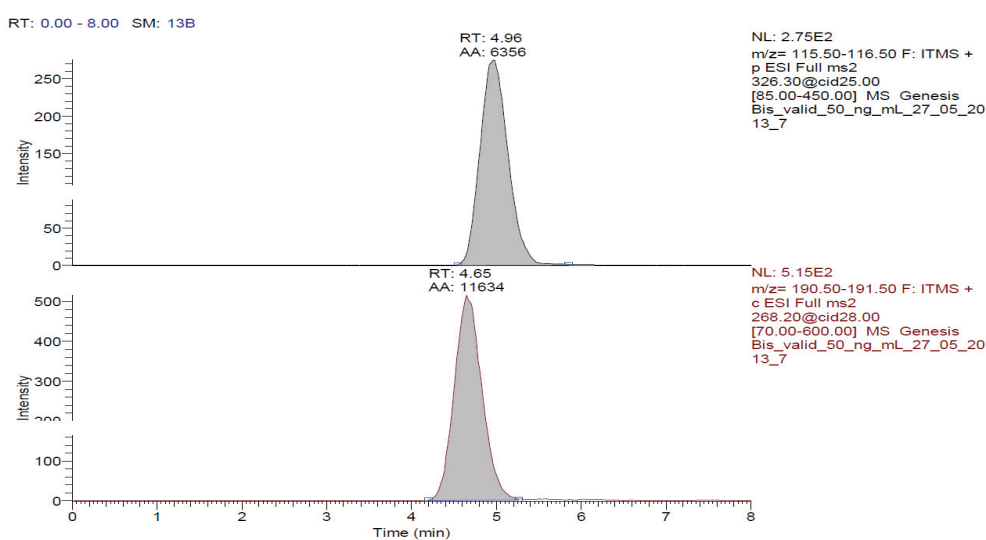
Рис. 2. Масс-спектры второго порядка для бисопролола (А) и метопролола (Б)



а — Хроматограмма экстракта интактной плазмы крови (верхнее окно — MS1 m/z 100-800, среднее окно — MS2 бисопролола, нижнее окно — MS2 метопролола).



б — Хроматограмма стандартного раствора бисопролола с концентрацией 100 нг/мл.



в — Хроматограмма экстракта плазмы крови с концентрацией бисопролола 50 нг/мл, верхний пик — пик аналита, нижний пик — пик внутреннего стандарта.

Рис. 3. Хроматограммы экстрактов плазмы крови

Специфичность определения бисопролола: установлено, что матричные эффекты коэкстрактивных веществ из плазмы крови не мешают определению бисопролола и внутреннего стандарта. Типичные хроматограммы интактной плазмы крови, образца бисопролола с концентрацией 25 нг/мл и плазмы крови с концентрацией бисопролола 50 нг/мл представлены ниже (рис. 3а, б, в).

Метод количественного определения: Отношение площадей хроматографических пиков аналитов и внутреннего стандарта — концентрация. Метод внутреннего стандарта.

Регрессия: Линейная. Метод наименьших квадратов.

Диапазон калибровки: 0,625 — 40 нг/мл.

Типичная калибровочная кривая представлена на рис. 4.

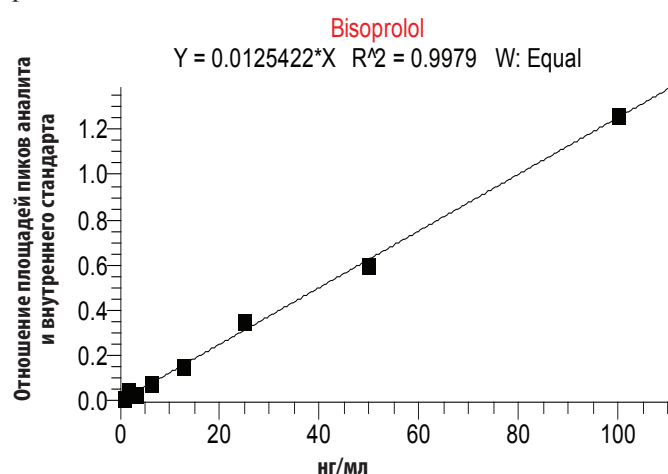


Рис. 4. Калибровочная кривая бисопролола в плазме крови

Градуировочная зависимость бисопролола в плазме крови описывалась формулой:

$$C = 79,731 \times AR$$

где C — концентрация бисопролола (нг/мл), AR (*Area Ratio*) — отношение площадей пиков аналита и внутреннего стандарта. Коэффициент корреляции составил $R^2 = 0.9979$, что соответствует хорошей аппроксимации [7].

Предел количественного определения — 0,78 нг/мл.

Точность и воспроизводимость

Точность выражалась в виде коэффициента вариации (%C.V.) для каждой серии образцов согласно уравнению:

$$\frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

где SD — стандартное отклонение серии определений;

\bar{x} — среднее арифметическое значение полученных концентраций.

Воспроизводимость измерялась, как процент отклонения (%dev.) от теоретического значения по формуле:

$$\frac{\bar{x} - \mu}{\mu} \times 100\%$$

где \bar{x} — среднее арифметическое значение полученных концентраций;

μ — теоретическая концентрация.

Метрологическая характеристика среднего результата

\bar{x} — среднее арифметическое значение полученных концентраций;

SD — стандартное отклонение;

$S_{\bar{x}}$ — стандартное отклонение среднего результата;

$\Delta\bar{x}$ — полуширина доверительного интервала ($p=0,95$);

$\varepsilon\%$ — ошибка среднего результата.

Точность в течение рабочего дня

Каждый из образцов, предназначенных для контроля качества, анализировали в течение 1 рабочего дня (6 определений). Также провели контроль во время исследования и после его окончания. Для 3,125 нг/мл средняя точность составила 7,82%C.V. и -3,71%dev. Остальные пробы с концентрациями 12,5 и 50 нг/мл имели точность от 5,50 до 6,63%C.V. Воспроизводимость колебалась от -3,88 до 4,27%dev.

Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Точность определения бисопролола в плазме крови в течение рабочего дня

Концентрация добавленная (нг/мл)	3,125	12,5	50
Концентрация найденная (нг/мл)	2,58	12,24	48,05
	3,14	13,16	46,57
	3,19	12,10	50,87
	2,93	13,82	42,62
	3,21	13,68	51,25
	3,01	13,19	48,99
\bar{x}	3,01	13,03	48,06
SD	0,24	0,72	3,19
%CV	7,82	5,50	6,63
%dev	-3,71	4,27	-3,88

Метрологические характеристики разработанной методики представлены в таблице 3. Относительная ошибка определения бисопролола не превышала 15%.

Статистическая обработка полученных результатов

Полученные экспериментальные данные подвергнуты математической статистической обработке

Таблица 3

Метрологические характеристики методики определения бисопролола в плазме крови

Взято (нг/мл)	Найдено (нг/мл)						\bar{x}	SD	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	$\varepsilon\%$
3,125	2,93	3,21	3,01	2,93	3,34	3,39	3,13	0,20	0,18	0,46	14,57
12,50	13,82	13,68	13,19	13,52	12,58	12,21	13,17	0,64	0,51	1,32	10,04
50,00	42,62	51,25	48,99	45,09	46,72	48,82	47,25	3,10	2,44	6,27	13,28

с помощью программы «Statistica v.6.0». В табл. 4 приведены средние арифметические значения (\bar{x}), соответствующие им стандартные отклонения (SD) и стандартные ошибки среднего значения ($S_{\bar{x}}$), коэффициенты вариации (C.V.%). Расчет фармакокинетических параметров анализируемых препаратов был проведен с использованием модельно-независимого метода. В работе кроме (\bar{x}) и (SD) приведены коэффициенты вариации (C.V.%) и размах — непараметрический параметр статистики (разность между максимальным и минимальным значениями ряда). Оценка биоэквивалентности проводилась применительно к параметрам AUC_{0-t} , C_{max} (натуральные и логарифмически преобразованные данные) с использованием методов параметрической статистики. В табл. 6 представлены результаты работы анализа вариации ANOVA для различных показателей биоэквивалентности ($\ln AUC_{0-t}$, $\ln C_{max}$). Условием применения является предположение о нормальном распределении изучаемого показателя. Нулевая гипотеза: между средними значениями показателей биоэквивалентности тест- и референс-препарата отсутствуют статистически значимые различия. В качестве источников вариации изучаются межиндивидуальные различия (испытуемые), последовательность получения препаратов и различия между препаратами. Полученные значения сравниваются со значением остаточной вариации с учётом числа степеней свободы (DF). Результаты сравнения отражены в столбце F табл. 5. Для установления статистически значимых различий между средними значениями показателя биоэквивалентности сравниваемых препаратов значение F для строки «препарат» должно превзойти соответствующее табличное значение (таблица критерия Фишера для числа степеней свободы (1, n-2) и выбранного уровня значимости α). В нашем случае, для 18 добровольцев табличное значение F критическое равно 4,49 для 5% уровня значимости. Если рассчитанное значение F превосходит табличное значение, нулевая гипотеза об отсутствии значимых различий между средними значениями данного показателя биоэквивалентности может быть отброшена, а различия признаны статистически значимыми на соответствующем уровне значимости.

Рассчитывали парные критерии Стьюдента в предположении отсутствия влияния периода получения препарата и нормального распределения изучаемого показателя. Гипотеза биоэквивалентности принималась, когда 90% доверительный интервал

для отношения среднего значения (μ_T/μ_R) логарифмически преобразованных данных AUC составлял $0,8 < \mu_T/\mu_R < 1,20$ и для C_{max} $0,7 < \mu_T/\mu_R < 1,43$. Границы, этих интервалов, рассчитывались при помощи дисперсионного анализа ANOVA. Расчет 90% доверительных интервалов проводили с использованием программы Bioeqv [5].

Результаты и их обсуждение

На рис. 5 — представлены усреднённые фармакокинетические кривые бисопролола в плазме крови добровольцев после однократного приёма таблеток Бисопролола и Конкора®, где анализируемое лекарственное вещество определяется на протяжении 48 часов.

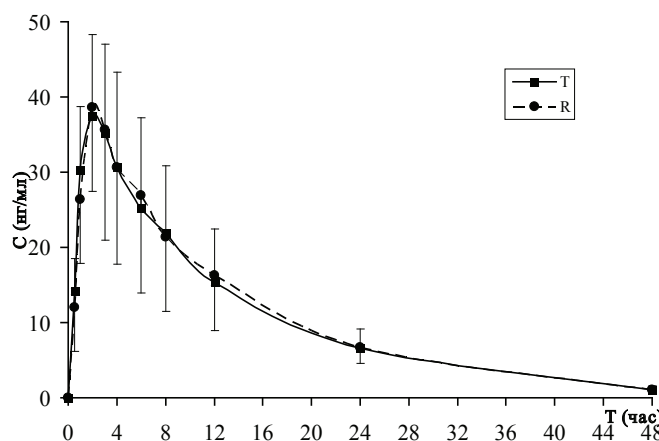


Рис. 5. Усреднённые кинетические кривые бисопролола в плазме крови добровольцев после однократного приёма таблеток БИСОПРОЛОЛА (Т) и таблеток КОНКОРА® (R): (n=18; \pm SD)

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров (табл. 4) бисопролола после однократного приёма 10 мг таблеток Бисопролола и Конкора® показал, что изучаемые препараты почти с одинаковой скоростью всасываются из желудочно-кишечного тракта (параметр C_{max}/AUC_{0-t} — для Т составил $0,081 \pm 0,018$; для R — $0,080 \pm 0,014$ ч⁻¹; $\bar{x} \pm SD$). Время достижения максимальной концентрации (t_{max}) составило в среднем для Т — $2,11 \pm 0,68$ и для R — $2,28 \pm 1,02$ час, соответственно. При этом средняя максимальная концентрация бисопролола, определяемая в плазме крови добровольцев (C_{max}), составила для препарата Бисопролола — $40,03 \pm 10,74$ нг/мл и для Конкора® — $40,70 \pm 12,86$ нг/мл.

Фармакокинетические параметры бисопролола у добровольцев после однократного приёма 20 мг бисопролола (Т) и Конкора® (R) Таблица 4

Размерность	AUC _{0-t} (нг/мл×ч)		C _{max} (нг/мл)		t _{max} (ч)		C _{max} /AUC (ч ⁻¹)	
	Т	Р	Т	Р	Т	Р	Т	Р
\bar{x}	518,42	527,91	40,03	40,70	2,11	2,28	0,081	0,080
SD	190,97	192,51	10,74	12,86	0,68	1,02	0,018	0,014
$S_{\bar{x}}$	45,04	45,40	2,53	3,03	0,16	0,24	0,004	0,003
C.V.%	36,8	36,5	26,8	31,6	32,0	44,7	22,7	17,4
Размах	663,07	628,16	32,73	40,67	2,00	5,00	0,06785	0,05771

Индивидуальный анализ основного параметра, характеризующего степень и скорость всасывания действующего вещества из лекарственной формы — AUC_{0-t} указывает на значительную вариабельность данного параметра (размах для препарата Бисопролола составил 663,07 и для препарата Конкора® — 628,16 нг/мл×ч). Среднее значение AUC_{0-t} для тест-препарата составило 518,42±190,97 и для референс-препарата — 527,91±192,51 нг/мл×ч. Относительная биодоступность таблеток Бисопролола по отношению к таблеткам Конкора®, определяемая отношением соответствующих значений AUC_{0-t}, составила в среднем 0,9978±0,1813 (усреднённые данные на основании точечных индивидуальных оценок). Доверительный интервал для логарифмически преобразованных значений AUC_{0-t} составил 0,9142—1,0568. Степень биодоступности, определяемая отношением соответствующих значений C_{max}, составила 0,9988±0,1313, а доверительный интервал для логарифмически преобразованных значений C_{max} — 0,9371 — 1,0473 (табл. 5). Полученные доверительные интервалы лежат, в установленных «Рекомендациями», пределах, что говорит в пользу биоэквивалентности исследуемых препаратов [5].

Таблица 5
90% доверительные интервалы отношения средних значений (μ_T/μ_R) AUC_{0-t}, C_{max} (логарифмически преобразованные данные), полученные на основе дисперсионного анализа (ANOVA)

Параметры	Нижнее значение	Среднее значение	Верхнее значение
AUC _{0-t}	0,9142	0,9978	1,0568
C _{max}	0,9371	0,9988	1,0473

Дисперсионный анализ также показал, что 2 источника вариации, учитываемых при установлении биоэквивалентности, т.е. «препараты» и «последовательность приёма препаратов» в дисперсионных отношениях F для этих факторов не превосходят табличное значение (табл. 6).

Таблица 6
Результаты дисперсионного анализа фармакокинетических параметров (ln AUC_{0-t} и ln C_{max}), определяющих биодоступность бисопролола из таблеток ln AUC_{0-t}

Источник вариации	SS	DF	MS	F
Препарат	0,003	1	0,003	0,17312
Последовательность	0,021	1	0,021	1,33199
Испытуемые	3,737	17	0,220	14,17685
Остаточная вариация	0,248	16	0,016	-
Общая вариация	4,008	35	-	-

ln C_{max}

Источник вариации	SS	DF	MS	F
Препарат	0,001	1	0,001	0,08666
Последовательность	0,003	1	0,003	0,28815
Испытуемые	2,307	17	0,136	14,88405
Остаточная вариация	0,146	16	0,009	-
Общая вариация	2,456	35	-	-

Обозначения в таблице:

SS — сумма квадратов отклонений;
MS — средний квадрат;
DF — число степеней свободы;
F — рассчитанное значение F-критерия Фишера (при уровне значимости α=5%).

Следует подчеркнуть, что для установления статистически значимых различий между средними значениями показателя биоэквивалентности сравниваемых препаратов значение F для строки «препарат» должно превзойти соответствующее табличное значение (таблица критерия Фишера для числа степеней свободы (1, n-2) и выбранного уровня значимости α). В нашем случае, для 18 пациентов табличное значение F критическое равно 4,49 для P=0,95. Рассчитанное значение F не превосходит табличное значение (для параметра lnAUC_{0-t}

$F = 0,17312$ и для $\ln C_{\max}$ $F = 0,08666$). Следовательно, нулевая гипотеза об отсутствии значимых различий между средними значениями данного показателя биоэквивалентности подтверждается, а различия не признаются статистически значимыми на соответствующем уровне значимости. Из результатов исследования относительной биологической доступности двух препаратов следует, что исследуемый препарат Бисопролол, таблетки, покрытые оболочкой 10 мг, производства АО «ХИМФАРМ», Республика Казахстан является биоэквивалентным препарату сравнения Конкор®, таблетки, покрытые оболочкой 10 мг, производства «Мерк КГаА.» Германия.

Основные выводы

1. Таблетки «Бисопролол» с фармакокинетической позиции являются биоэквивалентным к таблеткам «Конкор®».
2. Результаты сравнительного фармакокинетического исследования позволяют утверждать, что «Бисопролол» и «Конкор®» имеют одинаковую эффективность и переносимость.
3. С учётом основных положений доказательной медицины целесообразность проведения генерической замены препарата «Конкор®» препаратом «Бисопролол» является обоснованной.

Литература

1. Надлежащая клиническая практика, основные положения, СТ РК 1616-2006, Астана, 2006; 68.
2. Национальный стандарт Российской Федерации. Надлежащая клиническая практика, ГОСТ Р.52379-2005, Москва, 2005; 26.
3. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств. Москва, 2008; 32.
4. Проведение надлежащих исследований биоэквивалентности лекарственных средств в республике Казахстан, Астана, 2007; 44.
5. *Сергиенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б.* Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. Москва, Издательство РАМН, 2003; 208.
6. *Соколов А.В., Белоусов Ю.Б., Зырянов С.К., Нечаева Е.Б., Милкина С.Е.* Пути обеспечения качества и безопасности генерических лекарственных препаратов. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012: № 1; 43-49.
7. *Сычев К.С.* Практическое руководство по жидкостной хроматографии. 2010; с. 216.
8. Handbook For Good Clinical Research Practice (GCP): guidance for implementation, Printed in France, 2005; 132
9. *Peste G., Bibire N., Apostu M., Vlase A. and Oniscu C.*: A New Liquid Chromatography-Tandem-Mass Spectrometry Method for Determination of Bisoprolol in Human Plasma Samples. // J. of Biomedicine and Biotechnology, 2009, Article ID 736327, 8 pages.