

В. В. Смирнов, О. А. Таширова, М. Р. Хаитов

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА И БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ ДВУХ ПРЕПАРАТОВ ИМАТИНИБА 400 МГ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ ТАБЛЕТКИ, ПОКРЫТЫЕ ОБОЛОЧКОЙ**

ФГБУ "ГНЦ "Институт иммунологии" ФМБА России", Москва, Россия

Исследована сравнительная фармакокинетика и биоэквивалентность препаратов Генфатиниб<sup>®</sup>, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 400 мг (Лаборатория Тюттор С.А.С.И.Ф.И.А., произведено Лаборатория Варифарма С.А., Аргентина) (тест-препарат) и Гливек<sup>®</sup>, таблетки, покрытые оболочкой 400 мг (Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария) (референс-препарат) после однократного перорального приема с участием 24 здоровых добровольцев, мужчин в возрасте 18 – 55 лет (средний возраст 29,5 лет) по рандомизированной, открытой, перекрестной схеме. Количественное определение иматиниба в плазме крови проводили методом LC/MS с предварительной пробоподготовкой методом осаждения белков ацетонитрилом. Оценивали следующие фармакокинетические параметры:  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ ,  $AUC_{0-t}$ ,  $AUC_{inf}$ ,  $C_{\max}/AUC_{0-t}$ . Оценку биоэквивалентности проводили в соответствии с методическими указаниями МЗ И СР РФ "Оценка биоэквивалентности лекарственных средств", 2008 г. На основании полученных результатов оценки относительной биодоступности ( $80 < f' (109\%) < 125$  и  $75 < f'' (102\%) < 133$ ) и проведенного дисперсионного анализа значений  $AUC_{0-72}$ ,  $C_{\max}$  и  $C_{\max}/AUC_{0-72}$  сделан вывод о биоэквивалентности изученных препаратов.

**Ключевые слова:** иматиниб; биоэквивалентность; фармакокинетика

Иматиниб относится к группе противоопухолевых средств, ингибиторов протеинтирозинкиназы, и является противолейкозным цитостатическим препаратом, одним из представителей нового класса таргетных цитостатиков, избирательно воздействующих на клетки, имеющие те или иные характерные для опухолей генетические дефекты [1].

Целью настоящего исследования было изучение фармакокинетики и биоэквивалентности нового воспроизведенного лекарственного препарата Генфатиниб<sup>®</sup>, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 400 мг (Лаборатория Тюттор С.А.С.И.Ф.И.А., произведено Лаборатория Варифарма С.А., Аргентина) и оригинального лекарственного препарата Гливек<sup>®</sup>, таблетки, покрытые оболочкой 400 мг (Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария) после однократного перорального приема у здоровых добровольцев Российской популяции.

**Экспериментальная часть**

Объектами исследования были тест-препарат (Т) — Генфатиниб<sup>®</sup>, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 400 мг (Лаборатория Тюттор С.А.С.И.Ф.И.А., произведено Лаборатория Варифарма С.А., Аргентина) и референс-препарат (R) — Гливек<sup>®</sup>, таблетки, покрытые оболочкой 400 мг (Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария).

В качестве добровольцев были привлечены некурящие мужчины в возрасте 18 – 55 лет (средний возраст 29,5 лет), подписавшие информированное согласие и прошедшие за 7 – 14 дней до исследования клинико-инструментальное и лабораторное обследование, с целью дальнейшего допуска к участию в исследовании.

Исследование проводилось в соответствии с условиями утвержденного в установленном законом порядке (Разрешение МЗ СР РФ № 233 от 06.06.2011 г., выписка из протокола Совета по этике № 11 от 09.02.2012 г.) протокола клинического исследования VMGM/B7410, версия 1.0 от 22.11.2010 г.

Во время проведения исследования никакие лекарственные средства не назначались. Необходимости использования других медикаментов не возникло.

Критерии включения и исключения добровольцев соответствовали требованиям методических указаний [2].

**Дизайн исследования**

Схема дизайна исследования представлена на рис. 1.

Исследование проводили открытым рандомизированным методом по перекрестной схеме. В ходе исследования осуществляли динамическое наблюдение за добровольцами (клинический осмотр, измерение артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхания). Через 24 ч после приема исследуемого препарата, при отсутствии отклонений в соматическом состоянии, волонтеры выписывались из стационара. До окончания текущего периода исследования добровольцы амбулаторно посещали исследовательский центр для физического осмотра и отбора проб согласно протоколу. Период отмывки (промежуток времени между 1 и 2 периодами исследования) составил 21 день.

Отбор проб крови осуществляли из кубитального катетера. Через 5 – 10 мин после установки катетера, утром, натощак, до применения препарата отбирали исходную пробу крови. Доброволец принимал внутрь 1 таблетку (400 мг) одного из препаратов, запивая 240 мл



**Рис. 1.** Схема дизайна исследования

кипяченой воды. В дальнейшем отбор проб крови проводили через 30 мин и 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48 и 72 ч после приема препарата. Отбор проб крови через 24, 48 и 72 ч проводили путем венопункции. Прием пищи состоялся спустя 4 ч после приема препарата. Второй период исследования проводили через 21 день по идентичной схеме. Заранее пробирки для отбора крови маркировали с указанием шифра испытуемого, номера пробы, названия препарата. Кровь в количестве 5 мл отбирали в предварительно промаркированные центрифужные пробирки. Плазму отделяли и хранили при температуре  $-35^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа в фармакокинетической лаборатории. Пробы с сопроводительным направлением, в котором указывали инициалы испытуемого, пол, возраст, массу тела, рост, соответствующие шифру на пробирке, предоставляли в фармакокинетическую лабораторию.

### Аналитический метод

Количественное определение иматиниба в образцах плазмы здоровых добровольцев проводили методом жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором на приборе "Agilent 1200" (США) с масс-детектором "Agilent MSD 6120" (США).

В качестве пробоподготовки использовали метод осаждения белков ацетонитрилом. 500 мкл плазмы помещали в пробирки типа эппендорф объемом 1,5 мл, прибавляли 400 мкл ацетонитрила, встряхивали на вортексе в течение 20 с, затем центрифугировали в течение 10 мин при скорости 13200 об/мин. Надосадочную жидкость сливали и прибавляли к ней еще 300 мкл ацетонитрила. Затем снова встряхивали на вортексе в течение 20 с, затем центрифугировали в течение 10 мин при скорости 13200 об/мин. Надосадочную жидкость в пробирках типа эппендорф помещали в автосамплер прибора. Объем вводимой пробы 50 мкл.

Разделение проводили на колонке Agilen Eclipse XDB C18 5 мкм,  $150 \times 2,1$  мм при температуре  $30^{\circ}\text{C}$ . Состав подвижной фазы: ацетонитрил — 0,1 % раствор муравьиной кислоты в воде (45:55). Скорость потока 1 мл/мин.

Параметры масс-детектирования: ионизация API-ES, positive ion mode; Capillary Voltage, 3000 V; Vaporizer Temperature  $300^{\circ}\text{C}$ ; детектирование проводили в SIM режиме по иону с  $m/z = 247,6$ . Время выхода пика иматиниба — 1,54 мин.

Примерная хроматограмма приведена на рис. 2.

Валидация аналитического метода проводилась по следующим показателям: линейность, предел обнаружения, специфичность, прецизионность, воспроизводимость.

Для проведения испытания на **линейность метода** была получена серия из 6 растворов иматиниба в чистой плазме крови. Концентрации полученных растворов находились в диапазоне от 10 нг/мл до 10 мкг/мл.

Далее проводили пробоподготовку и хроматографическое исследование как описано выше.

По полученным данным с помощью программы ChemStation строили прямую зависимости площади пика от концентрации иматиниба в плазме.

Уравнение калибровочной прямой:

$$S = 61,755203C + 4076,4255,$$

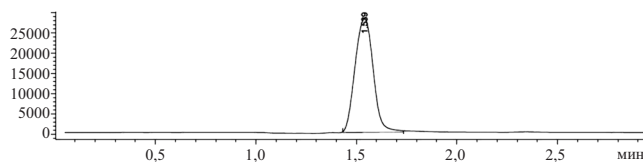


Рис. 2. Примерная хроматограмма плазмы крови, содержащей иматиниб.

где  $S$  — площадь пика, соответствующего иматинибу, а  $C$  — известная концентрация иматиниба.

Коэффициент корреляции  $r$  составил 0,9914.

Исходя из полученных данных, метод можно считать линейным в пределах концентраций от 10 нг/мл до 10 мкг/мл.

**Предел обнаружения** аналитической методики составил 5 нг/мл.

**Специфичность метода.** На хроматограммах пик с временем удерживания примерно 1,5 мин характерен только для растворов, содержащих иматиниб.

**Прецизионность.** Проводили 6 повторных измерений концентрации иматиниба в одном и том же образце по вышеописанной методике. Все результаты были близки между собой. Коэффициент вариации = 1,82.

**Воспроизводимость.** Анализ образцов плазмы крови, содержащих известное количество иматиниба, проводился в разные дни и разными специалистами по разработанной методике. Все результаты были близки между собой. Коэффициент вариации = 1,02.

**Фармакокинетический анализ.** Индивидуальные профили изменения концентраций ( $C$ ) иматиниба в плазме крови во времени ( $t$ ), зарегистрированные после приема препаратов Генфатиниб® и Гливек®, характеризовали максимальной концентрацией лекарственного вещества ( $C_{\max}$ ) (наибольшее из измеренных значений) и временем достижения максимальной концентрации ( $T_{\max}$ ), а также площадью под кривой "концентрация — время" в пределах от нуля до момента последнего отбора пробы крови ( $t = 72$  ч), рассчитанной методом трапеций ( $AUC_{0-72}$ ). Сопоставление значений  $AUC_{0-72}$  с  $AUC_{\text{inf}}$  (их отношение составляло значительно больше 80 %) свидетельствовало о том, что выбранный регламент фармакокинетического исследования обеспечивает необходимую надежность оценки биодоступности иматиниба.

В качестве оценки относительной степени всасывания (относительная биодоступность) иматиниба для препарата Генфатиниб® относительно препарата Гливек® использовали отношение:

$$f = AUC_{0-72}^T / AUC_{0-72}^R,$$

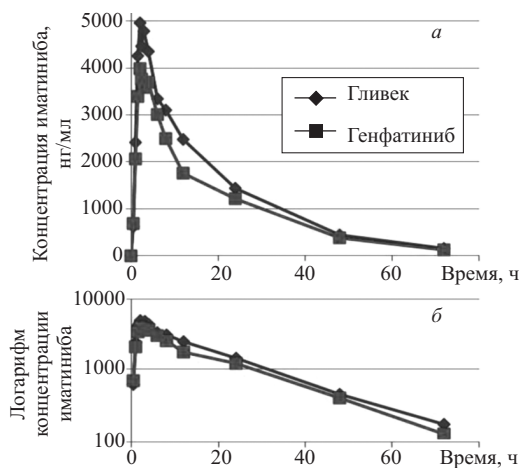
а скорости всасывания — отношение  $C_{\max} / AUC_{0-72}$ . В каждом случае вычисляли величину отношения  $C_{\max}^T / C_{\max}^R$  ( $f''$ ).

### Статистический анализ

Статистическую обработку и оформление результатов проводили с помощью пакета статистических программ STATISTICA V.6.1 (StatSoft, Russia), программ MS WORD и MS EXCEL.

Анализ проводили в соответствии с Методическими указаниями "Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств" [2].

Гипотеза о биоэквивалентности формулировалась в терминах отношения сравниваемых параметров:



**Рис. 3.** Динамика усредненных концентраций иматиниба после приема препаратов Генфатиниб® и Гливек® ( $C$ , нг/мл) в линейных (а) и полулогарифмических (б) координатах.

нулевая гипотеза об отсутствии эквивалентности

$$H_0: \mu T / \mu R < Q_1 \text{ или } \mu T / \mu R > Q_2;$$

соответствующая альтернативная гипотеза о наличии биоэквивалентности

$$H_A: Q_1 \leq \mu T / \mu R \leq Q_2;$$

где  $Q_1$  и  $Q_2$  — нижняя и верхняя принятые допустимые границы биоэквивалентности, а  $\mu T$  и  $\mu R$  — генеральные средние показатели сравнения для испытуемого лекарственного средства и препарата сравнения соответственно. В качестве рабочей гипотезы предполагалось, что  $AUC$ ,  $C_{\max}$  и  $C_{\max}/AUC$  имеют log-нормальное распределение, а все остальные параметры — нормальное распределение. В соответствии с этим положением сравнение средних значений параметров исследуемого и референтного препаратов проводили на основе мультипликативной модели, а доверительные интервалы строили для отношений соответствующих средних значений. После проведения логарифмического преобразования эти показатели анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA).

Для обычной рандомизированной перекрестной схемы, используемой в настоящем исследовании, статистическая модель дисперсионного анализа включала следующие факторы, вносящие вклад в наблюдаемую вариацию данных: различия между препаратами (состав), различия между испытуемыми (межиндивидуальные различия добровольцев), период и последовательность приема препаратов.

Процедура статистического сравнения состояла в вычислении параметрических, двусторонних 90 % довери-

**Таблица 2**  
**Фармакокинетические параметры после приема препарата Гливек®**

Показатель	$C_{\max}$ , нг/мл	$T_{\max}$ , ч	$AUC_{0-72}$ , нг · ч/мл	$C_{\max}/AUC_{0-72}$
Mean	5562,34	2,9	120872,0	0,0625
Gmean	5012,54	2,7	87964,8	0,0570
SD	2342,25	1,3	142984,3	0,0203
Mediane	5326,41	2,8	101956,2	0,0589
CI 95%	29,98	0,02	1830,2	0,0003

**Таблица 1**  
**Фармакокинетические параметры после приема препарата Генфатиниб®**

Показатель	$C_{\max}$ , нг/мл	$T_{\max}$ , ч	$AUC_{0-72}$ , нг · ч/мл	$C_{\max}/AUC_{0-72}$
Mean	4600,16	2,9	75145,3	0,066
Gmean	4343,58	2,7	68042,2	0,064
SD	1512,94	1,7	32388,9	0,018
Mediane	4727,23	2,0	76129,5	0,058
CI 95%*	19,37	0,02	414,6	0,0002

**Примечание.** В этой и последующих таблицах представлены среднеарифметические (Mean) и среднегеометрические (GMean) значения, стандартные отклонения (SD) и значения медианы (Median).

\* CI доверительный интервал.

тельных интервалов для отношений соответствующих средних значений для исследуемого препарата и препарата сравнения.

Препараты считали биоэквивалентными, если доверительные интервалы значений относительной биодоступности для площади под фармакокинетической кривой и отношений максимальной концентрации находились в следующих диапазонах:

$$80 < f' (\%) < 125,$$

$$75 < f'' (\%) < 133.$$

Число добровольцев (24 человека) соответствует результатам процедуры, основанной на тесте Schuirmann, для обоснования размера выборки. Объем выборки здоровых добровольцев рассчитывали, исходя из литературных данных о внутригрупповой вариабельности, в соответствии с [2]. Полученный размер выборки необходим и достаточен для обеспечения 80 % статистической мощности исследования в случае log-нормального распределения значений фармакокинетических параметров для исследования с перекрестным дизайном без повторов [2, 3].

Для всех статистических процедур в данном исследовании уровень значимости был принят равным 0,05.

Статистическим критерием прекращения исследования биоэквивалентности являлось включение запланированного количества добровольцев — обеспечение требуемого уровня статистической мощности.

### Результаты и их обсуждение

Фармакокинетические кривые иматиниба в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема препаратов Генфатиниб® и Гливек® в дозе 400 мг представлены на рис. 3.

**Таблица 3**  
**Параметры биоэквивалентности препарата Генфатиниб® по отношению к препарату Гливек®**

№ п/п	$f'$	$f''$
Mean	1,09	1,02
Gmean	0,77	0,87
SD	0,88	0,69
CV*	81	68
Mediane	0,84	0,78
CI90 %	81 – 121	77 – 123

\* CV — коэффициент вариации.

## Результаты дисперсионного анализа исследования биоэквивалентности препарата Генфатиниб® по отношению к препарату Гливек®

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-Значение	F критическое
$C_{\max}$						
Добровольцы	1,16E+08	23	5026843	1,829107	0,077551	2,014425
Препараты	11110716	1	11110716	4,042834	0,056225	4,279344
Погрешность	63209729	23	2748249			
Итого	1,9E+08	47				
$AUC_{0-72}$						
Добровольцы	2,26E+11	23	9,81E+09	0,839742	0,660576	2,014425
Препараты	2,51E+10	1	2,51E+10	2,147664	0,156325	4,279344
Погрешность	2,69E+11	23	1,17E+10			
Итого	5,19E+11	47				
$C_{\max}/AUC_{0-72}$						
Добровольцы	0,007972	23	0,000347	0,854675	0,645164	2,014425
Препараты	0,000144	1	0,000144	0,353877	0,557734	4,279344
Погрешность	0,009328	23	0,000406			
Итого	0,017444	47				

Основные фармакокинетические параметры представлены в табл. 1 и 2.

Из представленных данных, очевидно, что значения концентраций иматиниба в плазме крови добровольцев, принимавших препараты Генфатиниб® и Гливек®, статистически достоверно не различаются. Различия в уровнях иматиниба после приема изучаемых препаратов не носили систематического характера.

Относительная степень всасывания ( $f'$  — относительная биодоступность) иматиниба для препарата Генфатиниб® и величина отношения максимальных концентраций после приема испытуемого препарата и препарата сравнения ( $f''$ ) статистически незначительно отличались от единицы (табл. 3). Средние значения соотношения  $C_{\max}/AUC_{0-72}$  оказались сопоставимы.

Дисперсионный анализ значений  $AUC_{0-72}$ ,  $C_{\max}$  и  $C_{\max}/AUC_{0-72}$ , проведенный после их логарифмического преобразования, не выявил статистически значимого вклада различий между препаратами в наблюдаемую вариабельность. Оценка биоэквивалентности по этим параметрам позволяет сделать вывод о биоэквивалентности изученных препаратов, как по полноте, так и по скорости всасывания (табл. 4).

Следует отметить, что полученные нами данные согласуются с результатами работы, в которой также была обнаружена биоэквивалентность таблеток иматиниба лекарственных форм различных производителей [4].

Таким образом, проведенное исследование сравнительной фармакокинетики и биоэквивалентности препара-

тов Генфатиниб®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 400 мг (Лаборатория Тютюр С.А.С.И.Ф.И.А., произведено Лаборатория Варифарма С.А., Аргентина), и Гливек®, таблетки, покрытые оболочкой 400 мг ("Новартис Фарма Штейн АГ", Швейцария), после однократного перорального приема у здоровых добровольцев Российской популяции позволяет сделать вывод о биоэквивалентности исследованных препаратов, а следовательно, предположить сопоставимость клинической эффективности и безопасности этих препаратов у пациентов в РФ. Появление на рынке РФ воспроизведенного лекарственного препарата Генфатиниб® таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 400 мг (Лаборатория Тютюр С.А.С.И.Ф.И.А., произведено Лаборатория Варифарма С.А., Аргентина) позволит решить фармакоэкономическую проблему обеспечения иматинибом больных в РФ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. T. Schindler, W. Bornmann, P. Pellicena, et al., *Science*, **15**(289), 1938 – 1942 (2000).
2. *Оценка биоэквивалентности лекарственных средств*, Методические указания МЗ И СР РФ 2008 г.; Москва (2008).
3. Р. Х. Хафизьянова, И. М. Бурькин, Г. Н. Алеева, *Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии*, Медицина, Казань (2006).
4. S. Parrillo-Campiglia, M. C. Ercoli, O. Umpierrez, *Clin. Ther.*, **31**, 2224 – 2232 (2009).

Поступила 31.08.12

## COMPARATIVE PHARMACOKINETICS AND BIOEQUIVALENCE OF TWO IMATINIB 400 MG PREPARATIONS IN THE FORM OF FILM-COATED TABLETS

V. V. Smirnov, O. Tashirova, and M. R. Haitov

Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency, Ministry of Public Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, 115478 Russia

We have performed randomized open-label crossover study of pharmacokinetics and bioequivalence of film-coated tablets of Gefatinib 400 mg [Laboratory Tuteur S.A.C.I.F.I.A., manufactured by Laboratory Varifarma S.A., Argentina] versus Gleevec 400 mg [Novartis Pharma Stein AG, Switzerland] after single dose peroral administration in a group of 24 healthy male volunteers aged 18 – 55 (median age 29.5). Quantitative content of imatinib (INN) in plasma was determined by LC/MS. The following pharmacokinetic parameters were evaluated:  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ ,  $AUC_{0-t}$  and  $C_{\max}/AUC_{0-t}$ . Bioequivalence was assessed according to guidelines of the Russian Federation Ministry of Public Health (Evaluation of Bioequivalence of Drugs, 2008). Based on the results of the assessment of the relative bioavailability [80% <  $f$  (109%) < 125% and 75% <  $f'$  (102%) < 133%] and analysis of variance for  $AUC_{0-72h}$ ,  $C_{\max}$  and  $C_{\max}/AUC_{0-72h}$ , it was concluded that the two drugs are bioequivalent.

**Key words:** Imatinib, bioequivalence, pharmacokinetics