

# Оценка биоэквивалентности двух таблетированных форм лизиноприла на здоровых добровольцах

Алтынбеков С.А.<sup>1</sup>, Джолдыгулов Г.А.<sup>1</sup>, Серяков В.Н.<sup>1</sup>, Будач Я.М.<sup>2</sup>,  
Курилов О.Э.<sup>2</sup>, Кузнецова Н.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> — РГКП «Республиканский научно-практический центр психиатрии, психотерапии и наркологии» МЗ РК, Республика Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup> — АО «Химфарм», Республика Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup> — ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова», г. Москва

## Резюме

В рамках перекрёстного, однократного, открытого, рандомизированного исследования с периодом отмытки 1 неделя, с двумя последовательностями на 18 добровольцах изучена биоэквивалентность таблеток, покрытых оболочкой, лизиноприла двух производителей (доза 20 мг). Концентрацию лизиноприла в образцах плазмы крови определяли методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием в течение 72 ч. Для исследуемых препаратов рассчитаны следующие фармакокинетические параметры:  $AUC_{0-\infty} \cdot C_{max} \cdot t_{max} \cdot C_{max} / AUC$ . 90% доверительный интервал отношений  $AUC_{0-\infty}$  сравниваемых препаратов составил 0,8520 — 1,2102 и для  $C_{max}$  — 0,9288 — 1,1451. В дополнение к 90% доверительным интервалам, дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий между изучаемыми препаратами. Сделан вывод о биоэквивалентности сравниваемых препаратов лизиноприла.

**Ключевые слова:** лизиноприл, ВЭЖХ, флуориметрическое детектирование, биоэквивалентность.

## Evaluation of bioequivalence of two tablet forms of lisinopril in healthy volunteers

Altynbekov S.A.<sup>1</sup>, Dzholdygulov G.A.<sup>1</sup>, Seryakov V.N.<sup>1</sup>, Budach Y.M.<sup>2</sup>, Kurilo O.E.<sup>2</sup>, Kuznetsova N.I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> — Republican Scientific and Practical Centre for Psychiatry, Psychotherapy and Addiction, MoH, Republic of Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup> — JSC «Chimpharm», Republic of Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup> — Medical University «First Moscow State University, IM Sechenov», Moscow

## Summary

Under cross, single, open, randomized trial with 1 week washout period, with two sequences of 18 volunteers studied bioequivalence coated tablets, two manufacturers of lisinopril (20 mg dose). The concentration of lisinopril in the plasma samples was determined using HPLC with fluorimetric detection within 72 hours for the investigated preparations the following pharmacokinetic parameters were calculated:  $AUC_{0-\infty} \cdot C_{max} \cdot t_{max} \cdot C_{max} / AUC$ . 90% confidence interval relations  $AUC_{0-\infty}$  compared drugs totaled 0.8520 — 1.2102 for  $C_{max}$  — 0.9288 — 1.1451. In addition to the 90% confidence intervals, analysis of variance revealed no statistically significant differences between the studied drugs. Concluded bioequivalence compared drugs lisinopril.

**Keywords:** lisinopril, HPLC, fluorometric detection, bioequivalence

## Введение

Лизиноприл, (S)-1-[N<sub>2</sub>-(1-карбоксит-3-фенил)-L-лизил]-L-пролина дигидрат, представляет собой длительно действующий ингибитор ангиотензин-превращающего фермента, который используется для лечения гипертензии и хронической сердечной недостаточности в суточной дозировке 5-40 мг [4]. Он снижает концентрации ангиотензина и альдостерона в плазме крови за счёт ингибирования ангиотензин-превращающего фермента.

На рынки стран СНГ введены в обращение несколько воспроизведённых препаратов лизиноприла. При этом следует иметь в виду, что воспроизведённый препарат должен быть эквивалентен оригиналу по фармакокинетическим и фармакодинамическим параметрам, обладая при этом более низкой стоимостью, что делает его доступным для большего числа пациентов с хроническим инвалидизирующим заболеванием. Поэтому целью данного исследования является оценка биоэквивалентности двух препаратов лизиноприла.

## Материалы и методы

Методом отбора к исследованию были допущены 8 женщин и 10 мужчин (35,3±6,0 лет; 68,6±6,3 кг; 170,5±6,0 см).

В случайном порядке добровольцы принимали вначале 1 таблетку (20 мг) тестируемого препарата (Лизиноприл, таблетки 20 мг, АО «Химфарм», Республика Казахстан; тест-препарат; Т) [1-й период исследования], спустя 7 дней — 1 таблетку (20 мг) референс-препарата (Лизиноприл-Ратиофарм® таблетки 20 мг, производства «Меркле» ГмбХ, ФРГ; препарат сравнения; R) [2-й период исследования]. В обратном порядке добровольцы вначале принимали 1 таблетку препарата Лизиноприл-Ратиофарм® [1-й период исследования], а затем спустя 7 суток — 1 таблетку Лизиноприла [2-й период исследования]. Препараты принимали внутрь, не разжёвывая, запивая 200 мл воды. Взятие образцов крови для определения содержания лизиноприла в плазме крови осуществлялось в дискретные интервалы времени — до принятия препарата (0) и через 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0, 12,0, 24,0, 48,0 и 72,0 ч после приёма препаратов.

Определение концентраций лизиноприла в плазме крови добровольцев проводили методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием [5]. В качестве дериватирующего агента использовали флуороскамин (0,7 мг/мл в ацетоне). Предел количественного определения лизиноприла составил 5,0 нг/мл.

Оценка биоэквивалентности проводилась применительно к параметрам площади под фармакокинетической кривой лизиноприла в плазме крови добровольцев от нуля до бесконечности ( $AUC_{0-\infty}$ , поскольку вклад экстраполированной части кривой от последней точки определения концентрации лизиноприла до бесконечности в среднем составил 2,2%) и максимальной концентрации лизиноприла в плазме крови ( $C_{max}$ ) (натуральные и логарифмически преобразованные данные) с использованием методов параметрической статистики.

В статье представлены результаты дисперсионного анализа ANOVA для показателей биоэквивалентности  $\ln AUC_{0-\infty}$  и  $\ln C_{max}$ . Условием применения является предположение о нормальном распределении изучаемых показателей.

В качестве рабочей была принята нулевая гипотеза: между средними значениями показателей биоэквивалентности тест-препарата и препарата сравнения отсутствуют статистически значимые различия.

В качестве источников вариации изучались межиндивидуальные различия, обусловленные испытуемыми, которые принимали исследуемые препараты («испытуемые»), лекарственной формой препарата («препарат») и последовательностью приёма препаратов («последовательность»).

Гипотеза биоэквивалентности принималась, когда 90% доверительный интервал для отношения среднего значения ( $\mu_T/\mu_R$ ) логарифмически преобразованных данных  $AUC$ , составлял  $0,8 > \mu_T/\mu_R > 1,25$ , для  $C_{max}$  и

$C_{max}/AUC$   $0,7 > \mu_T/\mu_R > 1,33$ . Границы, этих интервалов, рассчитывались при помощи дисперсионного анализа ANOVA. Расчёт 90% доверительных интервалов проводили с использованием программы «Bioeqv», Россия [3].

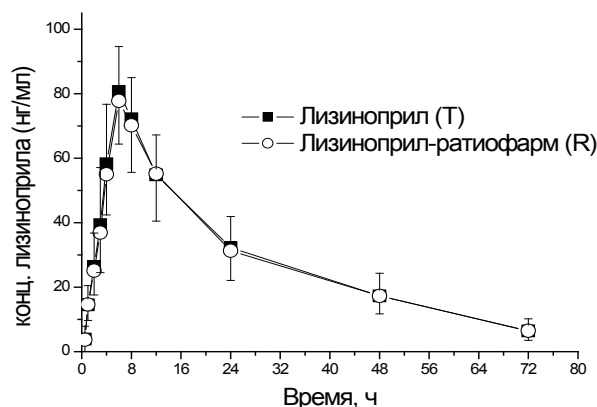
Расчёт фармакокинетических параметров анализируемых препаратов проведён с использованием модельно-независимого метода. В табл. 1 приведены средние арифметические значения ( $\bar{x}$ ) соответствующие им стандартные отклонения (SD) и стандартные ошибки среднего значения ( $S_{\bar{x}}$ ), коэффициенты вариации (C.V.%), размах — непараметрический параметр статистики (разность между максимальным и минимальным значениями ряда) и среднее геометрическое ( $x_{geom}^-$ ).

Рассчитывали парные t-критерии Стьюдента в предположении отсутствия влияния периода получения препарата и нормального распределения изучаемого показателя. По результатам строили графики, показывающие распределение индивидуальных различий между значениями показателя для сравниваемых препаратов. График индивидуальных различий демонстрирует, насколько симметрично они расположены относительно оси абсцисс. График стандартизованных различий (центрированных на среднее значение и нормированных на стандартное отклонение) позволяет выявить резко отличающиеся индивидуальные различия. Учитывая нормальное распределение индивидуальных различий (со средним значением равным 0 и стандартным отклонением равным 1), более 95% от их общего числа должно располагаться в полосе [-2;2].

## Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены усреднённые фармакокинетические профили лизиноприла в плазме крови добровольцев после однократного приёма 20 мг таблеток Лизиноприл и Лизиноприл-Ратиофарм, где анализируемое лекарственное вещество определяется на протяжении 72 ч.

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров (табл. 1) лизиноприла, получен-



**Рис. 1.** Усреднённые фармакокинетические профили лизиноприла в плазме крови добровольцев после однократного приёма 20 мг таблеток Лизиноприл (тест-препарат) и 20 мг таблеток Лизиноприл-Ратиофарм (референс-препарат) (n=18; ±SD)

ных по концентрационным кривым лизиноприла из таблеток Лизиноприл и Лизиноприл-Ратиофарм показал, что изучаемые препараты всасываются из желудочно-кишечного тракта практически с одинаковой скоростью. Так параметр, характеризующий скорость всасывания —  $C_{max}/AUC_{0-\infty}$  для таблеток Лизиноприла составил  $0,0410 \pm 0,0080 \text{ ч}^{-1}$ , и для таблеток Лизиноприл-Ратиофарм —  $0,0401 \pm 0,0065 \text{ ч}^{-1}$  (между сравниваемыми параметрами статистически значимые отличия не обнаружены). Время достижения максимальной концентрации ( $t_{max}$ ) лизиноприла в плазме крови добровольцев не отличалось для сравниваемых препаратов и составило в среднем —  $6,3 \pm 0,8 \text{ ч}$ . При этом средняя максимальная концентрация лизиноприла, определяемая в плазме крови добровольцев ( $C_{max}$ ), составила для таблеток Лизиноприла —  $81,6 \pm 13,6 \text{ нг/мл}$  и для таблеток Лизиноприл-Ратиофарм —  $79,1 \pm 13,4 \text{ нг/мл}$ .

Анализ основного параметра, характеризующего степень и скорость биодоступности действующего вещества из лекарственной формы —  $AUC_{0-\infty}$  указывает

на умеренную вариабельность данного параметра (не выше 25%). Среднее значение  $AUC_{0-\infty}$  для препарата Лизиноприл составило  $2056,1 \pm 500,0$  и для Лизиноприл-Ратиофарм —  $2022,1 \pm 482,0 \text{ нг/мл} \times \text{ч}$ . При этом не выявлено достоверно значимых различий для сравниваемых величин.

Степень относительной биологической доступности лизиноприла из таблеток тест-препарата по отношению к референс-препарату, определяемая отношением соответствующих значений  $AUC_{0-\infty}$ , составила в среднем  $1,103 \pm 0,474\%$  (усреднённые данные на основании точечных индивидуальных оценок) (табл. 2).

Доверительный интервал для логарифмически преобразованных значений  $AUC_{0-\infty}$  составил  $0,8520 - 1,2102$  (или  $85,20 - 121,02\%$ ). Степень биодоступности, определяемая отношением соответствующих значений  $C_{max}$ , составила  $1,0687 \pm 0,2870$ , а доверительный интервал для логарифмически преобразованных значений  $C_{max}$  —  $0,9288 - 1,1451$  (или  $92,88 - 114,51\%$ ). Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 1

Фармакокинетические параметры лизиноприла у добровольцев после однократного приёма 20 мг исследуемых препаратов

	$AUC_{0-\infty}$ (нг/мл×ч)		$C_{max}$ (нг/мл)		$t_{max}$ (ч)		$C_{max}/AUC$ (ч <sup>-1</sup> )	
	T	R	T	R	T	R	T	R
$\bar{x}$	2056,1	2022,1	81,6	79,1	6,3	6,3	0,0410	0,0401
SD	500,0	482,0	13,6	13,4	0,8	0,8	0,0080	0,0065
$S\bar{x}$	117,9	113,7	3,2	3,2	0,2	0,2	0,0019	0,0015
C.V.%	24,32	23,84	16,70	17,00	12,11	12,11	19,55	16,16
Размах	1839,8	1685,4	58,0	49,8	2,0	2,0	0,0294	0,0280
$\bar{x}_{геом.}$	1997,6	1967,3	80,5	78,0	6,3	6,3	0,0403	0,0397

Таблица 2

Точечная оценка индивидуальных отношений параметров, характеризующих относительную биодоступность (f) лизиноприла из таблеток Лизиноприл и Лизиноприл-Ратиофарм (Т-тест/R-референс)

№/№	AUC-ratio	$C_{max}$ -ratio	$C_{max}/AUC$ -ratio
1	0,58720	0,87807	1,49490
2	1,08854	0,94142	0,86321
3	1,27689	0,89308	0,69932
4	1,29391	0,99128	0,76522
5	0,89602	0,80845	0,90226
6	2,36468	1,59619	0,67512
7	0,82369	0,80865	0,98006
8	0,44121	0,48651	1,10165
9	0,83033	1,08582	1,30769
10	1,71076	1,30587	0,76310
11	1,3777	1,69432	1,22965
12	1,63784	1,26408	0,77172
13	0,66192	1,02964	1,55738
14	0,99669	1,13820	1,14332
15	0,87144	1,03125	1,18256
16	1,38273	1,27208	0,92148
17	0,7019	0,91842	1,30769
18	0,90535	1,09302	1,20604
$\bar{x}$	<b>1,10271</b>	<b>1,06869</b>	<b>1,04846</b>
SD	<b>0,47443</b>	<b>0,28701</b>	<b>0,27184</b>
$S\bar{x}$	<b>0,111895</b>	<b>0,06769</b>	<b>0,064112</b>
C.V.%	<b>43,02</b>	<b>26,86</b>	<b>25,93</b>

Таблица 3  
90% доверительные интервалы отношения среднего значения  $(\mu_1/\mu_2) AUC_{0-\infty}$  и  $C_{max}$  (логарифмически преобразованные данные), полученные на основе дисперсионного анализа (ANOVA)

Параметр	Нижнее значение	Верхнее значение
$AUC_{0-\infty}$	0,85200	1,21015
$C_{max}$	0,92881	1,14508

In  $AUC_{0-\infty}$

Источник вариации	SS	DF	MS	F
Препарат	0.018	1	0.018	1.84435
Последовательность	0.024	1	0.024	2.44571
Добровольцы	0.769	17	0.045	4.63858
Остаточная вариация	0.156	16	0.010	
Общая вариация	0.967	35		

In  $C_{max}$

Источник вариации	SS	DF	MS	F
Препарат	0.003	1	0.003	0.26483
Последовательность	0.000	1	0.000	0.00012
Добровольцы	0.359	17	0.021	1.61603
Остаточная вариация	0.209	16	0.013	
Общая вариация	0.572	35		

Обозначения в таблице: SS — сумма квадратов отклонений; MS — средний квадрат; DF — число степеней свободы; F — рассчитанное значение F-критерия Фишера (при уровне значимости  $\alpha=5\%$ ).

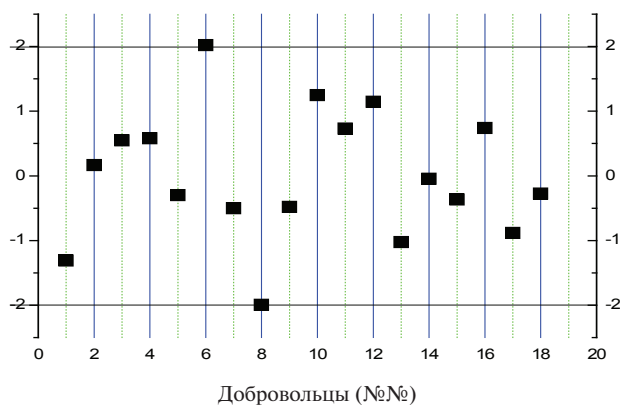


Рис. 2. График стандартизованных различий (центрированных на среднее значение и нормированных на стандартное отклонение) для значений  $\ln AUC_{0-\infty}$  лизиноприла

Литература

1. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств (Методические рекомендации), Москва, 2008, с.32.
2. Проведение надлежащих исследований биоэквивалентности лекарственных средств в Республике Казахстан, Астана, 2007, с. 44.
3. Сергиенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. Москва, Издательство РАМН, 2003; 208.
4. Регистр лекарственных средств России РЛС. Энциклопедия лекарств. Москва, РЛС-Медиа, 2013; 1296.
5. Sagirli O., Ersoy L. An HPLC method for the determination of lisinopril in human plasma and urine with fluorescence detection. // J. Chromatogr. B. 2004, Vol. 809, P. 159-165.
6. Neng Zhou I, Yi-zeng Liang I, Ben-mei Chen et al. Development and Validation of LC—MS Method for the Determination of Lisinopril in Human Plasma and its Application in a Bioequivalence Study. // Journal of Chromatogr. Sci. 2008, Vol. 46, P. 848-853.
7. Shin M.C., Kim J.K., Kim C.K. Bioequivalence evaluation of two brands of lisinopril tablets by in vitro comparative dissolution test and in vivo bioequivalence test. // Arzneimittelforschung. 2008, Vol. 58(1), P. 11-17.
8. Tamimi J.J., Salem I.I., Alam S.M., Zaman Q., Dham R. Bioequivalence evaluation of two brands of lisinopril tablets (Lisotec and Zestril) in healthy human volunteers. // Biopharm. Drug Dispos. 2005, Vol. 26(8), P. 335-339.

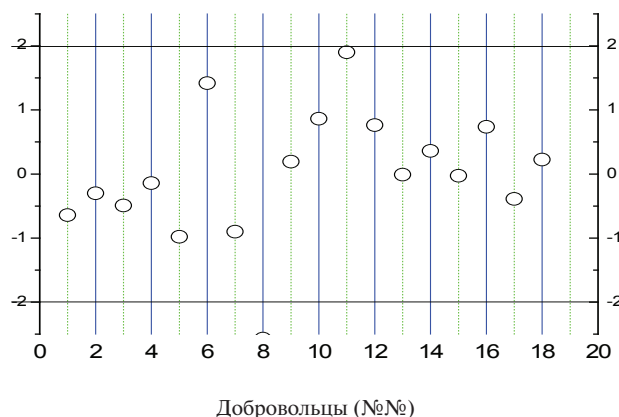


Рис. 3. График индивидуальных стандартизованных различий (центрированных на среднее значение и нормированных на стандартное отклонение) для значений  $C_{max}$  лизиноприла

Полученные интервальные значения лежат в пределах, установленных «Оценкой биоэквивалентности лекарственных средств (Методические рекомендации)» и «Проведением надлежащих исследований биоэквивалентности лекарственных средств в Республике Казахстан» [1, 2], что говорит о биоэквивалентности исследуемых препаратов.

Дисперсионный анализ показал, что на конечные результаты оказал влияние такой фактор, как «испытуемые»: на  $AUC_{0-\infty}$  — доброволец № 6, на  $C_{max}$  — доброволец №8 (см. табл. 3, рис. 2, 3).

В литературе описаны случаи оценки биоэквивалентности различных воспроизведенных препаратов лизиноприла. Так, Neng Zhou и соавт. разработали ВЭЖХ-МС методику определения лизиноприла в плазме крови человека и апробировали ее при изучении биоэквивалентности 2 препаратов лизиноприла (доза 20 мг) на 18 добровольцах [6]. Авторами сделан вывод о биоэквивалентности исследуемых препаратов. Представленные в этом исследовании фармакокинетические параметры значительно отличались от полученных нами (за исключением  $t_{max}$ ). Имеющиеся различия можно объяснить разными подходами в пробоподготовке и аналитической методикой. Аналогичные результаты получены Shin M.C. и соавт. и Tamimi J.J. и соавт., доказавших биоэквивалентность препаратов лизиноприла на 26 и 28 добровольцах, соответственно, с использованием метода ВЭЖХ-МС/МС [7, 8].