

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ»

На правах рукописи



Платова Ангелина Игоревна

**Изучение популяционной фармакокинетики оригинальных и
воспроизведенных лекарственных средств на примере некоторых
противоопухолевых и антипсихотических препаратов**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Мирошниченко Игорь Иванович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	19
1.1 Клинико-фармакологические особенности лекарственных средств.....	19
1.1.1 Ингибиторы ароматазы: анастрозол и летрозол	19
1.1.2 Рисперидон и его активный метаболит 9-ОН-рисперидон	31
1.2 Методы количественного определения	38
1.2.1 Аналитические методы в фармакокинетических исследованиях.....	38
1.2.2 Методы количественного определения изучаемых препаратов.....	42
1.3 Фармакокинетический анализ.....	43
1.3.1 Популяционная фармакокинетика.....	43
1.3.2 Программное обеспечение для популяционного моделирования.....	50
1.3.3 Камерный и некамерный фармакокинетический анализ	52
1.3.4 Влияние индивидуальных характеристик на фармакокинетику	55
1.3.5 Биоэквивалентность и взаимозаменяемость мультиисточниковых препаратов.....	60
1.3.6 Терапевтический лекарственный мониторинг	63
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	68
2.1 Клиническая часть исследований.....	68
2.1.1 Биоэквивалентность: Анастрозол и Аримидекс®	69
2.1.2 Биоэквивалентность: Летрозол®Акри и Фемара®	70
2.1.3 Биоэквивалентность: Рисперидон и Рисполепт®	70
2.1.4 Терапевтический лекарственный мониторинг рисперидона и его активного метаболита у пациентов	71
2.2 Аналитическая часть: количественное определение лекарственных средств	72
2.2.1 Оборудование	72
2.2.2 Субстанции, реактивы и материалы.....	73
2.2.3 Процедура разработки методик количественного определения	74
2.2.4 Валидация	75
2.3 Фармакокинетический анализ.....	79
2.3.1 Некамерный фармакокинетический анализ	79
2.3.2 Популяционное моделирование	80
2.3.3 Тестирование биоэквивалентности	90
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	92
3.1 Разработка и оптимизация методов количественного определения	92
3.1.1 Оптимизация пробоподготовки	92

3.1.2 Пробоподготовка образцов плазмы крови человека.....	93
3.1.3 Условия хроматографического анализа и параметры масс-спектрометрии для количественного определения целевых соединений.....	94
3.1.4 Установление калибровочных зависимостей.....	101
3.1.5 Валидационные характеристики.....	107
3.2 Изучение фармакокинетики стандартным двухэтапным методом с немодельным подходом у здоровых добровольцев	110
3.2.1 Аримидекс® и Анастрозол.....	110
3.2.2 Фемара® и Летрозол®Акри.....	114
3.2.3 Рисполепт® и Рисперидон	118
3.3 Фармакокинетическое моделирование на основе полного профиля «концентрация – время» после однократного приема исследуемых препаратов в популяции здоровых добровольцев	125
3.3.1 Анастрозол.....	125
3.3.2 Летрозол.....	133
3.3.3 Рисперидон, 9-ОН-рисперидон и активная антипсихотическая фракция рисперидона	140
3.3.4 Популяционные характеристики и оценка их стабильности	146
3.4 Сравнение фармакокинетики оригинальных и воспроизведенных препаратов	147
3.5 Популяционный фармакокинетический анализ в терапевтическом мониторинге.....	148
3.5.1 Результаты терапевтического мониторинга рисперидона и его метаболита	148
3.5.2 Сравнение измеренных у пациентов величин активной антипсихотической фракции рисперидона и смоделированных величин по данным однократного приема здоровыми добровольцами.....	151
3.5.3 Кинетика активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов.....	154
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	160
ВЫВОДЫ.....	167
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	168
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	172
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	197
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	202
Приложение А. Характеристики сравниваемых лекарственных форм	202
Приложение В. Пример файла данных для выполнения ПФК-моделирования	205
Приложение С. Листинг расчета AUC _t и C _{max} на примере 2-камерной модели с линейной кинетикой (на языке mlxtran в программе Monolix).....	206
Приложение D. Демонстрационные хроматограммы.....	207

Приложение Е. Индивидуальные параметры биоэквивалентности.....	209
БЛАГОДАРНОСТИ	210

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Фармакокинетика (ФК) лекарственных средств (ЛС) с построением полного профиля «концентрация – время» изучается только до выхода на рынок первого – оригинального препарата, а впоследствии – в исследованиях биоэквивалентности (БЭ), проводимых для регистрации его воспроизведенных аналогов (генериков). Данные, полученные у здоровых волонтеров страны-разработчика, служат основой для понимания кинетики препарата и затем дублируются в инструкциях по медицинскому применению всех последующих аналогов [Cassia S., 2013; Nicholson V., 2013; Мирошниченко И. И., 2014; Кукес В. Г., 2006]. При этом доказательство БЭ сводится к расчету лишь нескольких параметров, актуальных для ее подтверждения, позволяющего экстраполировать на генерик клинические свойства оригинала [Руководство по экспертизе лекарственных средств, Том I, под ред. Миронова А. Н., 2013]. Эти параметры, AUC (площадь под кривой «концентрация препарата – время») и C_{max} (максимальная концентрация), рассчитывают некамерным методом [Руководство по экспертизе лекарственных средств, Том I, под ред. Миронова А. Н., 2013; Смирнов А. С., 2014], а средние оценки получают стандартным двухэтапным подходом [Сергиенко В. И. и соавт., 2003].

Между тем ФК может существенно варьировать между странами [Fujikura K. et al., 2015], субъектами (межиндивидуальная вариация), а также повторными наблюдениями у одного субъекта (внутрииндивидуальная вариация) под влиянием внутренних и внешних факторов [Сергиенко В. И. и соавт., 2003]. На ФК могут влиять комедикация, возраст, вес, пол, курение и другие ковариаты¹ [Hendeles L. et al., 1993; Elzawawy A. M., Kerr D. J., 2013]. Изменчивость кинетики препарата в популяции, изучаемая популяционной фармакокинетикой (ПФК), порождает еще более широкий разброс параметров эффективности. За рубежом для выхода препарата на рынок обязательно изучение ФК у пациентов с почечной и/или печеночной недостаточностью [Sheiner L.B., 1984; Guidance for Industry, FDA, 1999; Penner N. et al., 2012; Watanabe-Uchida M et al, 2019]. Однако патология элиминационных систем далеко не единственный влияющий на ФК фактор [Bonate P. L., Howard D. R., PK in drug development, vol. 1, 2005]. Изучение ПФК обычно представлено небольшими исследованиями с применением устоявшихся фреквентивистских статистик и тестированием 1–2 факторов [Bonate P. L., Howard

¹ **Ковариаты (предикторы)** – индивидуальные характеристики, внутренние или внешние факторы, влияющие на кинетику препарата. Ковариаты могут быть представлены качественными (номинальными/категориальными или ранговыми) и количественными (дискретными или непрерывными) переменными. В данной работе термины «ковариаты» и «индивидуальные характеристики» применяются как синонимы. Примеры непрерывных ковариат – вес, уровень креатинина крови, дискретных – возраст в годах, суточная доза, категориальных – пол, раса, курение, комедикация, генотип, тип препарата (тест или референс).

D. R., PK in drug development, vol. 1, 2005]. Эти исследования ограничены финансовой стороной вопроса. Малое число заборов крови у пациентов требует моделирования профиля «концентрация – время», для чего нужно знание начальных параметров модели. Результаты моделирования кинетики не включаются в инструкцию по медицинскому применению и не всегда публикуются [Watanabe-Uchida M et al, 2019]. Исследования ПФК редки, и этой области науки по-прежнему уделяется недостаточное внимание. Использование данных «концентрация – время» из исследований БЭ может стать хорошим решением для моделирования кинетики у пациентов. Данные полного профиля «концентрация-время» исследований БЭ – это богатейший источник научной информации. Однако в настоящее время они отсутствуют в свободном доступе и лишь хранятся в досье разработчиков и органов – регуляторов [Соколов А. В., 2002].

Известно, что установление биоэквивалентности препаратов не предоставляет 100%-ную гарантию их клинической взаимозаменяемости. Возникают вопросы, связанные с заменой одного генерика другим или переключением типа «оригинал ↔ генерик», когда у пациентов наблюдаются изменения в терапевтическом отклике или по спектру безопасности – выявляются или усугубляются побочные реакции [Белоусов Ю. Б., 2003; Cessak G. et al., 2016; Elzawawy A. M., Kerr D. J., 2013]. С ростом числа генериков обостряется проблема дрейфа при переключении между ними, для решения которой рекомендуется выполнение метаанализа проведенных исследований БЭ [Chow S. C., Liu J. P., 2008; Anderson S., Nauck W. W., 1996]. Имеется вероятность того, что отсутствие или недостаточная степень терапевтической сопоставимости, так или иначе, свидетельствуют о неполном изучении ФК при сравнении препаратов. Так, проблема взаимозаменяемости отчасти может объясняться вариабельностью ФК, когда даже незначительные отличия в биодоступности биоэквивалентных препаратов при лечении конкретного пациента могут реализовываться как существенные, с клинической точки зрения [Kumet R., Gelenberg A. J., 2005].

В регуляторной практике США признаются следующие варианты тестирования БЭ: «усредненная», «популяционная» и «индивидуальная» [FDA. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, 2001]. В РФ и ЕС подтверждение БЭ исчерпывается сравнением средних кинетических параметров (так называемая «усредненная БЭ» от англ. «average bioequivalence»), полученных некамерным методом, что при узком терапевтическом индексе или высокой межиндивидуальной вариабельности препарата может быть недостаточно [Elzawawy A. M., Kerr D. J., 2013; Meredith P. 2003]. Применение НКА связано целым с рядом допущений и ограничений, поэтому в последнее время все более актуальными становятся популяционные подходы в тестировании БЭ [Seng Yue, C. et al., 2019; Драницина М. А. и соавт., 2019].

Популяционный ФК-анализ² на базе нелинейного моделирования смешанных эффектов (NLMEM) позволяет выявлять вклад в структуру межиндивидуальной вариации как фиксированных, так и случайных факторов (эффектов), что позволяет его успешно применять как альтернативный метод тестирования БЭ [Huang J. et al., 2016]. Популяционное моделирование хорошо работает с пропущенными данными, когда точность стандартного теста Шуирманна существенно снижается [Захарова, Т. В., Тархов А. А., 2019]. Поэтому тестирование БЭ инструментами ПФК является подходом, актуальным в терапевтическом лекарственном мониторинге (ТЛМ) или у особых популяций пациентов (например, детей, онкологических пациентов), когда получение полноценного ФК-профиля неэтично.

Проблема взаимозаменяемости в психофармакологии по-прежнему остается нерешенной. Переключение терапии с оригинала на генерик зачастую сопровождается обострением клинической картины и возрастанием лекарственной толерантности [Borgherini G, 2003; Desmarais J. E. et al, 2011; Rathe J. et al, 2015]. Например, перевод пациентов на аналоги клозапина может сопровождаться рецидивами и даже требовать возврата к исходному препарату [Mofsen R., 2001]. Такой феномен лекарственной неэффективности отчасти может объясняться недостаточной терапевтической эквивалентностью. Так, начальная терапия антипсихотическими препаратами (АП) характеризуется недостаточным терапевтическим ответом у 20–30% пациентов, страдающих шизофренией [Dold M., Leucht S., 2014], а достижение ремиссии после назначения антидепрессантов наблюдается лишь у трети пациентов с большим депрессивным расстройством [Perlis, R. H., 2014]. В связи с этим при переключении на другой аналог («оригинал ↔ генерик» или «генерик 1 ↔ генерик 2») в психиатрии рекомендуется ТЛМ [Carbon M., 2013]. В этом ключе отдельного внимания заслуживает рисперидон, широко применяющийся в психиатрии препарат, обладающий активным метаболитом, вместе с которым он составляет активную антипсихотическую фракцию (АМ – от англ. «active moiety») – Σ (РИС + 9-ОН-РИС) [Cessak G. et al., 2016].

Не менее важен вопрос взаимозаменяемости и для противоопухолевых средств. Если терапевтическую эквивалентность психотропных препаратов еще можно оценить (например, по шкалам PANSS или UKU), то для противоопухолевых препаратов подобная задача практически невыполнима: понадобится длительное исследование в параллельных группах с учетом 5-летней выживаемости как критерия сравнения. Поэтому вопрос терапевтической эквивалентности в химиотерапии онкозаболеваний по-прежнему остается не исследованной областью, особенно важной вследствие специфики нозологии [Desmarais J.E. et al., 2011; Elzawawy A. M., Kerr D. J.,

² Популяционный ФК-анализ, акцентируя внимание на межиндивидуальной вариабельности, использует камерный модельный подход в оценке и интерпретации полученных параметров, поэтому часто упоминается в литературе как «популяционное ФК-моделирование».

2013]. Особое место по широте распространения занимает рак молочной железы (РМЖ) [Пак Д. Д. и др., 2013; Chumsri S., 2015; Ono M. et al., 2016]. Значительные успехи, достигнутые в последнее время в лечении гормон-положительного рака молочной железы (ГПРМЖ) во многом связаны с применением ингибиторов ароматазы (ИА) – анастрозола или летроззола [Белоусов Д. Ю. и др., 2012]. Важность изучения популяционной фармакокинетики этих препаратов в полной мере демонстрируется результатами исследований, показавшими плохой прогноз терапии ГПРМЖ у пациенток с повышенным ИМТ [Kwan M. L. et al., 2012; Sestak I. E. et al., 2010; Pfeiler G. et al., 2013; Gnant M. et al., 2013, Desta Z. et al., 2011].

Известно, что рекомендованные в инструкции дозировки обеспечивают поддержание целевой экспозиции лекарства у большинства пациентов, другими словами, они рассчитаны на абстрактного «усредненного» субъекта. А значит, данная предпосылка просто не эффективна в масштабе отдельного индивида [Сергиенко В. И. и соавт., 2003]. Поэтому в последнее время все большую актуальность приобретает ТЛМ, основная цель которого заключается в подборе дозирования, обеспечивающего нахождение концентрации в пределах терапевтического диапазона. Эта задача может решаться симуляцией профиля концентрации на основе индивидуальных параметров ФК, рассчитанных с помощью ее популяционной модели и учитывающей индивидуальные характеристики пациента. На сегодняшний день ПФК приобретает все большую роль в индивидуализации терапии, наряду с такими методологическими приемами, как ТЛМ и генотипирование [Мирошниченко И. И., Платова А. И., 2015; Терапевтический лекарственный мониторинг: инструмент персонализированной медицины, под ред. Кукеса В.Г., Берри Д., 2013].

В настоящее время ПФК-анализ применяет нелинейное моделирование смешанных эффектов (NLMEM), в основе которого лежит метод максимального правдоподобия (ММП) с применением процедур Монте-Карло с цепями Маркова (МСМС). Дополнительное включение байесовского функционала позволяет использовать априорную информацию для получения более точных апостериорных оценок. Последнее особенно важно в рутинном ТЛМ, когда у пациента обычно берется только один образец крови, что дает мало информации для индивидуальных предсказаний. ПФК-моделирование позволяет эффективно работать с такими ограничениями обычного дисперсионного анализа, как несбалансированность исследования и наличие повторных наблюдений [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Brown H., Prescott R., 2014], что определяет преимущества этого метода в изучении ФК-предикторов в рутинном ТЛМ [Bauer R. J. et al., 2007; Joerger M., 2012].

В ФК-исследованиях аналитические работы зачастую выполняются в разных лабораториях, поэтому для обеспечения качества необходима разработка не только хорошо валидированной и экспрессной, но также хорошо воспроизводимой (робастной) методики

[Чистяков В. В., 2013]. Этим требованиям больше всего удовлетворяют методы, сочетающие высокоэффективную жидкостную хроматографию с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Несмотря на большое число публикаций по этим методам, их воспроизведение, адаптация и валидация в условиях новой лаборатории всегда сопровождаются практическими сложностями. Часто разработанная и успешно валидированная в одной лаборатории методика может не пройти валидацию в другой [Soto M. et al., 2014]. Причины такого положения дел могут быть самыми разными, например, свойства матрицы (хилез плазмы крови пациентов, гемолиз, иной антикоагулянт), иные условия забора и подготовки образца в клинике, материально-техническая составляющая (тип и производитель аналитического оборудования, доступность изотопного ВС или хроматографической колонки). Например, смена производителя тандемного масс-спектрометра уже потребует оптимизации таких инструмент-специфичных параметров, как энергия фрагментации, напряжение камеры столкновений, скорость потока и температура осушающего газа. [Maurer H.H, 2005]³. Аналитический метод ВЭЖХ-МС/МС так или иначе представляет собой многокомпонентную систему, включающую условия обработки биообразца в клинике, тип экстракции, условия хроматографии и тип колонки, технические возможности для инъекции и ионизации образца, а также параметры масс-спектрометрической фрагментации, разделения ионов и их детекции. Как результат работы по адаптации какого-либо опубликованного метода в новой лаборатории или иных технических условиях, по сути, сводятся к задачам, выполняемым для разработки нового метода [Сычев К., 2012; Vander H. Y. et al., 2001; González O. et al, 2014].

В завершение важно подчеркнуть, что популяционное моделирование – область клинической фармакологии, основанная на мультидисциплинарном подходе, прежде всего на серьезной математической методологии и кинетической химии [Nguyen T.T. et al., 2016]. В этом свете важно отметить, что предсказательная ценность популяционных моделей определяется совокупным качеством разных блоков исследования: (1) клинической части (дизайн исследования, сбор данных, получение биоматериала); (2) аналитических работ (оптимизация и валидация методик, количественный анализ); (3) управления данными; (4) выполнения популяционного ФК-моделирования и, в особенности, математических методов, лежащих в его основе. Эти блоки легли в основу формирования задач настоящего исследования и его этапов.

³ К примеру, при одинаковой энергии фрагментации на масс-спектрометрах разных производителей наблюдается различная интенсивность отклика сигнала образующихся фрагментов [Maurer H.H, 2005]. На сегодняшний день ANVISA (Национальное Агентство Бразилии по надзору в сфере здравоохранения) является единственной организацией, включившей робастность как обязательный тест для валидации методик.

Степень ее разработанности

В последнее время для большинства препаратов разработано и опубликовано большое количество аналитических методик. Часто опубликованные методы количественного определения трудно воспроизвести в материально-технических условиях другой лаборатории. При этом так или иначе необходима адаптация и доработка соответствующего метода с учетом инструментального оснащения лаборатории [Soto M. et al., 2014; Maurer Н.Н, 2005; Сычев К., 2012; Vander Н. Y. et al., 2001; González O. at al, 2014]. Например, для количественного определения летрозола в одной работе использовали внутренний стандарт (ВС) с изотопной меткой и хроматографию ультравысокого давления [Precht J. C. et al., 2012], в другой работе применяли метод фото-ионизации [Trösken E. R. et al., 2006]. Для детекции анастрозола описан метод, требующий сочетания газовой хроматографии (ГХ) и детектора электронного захвата [Duan G. et al., 2002]. Хорошо описаны в литературе ВЭЖХ-МС-методики количественного определения рисперидона [Писарев В. В. и др., 2013; Roman M. et al. 2008; Liu Y. et al., 2013a]. Однако из-за распространенной антипсихотической политерапии [Centorrino F. et al., 2004; Langan J., Shajahan P., 2010; Correll C. et al., 2009] для ТЛМ необходимо располагать методикой, позволяющей измерять в одном образце несколько препаратов и их активных метаболитов. Опубликованные методы требуют специальных условий – газовой хроматографии [Saar E. et al., 2012], изотопно-меченых ВС или не соответствуют применяемым протоколам лечения по составу определяемых аналитов [Fisher D. S. et al, 2013; Couchman L. et al, 2013; Josefsson M. et al., 2003].

Исследований фармакокинетики после выхода препарата на рынок мало, доступные публикации содержат очень скудную информацию, как например в Европейских отчетах по оценке лекарственного препарата (PAR). В отечественной литературе публикаций по ФК ингибиторов ароматазы нет, а работа Писарева В. В. и соавт. по БЭ рисперидона не предусматривала измерение его активного метаболита [Писарев В. В. и др., 2013].

Популяционное моделирование как метод исследования и инструмент персонализации терапии в отечественной литературе практически не представлен [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Ли Ж. и соавт., 2014].

За рубежом моделирование ФК анастрозола выполняли у детей [Anastrozole, NDA 20-541/S-006, FDA, электронный ресурс, URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>] и мужчин [Duan G. et al., 2002; Noh Y-H. et al., 2012a].

Моделирование ФК летрозола выполняли для здоровых популяций корейских мужчин [Jin S. J. et al., 2012] и японских женщин в постклимактерическом периоде [Tanii H. et al., 2011]. У пациенток с ГПРМЖ изучали влияние генотипа CYP2A6 и CYP 3A5 [Desta Z. et al., 2011], а также возраста и многократного приема [Pfister C. U. et al., 2001] на уровень летрозола в крови, при

этом применяли типовые статистики, основанные на методе моментов, и кинетику препарата не моделировали.

Кинетику рисперидона (РИС) и его активного метаболита 9-ОН-рисперидона (9-ОН-РИС) Sherwin С. М. и соавт. моделировали у детей и подростков при многократном приеме с учетом фенотипа метаболизма фермента CYP2D6. При этом не было обнаружено различий по профилю АМ препарата между разными метаболиторами [Sherwin С. М. et al., 2012]. В открытом исследовании IIa фазы кинетику РИС после приема внутрь представляли 1-частевой моделью с отдельной камерой для объема распределения активного метаболита, но без учета пресистемного метаболизма [Laffont С. М. et al., 2014]. В исследовании Riedel М. и соавт. изучали связь клинического ответа и плазменного уровня РИС, 9-ОН-РИС и АМ РИС (активной антипсихотической фракции рисперидона, представляющей собой суммарное его содержание с активным метаболитом) при монотерапии этим препаратом у 82 пациентов [Riedel, М. et al., 2005]. Моделирование кинетики АМ РИС в популяции детей (n = 304) и взрослых (n = 476) с формализацией 2-камерной моделью, не обнаружило различий между ними и влияния каких-либо ковариат [Thyssen А. et al., 2010].

Тестированию БЭ с помощью модельного подхода посвящена работа Seng Yue С [Seng Yue, С. et al., 2019].

Моделирование фармакокинетики в лекарственном мониторинге ранее выполняли в хорошо спланированных исследованиях, например, по стратегии «пик-спад» или D-стратегии. Байесовский функционал с использованием априорной информации позволяет моделировать кинетику препарата даже в рутинном мониторинге – при однократном измерении концентрации. Пример моделирования кинетики АМ РИС с применением разреженных данных ТЛМ приведен в работе Thyssen А. и соавт. [Thyssen А. et al., 2010].

Цели и задачи

Цель исследования: Выполнение популяционного ФК-моделирования с использованием данных из исследований биоэквивалентности и терапевтического лекарственного мониторинга.

Задачи исследования:

1) Разработать, оптимизировать и валидировать ВЭЖХ-МС/МС-методику количественного определения изучаемых лекарственных средств (анастрозола, летрозола, рисперидона и его активного метаболита 9-ОН-рисперидона), с помощью которых измерить концентрации этих аналитов в плазме крови человека.

2) По измеренным концентрациям анастрозола, летрозола, рисперидона и 9-ОН-рисперидона некамерным подходом получить параметры фармакокинетики с дальнейшим стандартным тестированием биоэквивалентности.

3) На данных исследований биоэквивалентности разработать популяционные ФК-модели: для анастрозола и летрозолола – в популяции женщин в постменопаузе, для рисперидона и его активного метаболита (9-ОН-РИС) – в популяции здоровых добровольцев. По данным профиля «концентрация-время» рисперидона и 9-ОН-РИС, полученным после однократного приема здоровыми добровольцами, формализовать модель кинетики активной антипсихотической фракции (АМ).

4) Повторить тестирование биоэквивалентности для ФК-параметров, оцененных в ходе популяционного ФК-моделирования.

5) Изучить кинетику АМ рисперидона у пациентов в ТЛМ с учетом модели, полученной по данным после однократного приема рисперидона добровольцами. Получить популяционные и индивидуальные оценки кинетики АМ рисперидона у пациентов и изучить влияние на нее индивидуальных характеристик.

Научная новизна

В отличие от опубликованных методов определения ИА [Precht J. C. et al., 2012; Tröskén E. R. et al., 2006; Duan G. et al., 2002] в настоящей работе используется сочетание ВЭЖХ-МС/МС и твердофазной экстракции (ТФЭ), а также немеченые внутренние стандарты. В отличие от работ по количественному определению рисперидона и других АП [Saar E. et al, 2012; Fisher D. S. et al, 2013; Couchman L. et al, 2013; Josefsson M. et al., 2003] предложенная методика не требует специальных условий, изотопно-меченых ВС, а также соответствует по составу определяемых аналитов применяемым в клинике протоколам лечения.

Впервые параметры кинетики анастрозола, летрозолола, рисперидона и 9-ОН-рисперидона, полученных для среднерусской популяции, сопоставлены с популяциями других стран.

Впервые в отечественной практике, наряду со стандартным некамерным ФК-анализом данных исследований БЭ выполнен ПФК-анализ в терминах камерной кинетики. В отличие от опубликованных работ [Anastrozole, NDA 20-541/S-006, FDA, электронный ресурс, URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>; Duan G. et al., 2002; Noh Y.-H. et al., 2012a] ФК анастрозола моделировали в целевой популяции – женщин в постменопаузе.

Работы по моделированию ФК летрозолола ранее выполняли для здоровой популяции японских женщин в постклимактерическом периоде [Tanii H. et al., 2011]. Нами был выполнен ПФК-анализ в среднерусской популяции. Ранее у пациенток с ГПРМЖ изучали связь концентрации летрозолола и генотипа CYP2A6 и CYP 3A5 [Desta Z. et al., 2011], а также влияние возраста и многократного приема [Pfister C. U. et al., 2001], при этом ФК не моделировали и применяли типовые статистики, основанные на методе моментов. В отличие от указанных работ,

зависимость объема распределения летрозола в центральной камере (V1) от ИМТ была установлена в ПФК-анализе данных после однократного приема препарата (n=18).

Впервые в отечественной практике выполнено сравнение результатов теста биоэквивалентности после некамерного ФК-анализа и популяционного ФК-анализа.

Впервые в отечественной практике выполнена формализация камерной моделью кинетики АМ рисперидона с дальнейшим ее применением к данным рутинного ТЛМ. В отличие от работы Sherwin С. М. и соавт. [Sherwin С. М. et al., 2012] кинетику АМ рисперидона изучали во взрослой популяции. В отличие от работы Laffont С. М. и соавт. [Laffont С. М. et al., 2014] кинетику АМ РИС рассматривали в целом, без выделения отдельных камер для активного метаболита. В отличие от работы Thyssen А. и соавт. [Thyssen А. et al., 2010] в нашей работе участие пациентов в ТЛМ не ограничивали из-за комедикации другими антипсихотиками.

В отечественной практике применение методов популяционной фармакокинетики к данным исследований биоэквивалентности, а также рутинного лекарственного мониторинга с однократным измерением концентрации по-прежнему остается свежей идеей.

Личный вклад

Автором проанализированы отечественные и зарубежные источники по теме исследования, определены его цель и задачи, а также разработаны методические подходы для их решения. Автором проводилось измерение концентрации изучаемых веществ, осуществлялся сбор клинических данных, фармакокинетический и статистический анализ, была выполнена интерпретация результатов и сформулированы выводы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования базируется на важности применения популяционного фармакокинетического анализа к данным из исследований биоэквивалентности, позволяющего установить параметры кинетики в среднерусской, отечественной, популяции. Камерный принцип, благодаря более качественному пониманию происходящих в организме процессов, позволяет углубить понимание кинетики даже для, казалось бы, хорошо изученных препаратов.

Применение разработанных моделей к данным ТЛМ является важным инструментом персонализации терапии. NLMEM в программе Monolix, обогащенное стохастической аппроксимацией алгоритма максимизации ожидания (SAEM), а также байесовским функционалом, позволяет получать оценки даже в случае разреженных данных (sparse data), что особенно важно для лекарственного мониторинга. ПФК-моделирование позволяет выявлять субпопуляции, требующие корректировки доз, а также предсказывать профиль концентрации лекарства у пациента с учетом его индивидуальных характеристик. Этот методологический

прием не менее важен и для научных задач популяционной фармакокинетики, заключающихся в выявлении и изучении ФК-предикторов [Мирошниченко И. И., Платова А. И., 2015].

Предложенные методики количественного определения анастрозола и летрозолола в плазме крови могут быть использованы в исследованиях БЭ и ТЛМ этих препаратов. Валидационные характеристики, простота и эффективность методики количественного определения 5-ти антипсихотиков и их 3-х метаболитов позволяют ее применять в исследованиях БЭ отдельных препаратов. Методика охватывает определение антипсихотиков из самых распространенных терапевтических схем, что служит основанием для ее применения в ТЛМ.

В рамках настоящей работы была установлена БЭ воспроизведенных препаратов, получивших возможность медицинского применения на территории России:

- ◆ Рisperидон, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 2 мг, 4 мг (ООО «Атолл», Россия), регистрационное удостоверение ЛП-002262 получено 01.10.2013 г.;
- ◆ Анастрозол, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 1 мг (ООО «Атолл», Россия), регистрационное удостоверение ЛП-002323 получено 09.12.2013 г.;
- ◆ Летрозол®Акри, таблетки, покрытые пленочной оболочкой 2,5 мг (ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин», Россия), регистрационное удостоверение ЛП-002594 получено 20.08.2014 г.

Обнаруженные отличия ФК в отечественных исследованиях БЭ от данных других стран подчеркивают важность построения популяционных моделей по данным, полученным в российских исследованиях.

Соответствие результатов тестирования БЭ с применением некамерного и модельного подходов позволяет рассматривать второй как решение при неполном ФК-профиле, например, при сомнениях в индивидуальной взаимозаменяемости (появлении нежелательных явлений или снижении эффективности) при переключении на другой мультиисточниковый препарат. При этом фармакокинетическую эквивалентность можно оценивать как на индивидуальном (выполняя лекарственный мониторинг до и после переключения терапии), так и популяционном уровне (при учете торговых наименований препаратов-аналогов).

Разработанные по данным однократного приема популяционные модели содержат априорную информацию для моделирования фармакокинетики у пациентов.

Обнаруженная у ингибиторов ароматазы зависимость объема распределения V_1 от индекса массы тела (ИМТ) может объяснить сниженную эффективность терапии ГПРМЖ у пациенток с повышенным ИМТ и помочь в коррекции терапии в этой популяции. Для проверки на внешних данных могут представлять интерес следующие гипотезы: обратная корреляция возраста и клиренса у анастрозола; обратная корреляция константы абсорбции с уровнем

аланинаминотрансферазы крови и прямая корреляция межкамерного клиренса с общим белком крови у летрозола.

Модель кинетики АМ рисперидона, позволяющая не учитывать скорость метаболизма, характеризуется простотой, допускающей ее применение в обычном ТЛМ. Обнаруженное на наших данных влияние комедикации и пола на кинетику АМ рисперидона может иметь важное значение для индивидуализации антипсихотической терапии.

Обнаруженные корреляции параметров кинетики и индивидуальных характеристик нуждаются в валидации на независимых (внешних) данных.

Практическая ценность разработанных популяционных ФК-моделей заключается в алгоритмизации и персонализации поддержания оптимального уровня системной экспозиции лекарства у отдельного пациента и, соответственно, терапевтического эффекта.

Методология и методы исследования

Методологическую базу исследования составили отечественные [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Мирошниченко И. И., 2011] и зарубежные работы [Lavielle M., Mentre F., 2007; Beal S.L., Sheiner L.B., 1992; Heeremans E. H. et al., 2010; Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014; Vonesh E. F., Carter R. L., 1992; Bauer R. J. et al., 2007; Joerger M., 2012; Savic R. M. et al., 2011; Urien C. et al., 2013], направленные на решение проблемы индивидуализации терапии посредством ПФК-моделирования. Другой предпосылкой послужили работы, акцентирующие внимание на недостатках типового тестирования БЭ и рассматривающие популяционное моделирование как альтернативу в установлении ФК-эквивалентности [Кукес В. Г., Сычев Д. А. (ред.), 2009; Драницина М. А. и соавт., 2019; Chow S. C., Liu J. P., 2008; Anderson S., Hauck W. W., 1996; Seng Yue, C. et al, 2019; Huang J. et al., 2016].

В работе для анализа изучаемых веществ использованы ВЭЖХ-МС/МС-методы, для пробоподготовки применяли твердофазную экстракцию.

Выполнение ПФК-анализа было основано на ретроспективном анализе первичной медицинской документации и регистрационных карт участников исследований БЭ и ТЛМ. Методы получения параметров распределений включали как устоявшиеся статистические приемы, так и более точный метод максимального правдоподобия. ПФК-анализ был основан на нелинейном моделировании смешанных эффектов с алгоритмом SAEM и возможностями байесовского функционала. Индивидуальные параметры кинетики получали методами Монте-Карло с цепями Маркова.

Для реализации вычислительной части ПФК-анализа использовалась программа Lixoft Monolix версии 4.2. Некамерный ФК-анализ выполняли в программе WinNonLin версии 5.2.

Статистическую обработку проводили с помощью пакетов программного обеспечения MS Office Excel (v. 2010–2016) и IBM SPSS Statistics версии 22.

Положения, выносимые на защиту

1) Выполнение популяционного фармакокинетического анализа данных исследований биоэквивалентности позволяет расширить знания о кинетике препарата и ее межиндивидуальной вариации.

2) Предложенные оптимизированные и валидированные ВЭЖХ-МС/МС методики количественного определения анастрозола и летрозолола пригодны для быстрого и качественного выполнения анализа в исследованиях БЭ. Предложенная унифицированная, оптимизированная и экономичная ВЭЖХ-МС/МС методика для одновременного определения содержания 5 антипсихотических препаратов и 3-х метаболитов, продемонстрировала эффективность в ТЛМ антипсихотиков, а также исследовании БЭ РИС.

3) Стандартным тестированием (тест Шуирманна и ANOVA для параметров AUC_t и C_{max}) установлена биоэквивалентность сравниваемых препаратов: Анастрозол и Аримидекс[®] (анастрозол), Летрозол[®] Акри и Фемара[®] (летрозол), Рисперидон и Рисполепт[®] (по уровню как рисперидона, так и его активного метаболита). Рассчитанные некамерным подходом параметры фармакокинетики анастрозола, летрозолола, рисперидона и 9-ОН-рисперидона показали отличия среднерусской популяции от популяций других стран.

4) В качестве гипотезы-кандидата в изучении популяционной фармакокинетики анастрозола и летрозолола предложена пропорциональная зависимость объема распределения от ИМТ, верификация которой поможет обосновать увеличение дозировок для улучшения терапевтического ответа у пациенток с ГПРМЖ и повышенным ИМТ. Научный интерес для проверки на внешних данных также могут представлять следующие гипотезы: обратная корреляция возраста и клиренса у анастрозола, а также обратная корреляция константы абсорбции с уровнем аланинаминотрансферазы крови и прямая корреляция межкамерного клиренса с общим белком крови у летрозолола.

5) Установлена биоэквивалентность сравниваемых препаратов по параметрам AUC_t и C_{max}, рассчитанным методами Монте-Карло с цепями Маркова с использованием камерных популяционных моделей, что предоставляет возможность ее тестирования при разреженных данных «концентрация–время».

6) Предложено изучать кинетику рисперидона в виде его активной антипсихотической фракции (АМ). Установленное влияние фактора «пол» на клиренс АМ рисперидона актуально для индивидуализации терапии и нуждается в валидации на внешнем наборе данных. Влияние

фактора «комедикация» на константу абсорбции и клиренс АМ рисперидона требует дополнительного изучения и учета в лекарственном мониторинге рисперидона.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология и областям исследований:

- ◆ п. 6 – Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека.
- ◆ п. 11 – Исследование биоэквивалентности лекарственных средств у здоровых добровольцев и пациентов;
- ◆ п. 12 – Разработка методологии и проведение терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с учетом клинической эффективности и возможности проявления нежелательных реакций лекарственных средств;
- ◆ п. 15 – Разработка методов математического моделирования, в том числе, выбора дозирования лекарственных средств при их первичном и курсовом назначении;
- ◆ п. 20 – Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов, с учетом их индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности).

Степень достоверности и апробация результатов

Методология исследования соответствует поставленным задачам. По представленной тематике проработан внушительный объем литературных источников. Полученные результаты базируются на фактических концентрациях изучаемых веществ, измеренных с применением валидированных методов количественного определения. Клинические исследования выполнялись в соответствии с правилами Надлежащей клинической практики (GCP) [ГОСТ Р 52379–2005, 2006], Хельсинкской декларацией, а также после одобрения локальным этическим комитетом. Протоколы исследований БЭ предварительно были утверждены Минздравом РФ. Представленные выборки репрезентативны и соответствуют задачам настоящего исследования. Методология популяционного ФК-анализа основана на систематизации большого объема работ, опубликованных по этой тематике, и соответствует современным представлениям. Полученные результаты обработаны статистически, их достоверность проиллюстрирована в работе большим количеством таблиц и изображений. Выводы всесторонне подвергнуты критической интерпретации, имеют теоретическое обоснование и практическое значение.

Основные результаты диссертационного исследования были доложены на следующих конференциях, где подвергались научной дискуссии:

- ◆ XX и XXI Российском национальном конгрессе “Человек и лекарство” (Москва, 2013, 2014);
- ◆ I Международном Форуме «Молекулярная медицина – новая модель здравоохранения XXI века: экономика, технология, образование» (Санкт-Петербург, 2013);
- ◆ научно-практической конференции молодых ученых НЦПЗ РАМН (2014 г.);
- ◆ научно-практической конференции «Исследования кинетики растворения, фармакокинетики и биоэквивалентности при разработке лекарственных средств» (Москва, 2015);
- ◆ Совместной научно-практической конференции сотрудников ФГБУ «НЦПЗ» РАМН и ФГБУ “ГНЦ “Институт иммунологии” ФМБА России от 29 июля 2014 г;
- ◆ Совместной научно-практической конференции сотрудников ФГБНУ НЦПЗ и ФГБУ “ГНЦ “Институт иммунологии” ФМБА России от 17 сентября 2020 г.

Публикации по теме диссертации

По теме исследования опубликовано 15 печатных работ, в том числе:

- Научных статей отражающих основные результаты диссертации 13 статей, из них: в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки России– 5 статей (из них 4 статьи в журналах, включенных в международные базы данных Scopus, Web of Science); в иных изданиях – 3 статей; в материалах конференций – 5 работ.
- Обзорных статей – 2.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 210 страницах машинописного текста, включает введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы» и «Результаты и обсуждение», заключение и выводы. Работа содержит список литературы из 288 наименований, список сокращений и условных обозначений, список иллюстративного материала (50 рисунков и 49 таблиц), а также приложения А, В, С, D и E.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Клинико-фармакологические особенности лекарственных средств

1.1.1 Ингибиторы ароматазы: анастрозол и летрозол

Рак молочной железы (РМЖ), самое распространенное у женщин злокачественное заболевание, составляет 23% от вклада всех опухолей [Torre L. A. et al., 2015]. В России РМЖ также лидирует в структуре злокачественных опухолей у женщин, составляя наибольшую долю в причинах онкологической смертности (17,2%) [Пак Д. Д. и др., 2013].

Есть много свидетельств вовлечения эстрогенов в индукцию РМЖ, однако точные механизмы гормонального канцерогенеза окончательно не изучены [Середа Е.Е. и соавт., 2004].

Эстрогены у женщин с сохранной детородной функцией синтезируются яичниками, оказывают эндокринное воздействие и метаболизируются в периферических таргетных тканях. Главным источником циркулирующих эстрогенов (в основном эстрадиола) в постменопаузе является опосредованная ароматазой (CYP19A1) биотрансформация андростендиона в эстрон и далее – в эстрадиол, происходящая в периферических тканях (мезенхимальные клетки жировой ткани, остеобласты и хондроциты, эндотелий сосудов, гладкомышечные клетки аорты и многочисленные участки головного мозга). Поэтому в постменопаузе эстрогены в первую очередь оказывают локальное паракринное действие в месте своего синтеза. При этом в русло крови поступает лишь их незначительное количество, не подвергшееся локальному метаболизму. По этой причине низкий плазменный уровень эстрогенов в постменопаузе практически не отражает их концентрацию в местах синтеза. К примеру, в ткани опухоли молочной железы, концентрация эстрогенов как минимум на порядок больше их плазменного уровня [Simpson E. R., 2003; Blakemore J., Naftalin F., 2016].

Несмотря на то, что ароматаза содержится во многих опухолевых тканях, не до конца ясна роль в дальнейшем канцерогенезе опосредованного ею синтеза эстрогенов (FDA. Arimidex. label]. Экспрессия ароматазы носит тканеспецифичный характер и регулируется разными веществами в различных тканях, например, в яичниках – фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ), в жировой и костной ткани – глюкокортикостероидами, цитокинами 1 класса и фактором некроза опухоли- α [Chang H. M. et al, 2013]. В опухоли молочной железы локальная экспрессия CYP19 и, соответственно, активация ароматазы индуцируются простагландином E₂, выделяемым макрофагами, фибробластами и железистым эпителием опухолевой ткани [Tan T. et. al., 2015].

Основной диагностической процедурой, определяющей подход к терапии РМЖ, является гистологическое изучение ткани опухоли. Если при этом определяется повышенная (≥ 10 %

клеток) экспрессия рецепторов эстрогена (РЭ) или прогестерона (РП), такую опухоль определяют как гормон-положительную. Другими важными маркерами прогноза и эффективности лечения является гиперэкспрессия специфического белка-переносчика HER2⁴ и маркера клеточной пролиферации Ki-67 [Ono M. et al., 2016].

Основой разработки селективных ингибиторов ароматазы стало выявление повышенной активности этого фермента в самой опухоли и ее метастазах при РМЖ, не связанной с увеличенным количеством рецепторов эстрогена и прогестерона [Lipton A. et al., 1987]. Установлено, что снижение содержания ароматазы и эстрогенов в ткани РМЖ способствует торможению роста и регрессии опухоли [Geisler J., 2011]. Поэтому ИА тормозят не только рост самой опухоли, но и метастазов, продлевая жизнь даже при диссеминированной форме рака. Снижение уровня циркулирующих эстрогенов как критерий, отражающий степень подавления их синтеза опухолевой тканью, стало основной оценкой клинической эффективности этих препаратов.

Первый, неселективный, ингибитор ароматазы – аминоглутетимид, ингибировал целый ряд ферментов стероидогенеза, нуждается в больших дозировках (по 250 мг 4 раза в сутки) и требует проведения мониторинга функционального состояния коры надпочечников [Schteingart D. E., 2009]. Долгое время первоочередным средством терапии ГПРМЖ был первый селективный ингибитор рецепторов эстрогена – тамоксифен (Zeidan B. et al., 2016). Поиск более селективных препаратов привел к появлению ингибиторов ароматазы II и III поколения. ИА III поколения выгодно отличаются большей степенью снижения плазменных эстрогенов: анастрозол (на 96,7–97,3%), летрозол (>98,9% и >99,1%) и эксместан (>97,9%) [Umar A. et al., 2012; Geisler J., 2011]. Нестероидные ИА (анастрозол и летрозол), в отличие от эксместана (реагирует с субстрат-связывающим функциональным участком фермента, вызывая его необратимое ингибирование), нековалентно связываются с гемовой частью ароматазы. Эти ИА являются обратимыми конкурентными ингибиторами и проявляют эффективность в небольших дозировках: 2,5 мг/сут летрозола и 1 мг/сут анастрозола [Chumsri S., 2015].

В настоящее время летрозол и анастрозол являются препаратами I линии в предоперационном лечении раннего ГПРМЖ или адъювантной терапии диссеминированного ГПРМЖ, а также являются препаратами II линии в режиме «переключения» с тамоксифена, что отражено в рекомендациях по ведению больных с РМЖ [Болотина Л.В. и др., 2014].

Крупные мультицентровые исследования подтверждают большую эффективность ИА перед тамоксифеном в лечении ГПРМЖ. Так, в исследовании АТАС продемонстрировано достоверное преимущество анастрозола по сравнению с тамоксифеном (анастрозол n = 3125,

⁴ Мембранный рецептор – биомаркер агрессивности и неблагоприятного прогноза РМЖ.

тамоксифен $n = 3116$), как по показателям 5-летней, так и 10-летней выживаемости в терапии раннего ГПРМЖ у пациенток в постменопаузе [Howell A. et al., 2005; Cuzick J. et al., 2010]. В другой работе [Mouridsen H. et al., 2001] показаны преимущества летрозолола перед тамоксифеном в терапии первой линии местнораспространенного или метастатического ГПРМЖ ($n = 916$). В исследовании ITA «переключение» терапии на анастрозол после 2–3 лет терапии тамоксифеном удлиняло безрецидивный период при ГПРМЖ, по сравнению с пациентками, продолжавшими получать тамоксифен ($n = 448$) [Voccardo F. et al., 2006]. В исследовании MA.17 ($n = 916$) прием летрозолола, продолженный в течение 5 лет после 5-летней терапии тамоксифеном, значительно повышал общую выживаемость и отдалял развитие метастазов, по сравнению с плацебо [Bryant J., Wolmark N., 2003].

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что летрозолол или анастрозолол увеличивают безрецидивную выживаемость при ГПРМЖ как в режимах монотерапии или «переключения», так и при продолженном приеме после завершения гормонотерапии. Кроме того, именно эти лекарства рекомендованы как препараты первой линии в адъювантной гормонотерапии (последовательность «ИА → тамоксифен») [Болотина Л.В. и др., 2014].

Анастрозолол

Химическая формула: 2,2'-[5-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-1,3-фенилен] бис(2-метилпропан-нитрил); брутто-формула: $C_{17}H_{19}N_5$; молекулярная масса: 293,2 а.е.м (Рисунок 1).

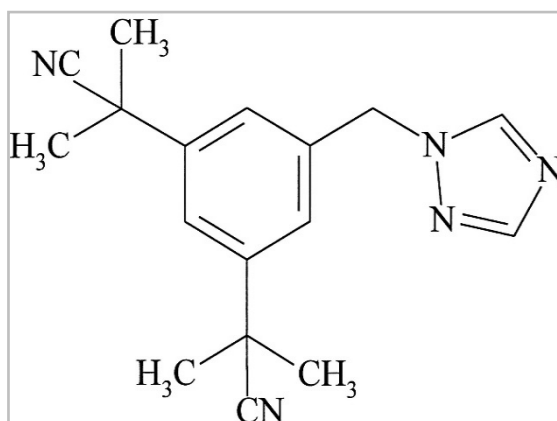


Рисунок 1 – Структурная формула анастрозолола

Анастрозолол, производное бензилтриазола, нестероидный конкурентный ингибитор ароматазы (CYP19A1), взаимодействующий с гем-связывающим участком этого фермента. Препарат подавляет превращение андростендиона в эстрон, а тестостерона – в эстрадиол [Kelly S. M., Buzdar A. U., 2010]. Плазменные концентрации эстрадиола и эстрона у женщин в постменопаузе снижаются на 79% и 70% при приеме анастрозолола в дозе 1 мг/сут [Ingle J. N. et al.,

2015]. Анастрозол не проявляет клинически значимого влияния на синтез кортизола или альдостерона [Iranmanesh A. et al., 2010].

Анастрозол характеризуется быстрой абсорбцией: время достижения максимальной концентрации (T_{max}) после приема натощак внутрь не превышает 2 ч. Прием пищи несколько снижает скорость, не оказывая значимого влияния на степень абсорбции. При приеме анастрозола через 30 мин после еды максимальная концентрация (C_{max}) в среднем снижается на 16%, а T_{max} пролонгируется с 2 до 5 ч. ФК анастрозола линейна в диапазоне от 1 до 20 мг, не меняя своего характера при многократном приеме. ФК у пациентов и здоровых женщин в периоде постменопаузы сходна [FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014].

Абсолютная биодоступность в исследовании с радиомеченым препаратом составила 83–85% [FDA. NDA 20-541/S-006. Arimidex, 1997].

Основной путь метаболизма 1 фазы осуществляется окислением до гидроксианастрозола с дальнейшим образованием глюкуронил-производного во 2-й фазе метаболизма [Kamdem L. K. et al., 2010]. Так как в тонком кишечнике сосредоточено много метаболизирующих ферментов [Cox A. J. et al., 2017], абсорбция анастрозола может зависеть от пресистемного метаболизма.

Анастрозол связывается на 40% с белками плазмы, в основном с альбуминами [FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014]. Препарат является субстратом транспортного Р-гликопротеина (P-gp), но не взаимодействует с белком резистентности рака молочной железы (BCRP). Активный эффлюкс анастрозола, опосредованный P-gp, в гематоэнцефалическом барьере может объяснять более низкие, по сравнению с летрозолом, концентрации в центральной нервной системе (ЦНС). С этим связывают меньшую эффективность анастрозола при диссеминированной форме РМЖ с метастазами в ЦНС [Miyajima M. et al., 2013]. Исследования связывания анастрозола с эритроцитами не проводилось. Равновесная стационарная концентрация (C_{ss}) при ежедневном приеме достигается в течение 7–10 дней [Kelly C. M., Buzdar A.U., 2010]. C_{ss} анастрозола при многократном приеме в дозах 3, 5 и 10 мг/сутки в 3–4 раза (величина аккумуляции) превосходит его уровни после однократного приема [Plourde P. V. et al., 1995].

Метаболизм анастрозола осуществляется N-деалкилированием и гидроксигированием (1 фаза метаболизма проходит под контролем CYP3A4 и в меньшей степени CYP3A5 и CYP2C8), а также глюкуронизацией (2 фаза метаболизма) уридиндифосфат-глюкоронилтрансферазами (UGT), главным образом типами UGT1A4, UGT2B7 и в меньшей степени UGT1A3. В связи с этим существенное влияние на эффективность лечения анастрозолом могут оказывать генетический полиморфизм вышеперечисленных ферментов и иные причины изменчивости их активности [Abubakar M.B., 2014; Kamdem L. K. et al., 2010]. В плазме крови и моче человека

обнаруживаются метаболиты: гидроксианастрозол (1), глюкуронид гидроксианастрозола (2), глюкуроновый конъюгат анастрозола (3) и триазол (4) (Рисунок 2).

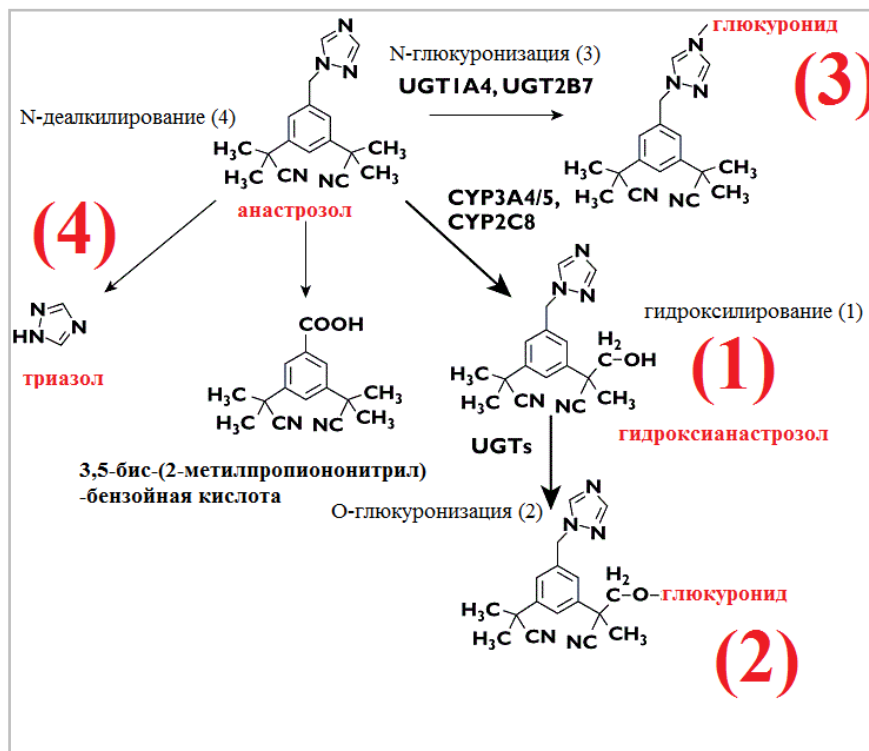


Рисунок 2 – Метаболические пути анастрозола, адаптировано из [Abubakar M. B. and Gan S. H., 2016; Kamdem L. K. et. al, 2010]

Триазол не ингибирует ароматазу, фармакологическая активность гидроксиметаболитов анастрозола не известна [Abubakar M. B., 2014]. Метаболизм анастрозола до сих пор изучен недостаточно. Так, по данным Kamdem L. K. и соавт. (2010) основными метаболитами в крови пациентов были гидроксианастрозол и глюкуронид, а триазол не обнаруживался.

Элиминация анастрозола довольно медленная: период полувыведения (пуляци) составляет около 50 ч, варьируя в интервале 30–60 ч. В исследовании с радиометкой было показано, что с мочой и калом выводится 85 % полученной дозы в течение 72 часов после приема препарата [FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014].

На долю печеночного метаболизма приходится 85% элиминации, так, с мочой в неизменном виде выделяется менее 10% полученной дозы [FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014; Buzdar A.U. et al., 2003]. Все метаболиты также выводятся преимущественно почками [Kamdem L. K. et. al, 2010].

ФК анастрозола не зависит от дозы и времени, проявляя линейность и предсказуемость стационарной концентрации по ее уровню после однократного приема [Plourde P. V. et al., 1995; FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014].

Анастрозол – ингибитор цитохрома CYP1A2 [Grimm S. W., Dyroff M. C., 1997], поэтому не исключено его ФК-взаимодействие с препаратами растительного происхождения или пищей: гингко билоба, кава, виноградные косточки, арахис, красное вино. Однако минимальные равновесные концентрации (C_{ssmin}) у пациенток до и после приема гингко билоба (120 мг 2 р/сут) не различались, как у принимавших летрозол, не являющийся ингибитором CYP1A2 ($91,1 \pm 50,4$; $89,6 \pm 52,14$ нг/мл; $p = 0,60$), так и анастрозол ($29,1 \pm 8,6$; $29,1 \pm 7,6$ нг/мл; $p = 0,97$) [Vardy J. et al., 2013]. Анастрозол – ингибитор и субстрат цитохрома CYP3A4, поэтому возможно влияние на его ФК следующих продуктов и пищевых добавок: грейпфрут, энотера (evening primrose), черный чай, кошачий коготь, гвоздика, пиретрум девичий, желтокорень канадский ("золотая печать", *Hydrastis canadensis*), шалфей, соевый соус, специи и пряности, тимьян, тропические фрукты, эхинацея, брокколи.

Маловероятно, что в терапевтических дозах анастрозол ингибирует метаболизм ЛС, опосредованный цитохромами P450. В более высоких концентрациях анастрозол ингибирует метаболические реакции, опосредованные CYP1A2, CYP2C8/9 и CYP3A4, не влияя на активность CYP2A6 [Grimm S. W., Dyroff M. C., 1997].

In vitro анастрозол показал высокую активность ингибирования плацентарной ароматазы человека при концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) равной 15 нМоль [Plourde P. V. et al., 1994]. У здоровых мужчин при однократном приеме анастрозола от 0,1 до 60 мг отмечался дозозависимый характер подавления уровня эстрадиола с максимальным эффектом через 6–12 часов после приема и сохранением действия в течение 24 часов, начиная с дозы 7,5 мг уровень подавления эстрогенов превышал 80% от исходных величин [Plourde P. V. et al., 1995]. При многократном приеме уровень эстрадиола снижался ниже предела детекции (3–4 пМоль/л) уже при приеме анастрозола в дозах 1–10 мг/сут [Plourde P. V., 1994; Kelly C. M., Buzdar A.U., 2010]. В 2-х клинических исследованиях у пациенток с распространенным РМЖ степень снижения мегестрола ацетата была одинакова при приеме обеих дозировок: 1 и 10 мг/сут. Поэтому в дальнейшего клинического применения была принята суточная доза 1 мг [Buzdar A. U. et al., 1996; Kelly C. M., Buzdar A.U., 2010].

Большая вариабельность плазменных уровней анастрозола, а также эстрогена, эстрадиола и прекурсоров эстрогена до начала и после лечения, может быть причиной неодинаковой его переносимости и эффективности у разных пациентов [Ingle J.N. et al., 2015; Kelly C. M., Buzdar A.U., 2010].

Применяемая сейчас терапевтическая доза анастрозола 1 мг/сут была принята как минимальная доза, снижающая плазменный эстрадиол ниже предела детекции – 3,7 пмоль/л [Plourde P. V., 1995]. Ограничения в аналитических методах того времени (радиоиммунный

анализ) не позволили установить, будет ли возрастание дозировок сильнее подавлять плазменный эстрадиол, и как это может сказаться на эффективности терапии РМЖ.

У женщин от 50 до 80 лет в постменопаузе (как здоровых добровольцев, так и пациенток с РМЖ) на этапе разработки препарата не было выявлено влияния возраста на ФК. Сывороточные уровни эстрадиола и сульфата эстрона были сходными у японок и женщин белой расы в постменопаузе при получении анастрозола в дозе 1 мг/сут в течение 16 дней. Средние величины C_{ss} составили 25,7 нг/мл для белой расы и 30,4 нг/мл для японок.

При нарушении функции почек почечный клиренс анастрозола прямо пропорционален клиренсу креатинина (КлКр). При этом общий клиренс анастрозола снижался всего на 10% при тяжелой почечной недостаточности со снижением КлКр на 50%. Все же применение анастрозола при почечной недостаточности ограничено, что связано со слабой исследованностью токсичности его метаболитов, элиминируемых в основном почками (60% дозы выделяется почками в виде метаболитов).

При алкогольном циррозе печени клиренс анастрозола снижается приблизительно на 30%, что однако не сказывается на системной экспозиции препарата и не требует коррекции дозировок [Li Y. F. et al., 2007; FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014; Инструкция ... Аримидекс® П N013285/01 [Электронный ресурс] // ГРЛС [Офиц. сайт]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>].

В Таблице 1 представлены параметры ФК анастрозола из разных исследований БЭ.

Таблица 1 – Параметры фармакокинетики анастразола из исследований биоэквивалентности

Исследуемая популяция	T _{1/2} (ч ⁻¹)		C _{max} (нг/мл)		AUC _{inf} (нг · ч/мл)		Источник
	R	T	R	T	R	T	
Женщины в постменопаузе:							
Ирландия	47,0 ± 10,6	48,2 ± 12,1	21,8 ± 2,8	22,6 ± 3,1	1175 ± 120	1207 ± 207	[IPAR. CRN 2145478, 2014]
Великобритания	45,8	44,4	17,9	17,3	828	793	[PAR.MHRA. UK/H/911/001/DC, 2007]
Швеция	–	–	18,5 ± 2,6	18,2 ± 2,4	912 ± 243	1197 ± 223	[UKPAR. SE/H/781/01/DC. 2010]
Нидерланды	40 ± 12	41 ± 15	15,6 ± 2,5	15,5 ± 2,3	629 ± 207	628 ± 214	[PAR.NL/H/836/01/DC, 2011]
Мужчины – здоровые добровольцы:							
Корея	42,1 ± 8,4	41,6 ± 7,8	14,8 ± 2,6	15,0 ± 2,3	707 ± 178	669 ± 130	[Noh Y-H. et al., 2012 a]
Великобритания	42,8 ± 10,9	43,3 ± 11,9	21,0 ± 3,1	20,8 ± 2,4	1067 ± 231	1095 ± 255	[MHRA PAR. PL 18727/0014, 2011]
Европейский Союз	42,8 ± 10,9	43,3 ± 11,9	21,0 ± 3,1	20,8 ± 2,4	1067 ± 231	1095 ± 255	[PAR. UK/H/3974/01/DC]

Примечания:

Данные представлены в виде «среднее ± SD».

R – оригинальный препарат (Аримидекс[®]), T – тестируемые воспроизведенные препараты.

Летрозол

Химическая формула: 4,4'-(1H-1,2,4-триазол-1-илметилен) дибензонитрил; брутто-формула: C₁₇H₁₁N₅; молекулярная масса: 285,3 а.е.м. (Рисунок 3).

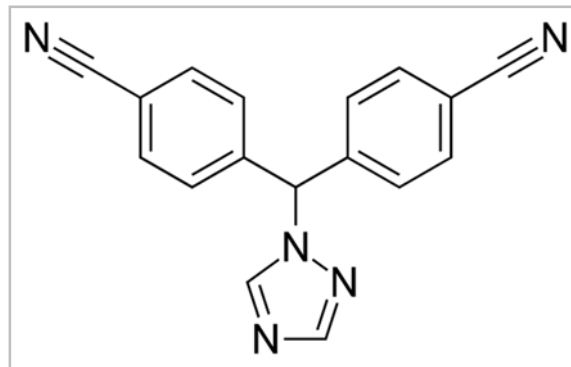


Рисунок 3 – Структурная формула летрозола

Летрозол, как и анастрозол, относится к конкурентным (временно блокирующим) специфическим ИА. Летрозол избирательно подавляет внутригонадный синтез стероидных гормонов, не оказывая существенного влияния на продукцию минералокортикоидов и глюкокортикоидов в надпочечниках [Thomssena С., Harbeckb С. N., 2010]. В эксперименте *in vivo* степень подавления ароматазы устанавливали по динамике маточной массы после введения андростендиона незрелым самкам крыс. Эффективность летрозола на порядок выше аминоглутетимида (1-е поколение ИА): 50%-ная эффективная доза (ED₅₀) летрозола 1–3 мкг/кг, аминоглутемида 30 мг/кг [Bhatnagar A. S., 2007]. Противоопухолевое действие летрозола изучалось на разных животных моделях. Эффективность препарата аналогична овариэктомии – по повышению сывороточного лютеинизирующего гормона (ЛГ) и регрессированию эстрогензависимых опухолей. При этом в отличие от овариэктомии, лечение летрозолом не повышает сывороточный фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) [Bhatnagar A.S., 2007]. Прием 0,1–5 мг/сут летрозола снижал плазменные эстрогены на 95–99% у женщин в постменопаузе. Подавление летрозолом синтеза эстрона и эстрона сульфата сильнее, чем у анастрозола ($p = 0,019$ и $0,0037$, соответственно) [Geisler J., 2011].

Препарат не воздействует на синтез стероидных гормонов в надпочечниках, не влияет на плазменный уровень 17 α -ОН прогестерона, тиреостимулирующего, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, а также андростендиона. Летрозол не нарушает синтез

альдостерона и кортизола, не требуя дополнительного назначения глюкокортикостероидов и минералокортикостероидов при лечении [Bhatnagar A.S., 2007]. Имеются сведения о высокоспецифичном блокировании летрозолом активности аминотрансфераз [Chumsri S., 2015].

После приема внутрь летрозол быстро и полностью всасывается в системный кровоток (абсолютная биодоступность достигает 99,9%) и интенсивно распределяется по органам и тканям. Время достижения максимальной концентрации летрозола в крови (T_{max}) составляет около 1 ч при приеме натощак и около 2 ч при приеме с пищей.

Пресистемный метаболизм обусловлен не только печеночными ферментами CYP2A6 и CYP3A4, но и локализованным в стенке кишечника ферментом CYP3A4.

Стационарный объем распределения равняется в среднем 1,87 л/кг (размах: 1,47–3,24), при этом около 69% вещества связано с белками плазмы крови (главным образом с альбумином, 55%). Связывание с белками плазмы составляет $60,1 \pm 2,9\%$, с альбумином – $55,1 \pm 1,4\%$, доля кислого $\alpha 1$ -гликопротеина и гамма-глобулинов составляет менее 10%. Концентрация летрозола в диапазоне от 10 до 500 нг/мл, а также комедикация тамоксифеном не оказывают на нее существенное влияние. Следует заметить, что отсутствие зависимости степени связывания с белками или эритроцитами от плазменной концентрации означает отсутствие сильного сродства препарата к белкам или форменным элементам крови [Каркищенко Н. Н. и др., 2001]. Эритроцитарная фракция летрозола составляет $35,2 \pm 2,7\%$ (при гематокрите около 40%), а концентрация в эритроцитах образует 80% его плазменного уровня [Colussi D. M. et al, 1998]. В отличие от анастрозола, летрозол не подвергается активному эффлюксу посредством Р-гликопротеина (P-gp), препятствующему проникновению лекарства через ГЭБ (гематоэнцефалический барьер), что дает преимущества в терапии РМЖ с метастазами в ЦНС [Miyajima M. et al., 2013].

Метаболизм летрозола достаточно интенсивный, происходит посредством цитохромов 2A6 и 3A4 с образованием фармакологически неактивного метаболита карбинола (4,4'-метанол-бис-бензонитрил) и его кетонового аналога. CYP3A4 опосредует превращение летрозола в карбинол, тогда как CYP2A6 катализирует образование обоих метаболитов. В модели с микросомами человека летрозол сильно ингибирует активность CYP2A6 и умеренно – CYP2C19 [Desta Z. et al., 2011; Precht J. C. et al., 2013]. Известно, что генетический полиморфизм изофермента CYP3A4 редко встречается в азиатских странах, в отличие от широко распространенного полиморфизма цитохрома 3A5. Однако, связь между полиморфизмом CYP3A5 и CYP2A6 и ФК летрозола в исследовании у корейских мужчин установлена не была [Jin S. J. et al., 2012].

Период полувыведения летрозола составляет в среднем 42 часа [Lonning P. et al., 2003; Bhatnagar A. S., 2007]. Основной путь выведения летрозола из организма – почечная экскреция

[Инструкция ... Фемара® П N015738/01 [Электронный ресурс] // ГРЛС [Официальный сайт]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>]. Не менее 75 % введенной дозы экскретируется в виде глюкуронида карбинола, 9% приходится на долю других метаболитов, а около 6 % выводится в виде неизмененного вещества [Desta Z. et al., 2011].

Эффективность летрозолола, оцененная по степени снижения плазменных уровней эстрогена и эстрадиола, была одинакова в интервале доз 0,5–2,5 мг/сутки и соответствующих им равновесных концентраций: 12–15 нг/мл и 100–143 нг/мл [FDA. NDA 20–726, Femara].

Влияние возраста на ФК летрозолола изучали на двух подгруппах пациенток с РМЖ (возрастом 50–65 лет и старше 70 лет). Средний $T_{1/2}$ в этом исследовании составил 82,2 ч и был выше наблюдаемого у здоровых добровольцев, что возможно со снижением клиренса с возрастом [Pfister C. U. et al., 2001].

На метаболизм летрозолола может влиять генотип цитохрома CYP2A6, ключевого фермента в инактивации никотина, по уровню которого можно фенотипировать его активность. При этом у курильщиков возможна сниженная элиминация летрозолола из-за конкуренции за CYP2A6. Поэтому в ТЛМ летрозолола стоит учесть влияние курения и генотипа CYP2A6 на элиминацию препарата [Desta Z. et al., 2011].

В Таблице 2 представлены параметры ФК летрозолола из разных исследований БЭ.

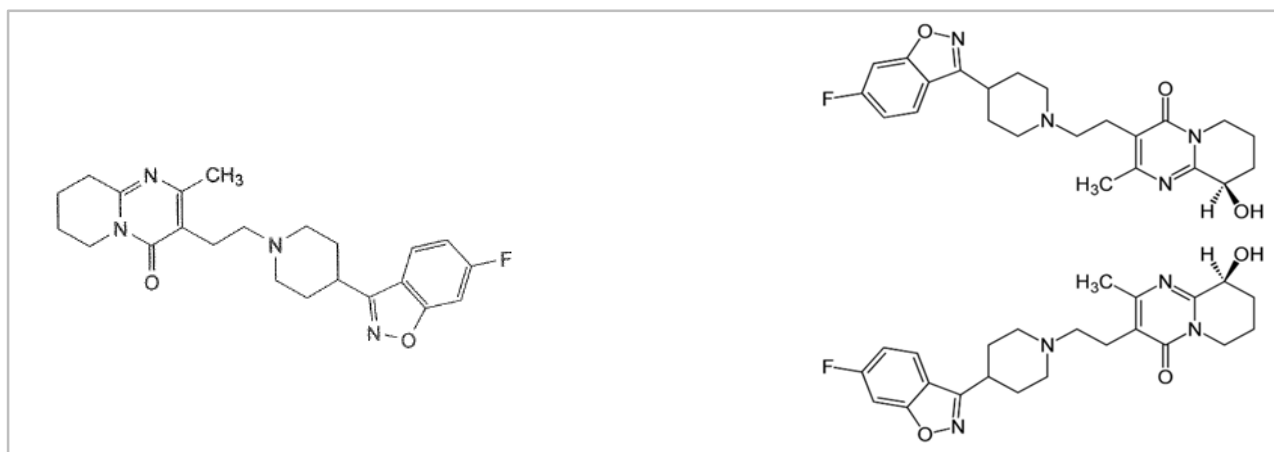
Таблица 2 – Параметры фармакокинетики летрозола из исследований биоэквивалентности

Исследуемая популяция / длительность ФК-мониторинга	T _{1/2} (ч ⁻¹)		C _{max} (нг/мл)		AUC _{inf} (нг · ч/мл)		Источник
	R	T	R	T	R	T	
Женщины в постменопаузе, Китай / 144, 192 и 240 ч.	62,0 ± 25,8	63,3 ± 25,2	44,8 ± 13,6	47,2 ± 11,0	2040 ± 815	2060 ± 820	[Liu Y. et al., 2013 b]
Женщины в постменопаузе, Канада / 144, 192 и 240 ч.	62,8 ± 29,7	61,4 ± 28,2	32,5 ± 5,8	38,0 ± 7,1	1725 ± 625	1746 ± 668	[Final report, Cinfa, 2008]
Женщины в постменопаузе, Великобритания / нет данных	-	-	37,2	35,8	1600	1619	[UKPAR PL 33410/0061, 2010]
Мужчины, здоровые добровольцы, Корея / 96, 168 и 312 ч.	59,0 ± 33,4	57,0 ± 29,2	38,3 ± 6,8	35,1 ± 6,8	2069 ± 805	2080 ± 879	[Noh Y-H. et al., 2012 b]
Здоровые добровольцы обоих полов, 21 – 29 лет, Китай / 24, 48 и 72 ч.	66,7 ± 23,0	58,1 ± 24,4	39,6 ± 5,3	40,1 ± 5,8	2953 ± 817	2566 ± 851	[Sheng Y. et al., 2012]
Мужчины, здоровые добровольцы, 19 – 33 лет, 240 ч.	44,7 ± 18,5	44,1 ± 16,0	35,1 ± 7,4	38,1 ± 5,7	1963 ± 857	2008 ± 885	[PAR. UK/H/1159/001/ DC]
Мужчины и женщины детородного возраста / нет данных	56,9	58,0	39,4 ÷ 40,8	40,1 ÷ 40,9	1778 ÷ 1858	1786 ÷ 1879	[PAR. MHRA. PL 00289/1168]

Примечание: R – оригинальный препарат (Фемара[®]), T – воспроизведенные препараты. Данные представлены в виде «среднее ± SD», а также в виде 95% ДИ (нижняя граница ÷ верхняя граница).

1.1.2 Рисперидон и его активный метаболит 9-ОН-рисперидон

Рисперидон (РИС) – производное бензисоксазола, химическая формула: 3[2-[4-(6-фтор-1,2-бензисоксазол-3-ил) пиперидин-1-ил] этил]-2-метил-6,7,8,9-тетрагидро-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он; брутто-формула: $C_{23}H_{27}FN_4O_2$; молекулярная масса РИС: 410,49 а.е.м., активного метаболита: 426,48 а.е.м. (Рисунок 4).



Слева: рисперидон; справа: его активный метаболит, 9-ОН-рисперидон, представленный в виде энантиомеров.

Рисунок 4 – Структурная формула рисперидона и его активного метаболита

РИС относится к антипсихотическим препаратам (АП), фармакологическое действие которых заключается в редукции позитивной симптоматики шизофрении. Антипсихотический эффект связывают с блокадой центральных дофаминовых D2-рецепторов, которая также связана с экстрапирамидными нарушениями [Клюшник Т. П. и соавт., 2010]. Было показано, что оптимальный антипсихотический ответ ассоциирован с «терапевтическим окном», соответствующим блокировке 60–65% D2-рецепторов, превышение которого до 80% коррелирует с экстрапирамидными побочными явлениями [Butnariu M., 2017].

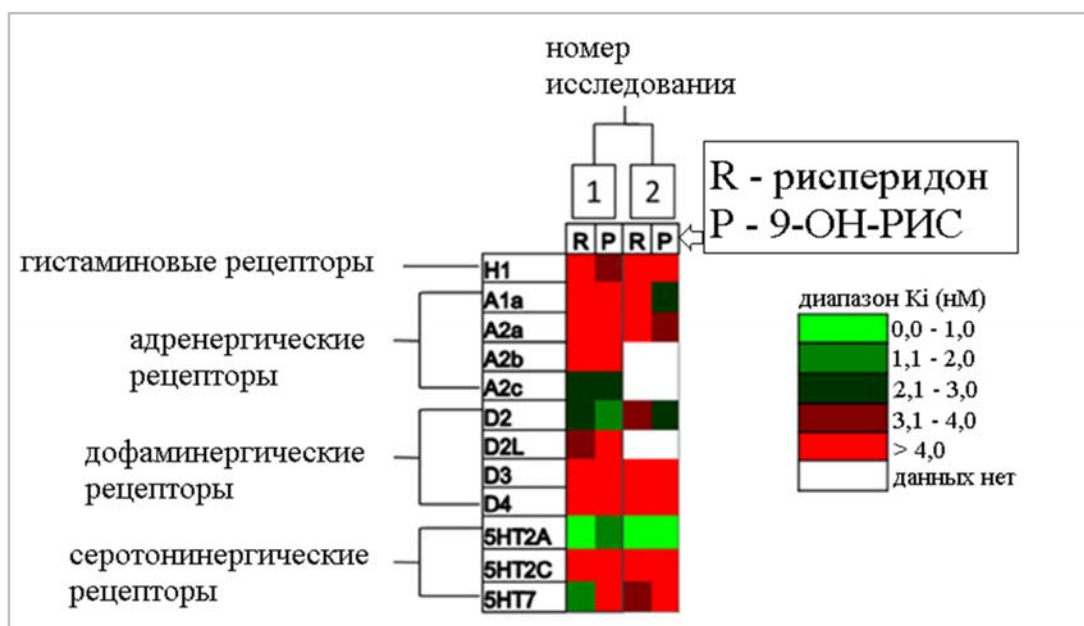
Каждый АП характеризуется индивидуальным профилем рецепторного средства. РИС относится к атипичным АП, которые характеризуются меньшей выраженностью экстрапирамидных расстройств за счет меньшего антагонизма к D2-рецепторам, а также дополнительными свойствами вследствие сродства к серотониновым (5-НТ-) рецепторам. В эксперименте [Butnariu M., 2017] степень связывания РИС с D2-рецепторами базального ганглия составила 59–89 %, а с 5-НТ₂-рецепторами коры головного мозга 78–100%, что обеспечивает оптимальный профиль

антипсихотического действия этого препарата. Как и другие атипичные антипсихотики, РИС блокирует D₂-рецепторы мезолимбического пути, повышая концентрацию дофамина преимущественно в оболочке прилежащего ядра, купируя позитивную психотическую симптоматику. При этом значительного влияния на нигростриарную дофаминергическую систему не происходит, что нивелирует выраженность экстрапирамидных расстройств [Шагиахметов, Ф. Ш., 2014]. В то же время повышение плазменного пролактина при приеме рисперидона подтверждает активность препарата в отношении D₂-рецепторов туберо-инфундибулярного пути, ответственного за формирование нейроэндокринных расстройств [Клюшник Т. П. и соавт., 2010; Andrade C., 2016].

Важным показателем «атипичности» нейрорептика признается отношение рецепторного сродства 5-HT_{2A}/D₂, отражающее степень антагонизма в отношении D₂- и 5-HT_{2A}-рецепторов. Высокая аффинность РИС к 5-HT_{2A}/5-HT_{2C}-рецепторам и, кроме того, к 5-HT₇-рецепторам, по-видимому, опосредует антидефицитарную, анксиолитическую и антидепрессивную активность [Клюшник Т. П. и соавт., 2010; Шагиахметов, Ф. Ш., 2014; Mauri M. C. et al., 2018].

В отношении 5-HT_{1A}-рецепторов, антагонизм к которым связывают со снижением потребления пищи, уровня глюкозы в крови, агрессии и импульсивности, РИС проявляет низкое сродством (всего около 9% от уровня эндогенного лиганда – серотонина). Имеется умеренная активность в отношении α₁- и α₂- адреналиновых рецепторов [Шагиахметов, Ф. Ш., 2014]. Низкое сродство к H₁-гистаминовым рецепторам среди других атипичных АП объясняет меньший седативный потенциал РИС [Leucht S. et al., 2014; Andrade C., 2016].

Активный метаболит рисперидона, 9-гидрокси-рисперидон (9-ОН-РИС) как АП применяется самостоятельно (МНН: палиперидон). Палиперидон аналогичен РИС по фармакологическому эффекту, поэтому в ТЛМ эти вещества часто рассматривают суммарно – как активную антипсихотическую фракцию (АМ) [Бологов П.В. и др., 2010; Viziianakis I. S., 2014]. Тем не менее у РИС и его метаболита имеются и отличия. Отношение 5-HT_{2A}/D₂ у РИС приблизительно в 5–10 раз ниже, чем у его метаболита. Кроме того, у 9-ОН-РИС обнаружено отличное от РИС влияние на экспрессию и фосфорилирование комплекса белков I и V в аксональных пресинаптических митохондриях в префронтальной коре у крыс, сходное с литием и вальпроатом. Данный факт объясняется большей гидрофильностью метаболита из-за присоединения ОН-группы, что позволяет рассматривать его как стабилизатор настроения [Corena-McLeod M., 2015] и определяет важность ТЛМ с моделированием профиля обоих веществ (Рисунок 5).



Примечание: адаптировано из [Corena-McLeod M., 2015].

Рисунок 5 – Профили рецепторного связывания рисперидона и его метаболита

Абсорбция после приема внутрь РИС быстрая: T_{max} составляет около 1 ч при приеме натощак и около 2 ч – при приеме с пищей. После приема 3 мг РИС в форме таблеток его C_{max} составляет 25 ± 15 нг/мл при T_{max} 1 – 1,5 ч, для метаболита C_{max} составляет 23 ± 12 нг/мл при T_{max} 3 ч [Risperdal. Prescribing Information. FDA, electronic resource]. РИС подвергается интенсивному метаболизму при первичном прохождении через печень. Несмотря на полную абсорбцию РИС из-за пресистемного метаболизма его биодоступность составляет около 65–70 % [Locatelli I. et al., 2008; Risperidone. Data Base Drugs.com, electronic resource].

Распределение РИС в организме быстрое: V_d составляет 1–2 л/кг. Связывание РИС с белками плазмы составляет 88% (в основном с альбумином и альфа-1-гликопротеином), а 9-ОН-РИС – 77% [Mauri M.C. et al., 2018; Risperdal. Prescribing Information. FDA, electronic resource]. РИС и его активный метаболит являются субстратами трансмембранного переносчика Р-гликопротеина, индукция активности которого сильно снижает их уровни, как в ЦНС, так и плазме [Holthoewer D. et al., 2010]. Стационарные равновесные концентрации (C_{ss}) достигаются в течение 1 или 5 дней на фоне высокой и низкой скорости биотрансформации, соответственно.

РИС метаболизируется в печени при участии изоферментов CYP2D6 и CYP3A4 (являясь их субстратом и ингибитором) с образованием активного метаболита – 9-гидроксирисперидона (9-ОН-РИС). В моче РИС и 9-ОН-РИС составляют 35–45% от введенной дозы РИС. Остальное количество составляют неактивные метаболиты. 9-ОН-РИС незначительно метаболизируется в печени, около

60% препарата выводится в неизменном виде почками. Участие цитохромов 3A4 и 2D6 в метаболизме 9-ОН-РИС было отмечено лишь в исследованиях *in vitro*, при этом 9-ОН-РИС не влиял на активность этих и других цитохромов, что исключает возможность ФК-взаимодействий [Alamo C., López-Muñoz F., 2013].

Скорость биотрансформации РИС в 9-ОН-РИС определяется полиморфными аллелями гена *cyp2d6* [Shi et al., 2017]. Известен 141 аллельный вариант гена, кодирующего CYP 2D6, 10 из которых особенно важны, так как определяют разделение на ультрабыстрых (UM), обычных (EM), промежуточных (IM) и медленных (PM) метаболизаторов [Bardal S. et al, 2010]. Частотное распределение генотипов различается в разных странах, например, доля ультрабыстрых метаболизаторов в разных странах варьирует от 1 до 10% [Bardal S. et al, 2010]. На активность изофермента CYP2D6 помимо наличия различных изоформ прямо пропорционально влияют возраст ($p < 0,001$) и прием оральных контрацептивов ($p < 0,001$), имеется взаимосвязь с полом ($p = 0,07$) и отсутствует с курением [Sinues B. et al., 2008].

Отношение концентраций РИС/9-ОН-РИС у EM меньше 1, а у PM больше 1, UM характеризуются очень низким отношением РИС/9-ОН-РИС. Однако суммарная концентрация активной антипсихотической фракции (AM) не различается у метаболизаторов разных типов [Vizirianakis I. S., 2014]. Так как РИС и 9-ОН-РИС фармакологически эквипотентны, полиморфизм метаболизирующих генов не должен обладать клинической значимостью. Однако, в 2-х исследованиях в Германии ($n = 500$) и США обнаружено 3-кратное увеличение частоты нежелательных явлений у PM, по сравнению с EM, причем генотипы CYP3A5 и MDR1 не влияли на терапевтический ответ. Поэтому генотипирование PM в ТЛМ рисперидона может прояснить связь генотипа метаболизирующих цитохромов и побочных явлений [Shariff Z. A., 2003; Vizirianakis I. S., 2014].

Элиминация осуществляется преимущественно почками (70%) и с фекалиями (15%). От полученной дозы доля выделенных метаболитов составляет 84%. При высокой и низкой скорости метаболизма $T_{1/2}$ РИС составляет 3 и 21 ч, а для 9-ОН-РИС 20 и 30 ч, соответственно. Клиренс РИС составляет $18,5 \pm 1,7$ л/ч. 9-ОН-РИС в основном выводится с мочой (80%) в неизменном виде (60%), небольшое количество выводится вместе с фекалиями (11%) [Risperdal. Prescribing Information. FDA, electronic resource; Risperidone. Data Base Drugs.com, electronic resource].

Почечное выведение 9-ОН-РИС, по-видимому, осуществляется канальцевой секрецией посредством активного катионного транспорта [Alamo C., López-Muñoz F., 2013].

Считается, что в диапазоне доз 0,5–25 мг ФК рисперидона линейна – уровень в крови растет пропорционально увеличению дозы [Mannens G. et al., 1994]. Однако, большие данные, собранные

в ТЛМ рисперидона, показали нелинейный характер кинетики как самого вещества, так и его активного метаболита, соотношение концентрация/доза снижалось с возрастанием суточных доз препарата от 0,5 до 8 мг [Jönsson A. K. et al, 2019].

Все более широкое применение в психиатрической практике находит терапия с применением 2-х и более АП [Centorrino F. et al., 2004; Langan J., Shajahan P., 2010; Correll C. et al., 2009]. По итогам крупного метаанализа комбинированное назначение АП при шизофрении более эффективно, по сравнению с монотерапией [Correll, C. U. et al, 2009]. Подавляющее большинство этих препаратов являются субстратами, ингибиторами или индукторами изоферментов CYP3A4 и CYP2D6 [The Transformer database: electronic resource]. Поэтому в большинстве клинических случаев необходимо учитывать не только суммарный АП-эффект, но и возможность ФК-взаимодействий.

Начальной минимально эффективной дозой РИС был принят режим 2 мг/сутки, с целевой дозой 4–6 мг/сут и наибольшей – 8,5 мг/сутки [Dold M., Leucht S., 2014], при максимально допустимой дозе 10,5 мг/сутки. Терапевтическим признан диапазон 20–60 нг/мл для C_{ss_min} активной антипсихотической фракции [Risperdal. Prescribing Information. FDA, electronic resource; Risperidone. Data Base Drugs.com, electronic resource].

Как и у других антипсихотиков, у РИС отсутствует четкая корреляция доза–концентрация [Кукес В. Г., 2006], что с учетом большой вариабельности ФД-эффекта, также характерной для АП, служит основанием для лекарственного мониторинга их концентрации.

Для РИС характерны дозозависимые побочные явления: с увеличением дозировок растёт риск экстрапирамидной симптоматики [Шагиахметов, Ф. Ш., 2014] и уровень пролактина крови [Andrade C., 2016].

Сравнение фармакокинетики РИС и 9-ОН-РИС [FDA. CDER. App. Number 21-444, el. Resource, pp. 5 – 6], а также при приеме последнего в качестве отдельного препарата – палиперидона [Alamo C., López-Muñoz F., 2013], приведены в Таблице 3.

Таблица 3 – Сравнение ФК рисперидона и его активного метаболита, а также палиперидона

Параметр ФК	РИС	9-ОН-РИС	Палиперидон
Абсорбция, T _{max} (ч)	2	–	1,5
быстрые метаболиты	1	3	–
медленные метаболиты	1	17	–
Объем распределения, V _d (л)	1–1, 5	–	6,9

Продолжение Таблицы 3

Выведение, T _{1/2} (ч)	2,8	–	24,8
быстрые метаболизаторы	3	21	–
медленные метаболизаторы	20	30	–
Связывание с плазменными протеинами (%)	89	–	74
Биодоступность, F (%)	66-82	–	28

Параметры ФК рисперидона, его метаболита 9-ОН-РИС и активной антипсихотической фракции (АМ) из разных исследований БЭ приведены в Таблице 4.

Таблица 4 – Параметры фармакокинетики рисперидона, 9-ОН-рисперидона и АМ рисперидона из исследований биоэквивалентности

Исследуемая популяция / время последних 3-х ФК заборов (дозировка)	Вещество	Tmax		T _{1/2} (ч ⁻¹)		C _{max} (нг/мл)		AUC _{inf} (нг · ч/мл)		Источник
		R	T	R	T	R	T	R	T	
Жен. и муж., Россия / 12, 24 и 48 ч (4 мг)	РИС	1,00	1,25	7,8±6,9	7,1±3,7	30,5±21,6	30,1±22,3	174±136	188±179	[Писарев В. В. и др., 2013]
Муж. и жен., Корея / 12, 24 и 48 ч. (2 мг)	РИС	1,17±0,39	1,17±0,47	5,0±2,7	4,7±2,3	9,0±4,3	9,4±4,4	59±47	57±44	[Cho H-Y., Lee Y-B, 2006]
	Met	7,46±5,34	6,27±5,08	17,9±5,0	18,2±11,3	5,6±2,5	5,8±2,6	138±32	137±27	
	АМ	1,44±0,77	1,67±1,13	13,0±2,9	12,3±2,5	12,5±4,1	14,0±4,8	187±40	193±53	
Муж. и жен., 20-54 лет, Нидерланды / 24, 36 и 48 ч. (2 мг)	РИС	0,93±0,36	0,92±0,35	2,8±1,3	2,9±1,4	15,3±8,6	14,2±8,6	57±44	54±44	[PAR NL/H/1121/00 1-006/MR, 2010]
Мужчины, Таиланд / 48, 72 и 96 ч. (2 мг)	РИС	0,98±0,32	0,88±0,30	6,0±4,1	6,1±4,4	16,4±6,2	16,0±5,2	105±55	111±64	[Boonleang J. et al., 2010]
	Met	6,36±3,15	5,90±3,51	18,7±4,3	19,0±5,2	11,3±5,2	11,6±5,1	302±133	290±113	
	АМ	2,05±2,20	1,98±2,22	17,1±3,0	18,3±4,4	24,1±5,5	24,7±6,3	412±126	394±110	
Здоровые добровольцы, муж. и жен., Европа / 24, 48 и 72 ч. (2 мг)	РИС	1,0	1,0	–	–	12,2±6,6	12,0±6,6	79±116	76±103	[Cánovas M. et al., 2009]
	Met	4,0	5,0	–	–	10,8±4,7	11,0±4,9	241±67	246±70	
Муж. и жен., Китай / 24, 48 и 96 ч. (2 мг)	РИС	1,02±0,97	1,09±1,14	4,9±3,0	4,7±3,1	14,7±7,0	15,8±7,5	91±70	98±80	[Liu Y. et al., 2013a]
	Met	5,79±3,61	6,24±5,06	21,9±4,5	21,1±4,4	11,3±5,1	11,7±5,2	316±101	333±102	
Здоровые добровольцы, США / (2 таб. по 0,5 мг); № протокола: RIS-USA-125 (n=37)	РИС	1,5	1,0	3,6±2,7	3,5±2,2	9,3±3,9	8,8±3,8	46±38	49±36	[FDA. CDER. App. Number 21-444, el. Resource, pp. 5-6]
	Met	4,0	5,0	24,2±6,2	22,7±4,4	6,8±2,5	6,1±2,4	176±60	167±60	
	АМ	1,5	1,5	23,4±5,4	22,2±3,8	13,7±3,9	12,6±4,1	223±90	215±74	

Примечание: R - оригинальный препарат (Рисполепт®), T- воспроизведенные препараты, Met – активный метаболит, АМ – активная антипсихотическая фракция рисперидона. Данные представлены в виде «среднее ± SD» или в виде медианы (для Tmax)

1.2 Методы количественного определения

1.2.1 Аналитические методы в фармакокинетических исследованиях

Принципы количественного определения какого-либо вещества (аналита) в биологическом материале могут быть основаны на широком спектре физико-химических процессов и соответствующем разнообразии аналитических подходов. Существуют микробиологические, полярографические, радиоизотопные, иммунологические, капиллярно-электрофоретические, потенциометрические и многие другие методы, а также гибридные решения [Siddiqui M. R. et al., 2013].

В настоящее время наиболее широко применяются масс-спектрометрические и иммунохимические методы. Однако влияние компонентов матрицы, перекрестная контаминация, а также необходимость разработки специальных реагентов, затрудняют практическое применение последних [Brandhorst G. et al., 2012].

Масс-спектрометрия (МС) – физико-химический метод анализа, представляющий собой стадийный процесс, заключающийся в переводе молекул образца в ионизированную форму, разделении ионов и последующей регистрации интенсивности полученного ионного пучка [Лебедев А. Т., 2015]. Каждый ион, положительный или отрицательный, идентифицируется по отношению его массы к заряду – m/z [Заикин В. Г. и др., 2001].

В некоторых областях ФК требуются специальные инструментальные решения. Так, в исследовании метаболизма важно установить химические и структурные формулы образующихся метаболитов, для чего необходимо определить точный элементный состав ряда соединений, что становится возможным благодаря масс-спектрометрии высокого (ионные и орбитальные ловушки) или даже сверхвысокого разрешения (приборы ионного циклотронного резонанса) [Zhang Z and Mitra K., 2012; Лебедев А. Т., 2015]. Для определения структурных формул при профилировании метаболизма *in vitro* успешно применяется спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), позволяющая изучать биохимические процессы в динамике [Johnson, K. A. et al., 2012]. Исследования баланса масс и метаболизма у человека стали возможны с помощью ускорительной масс-спектрометрии (AMS), позволяющей выполнять изотопный анализ C^{14} [Wang, X. et al. 2012].

В тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) работают два масс-анализатора, разделенные камерой фрагментации. На первом масс-анализаторе происходит выделение материнского иона, а на втором – разделение и фильтрация выбранных фрагментов для отправки на детектор. Тандемный принцип реализован практически для всех типов масс-анализаторов. Комбинации этого метода с

газовой (ГХ) или жидкостной (ЖХ) хроматографией в настоящее время лидируют в ФК-исследованиях [Чернецова Е. С., Корякова А. С., 2010; Лебедев А. Т., 2015].

Особое место в семействе тандемных масс-спектрометров занимает квадрупольные системы. В трехквадрупольном масс-спектрометре (QQQ) два анализатора и камера соударений представлены квадрупольными. В этих системах тандемным процессом является не только разделение по m/z , но и фрагментация (МС/МС)⁵, что определяет преимущества системы в количественном определении большинства ЛС (Таблица 5).

Таблица 5 – Сравнение различных типов тандемной масс-спектрометрии

Параметр	Тандемная квадрупольная МС	Комбинированная квадруполь-времяпролетная МС	Тандемная времяпролетная МС с лазерной ионизацией MALDI	Ионная ловушка
Селективность	+++	++++	++++	+++
Количественное определение	+++	варьирует	+	++/+
Простота использования	+++	+	++	++
Производительность	+++	как задана	++++	+++
Стоимость	++/+++	+++	+++ /++++	++

Примечание: + низкая, ++ средняя, +++высокая, ++++ очень высокая

Стыковка МС с жидкостным или газовым хроматографом (ЖХ-МС или ГХ-МС) значительно расширило возможности классического метода. Сейчас ЖХ(ГХ)-МС широко применяется в ФК-исследованиях. Сочетание МС и жидкостной хроматографии (ЖХ-МС) стало возможным лишь после изобретения мягких методов ионизации, работающих при атмосферном давлении. Наиболее широко применяемыми из них стали: ионизация электроспреем (ESI), химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI), а также фотоионизация при атмосферном давлении (APPI) [Лаваньини И. и соавт., 2008; Лебедев А. Т., 2015].

Важно отметить, что ЖХ как количественный метод существует только в виде конфигурации высокого давления, тогда как хроматография низкого давления по своей природе является препаративной и предназначена лишь для разделения веществ [Сычев К. С., 2010]. Поэтому, под

⁵ Первая фрагментация (диссоциация, активируемая соударением) происходит в зоне, расположенной между капилляром и конусом – зоне фрагментации (до 1-го масс-анализатора). Вторая фрагментация осуществляется в ячейке соударений.

ЖХ-МС или ЖХ-МС/МС (LC-МС или LC-MS/MS), подразумевается именно хроматография высокого давления – высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

ВЭЖХ-МС, в отличие от ГХ-МС, позволяет анализировать нелетучие, полярные и термонестабильные вещества, являясь более универсальным методом [Лебедев А. Т., 2015; French D., 2016; Snyder P., 1995].

Изучение ФК прежде всего основывается на точном знании его концентрации в тест-ткани, что повышает требования к чувствительности, специфичности и селективности применяемого количественного метода. Кроме того, ФК-исследование обычно связано с большим количеством образцов, поэтому сокращение времени анализа зачастую является решающим критерием при выборе аналитического подхода. Этими характеристиками обладает комбинация ВЭЖХ и тандемной масс-спектрометрии – ВЭЖХ/МС-МС, в настоящее время самый широко используемый метод в ФК-исследованиях [Marzo A. et al., 2016; Kushnir M. M. et al., 2013; Ketha H. et al., 2014; Sistik P. et al., 2016].

Опубликовано огромное количество разных методик ВЭЖХ-МС/МС для измерения концентрации большинства лекарств – противотуберкулезных препаратов [Wang L. et al., 2014], пептидов [Zheng J. et al., 2014], антидепрессантов, бензодиазепинов [Marin S. J. et al., 2012], антиаритмических [Sorensen L. K., 2012], антипсихотических [Zhang A. J. et al., 2007] препаратов и многих других. Методы ВЭЖХ-МС/МС активно внедряются в клинику, например, предложен анализ альтернативных матриц (слюна, слезная жидкость), разработаны неинвазивные методики забора биообразцов [Кондратенко С. Н. и др., 2014] и технологии работы с микрообразцами (высушенные пятна крови) [Ghareeb M., Akhlaghi F., 2015].

Применение ВЭЖХ-МС/МС имеет свои особенности. Широкий калибровочный диапазон этих методов, обычно необходимый для ФК-экспериментов, позволяет избежать разбавления образцов. При этом возможно загрязнение новых образцов предыдущими инъекциями – эффект переноса (carry-over). Большинство препаратов являются основаниями, поэтому лучшим решением может стать промывка водным раствором уксусной кислоты или перхлората, а использование типового раствора метанол: вода 50/50 % вряд ли решит проблему [Vogesser M., Seger C., 2010].

Выбор метода ионизации для количественного анализа в ФК-исследованиях определяется молекулярной массой, полярностью, летучестью, термостойкостью определяемого вещества (аналита), а также сложностью матрицы и типом подвижной фазы (ПФ) [Лаваньини И. и соавт., 2008]. Зачастую выбор осуществляется между такими модулями ионизации как АРСІ и ESI. У каждого из них есть преимущества и недостатки. Так ESI лучше ионизирует полярные, легколетучие и термолабильные или светочувствительные вещества, а АРСІ – термостабильные (<140°C),

неполярные аналиты с небольшой массой (<1300 Да), желателно без присутствия гетероатомов. Кроме того, ESI лучше совместим с обращенной фазой, а APCI позволяет применять и нормальную фазу. У методов APCI и ESI также существуют различия по совместимости с хроматографическими колонками – APCI хорошо сочетается с большими скоростями потока ПФ при большем внутреннем диаметре колонки, соответственно. Также имеются отличия, касающиеся состава ПФ. Например, ESI нуждается в растворителях с меньшим поверхностным натяжением и низкой температурой сольватации [Лаваньини И. и соавт., 2008; Чернецова Е. С., Корякова А. С., 2010].

На выборе метода ионизации сказываются свойства изучаемой матрицы, которые в свою очередь зависят от метода экстракции. Влияние матрицы проявляется в усилении или ослаблении масс-спектрометрического сигнала при выделении аналита из реальной пробы, по сравнению с сигналом при анализе его чистого раствора. Этот эффект называется матричным фактором (МФ) и является своего рода «ахиллесовой пятой» ВЭЖХ-МС/МС в ФК-исследованиях, когда необходим анализ следовых количеств вещества. Очевидно, что выраженность и методы определения матричного эффекта связаны с техниками экстракции. Также известна связь выраженности МФ и уровня рН ПФ. В целом известно, что при применении APCI матричный эффект проявляется в меньшей степени, чем при ESI [Wang L. et al., 2014].

При оптимизации пробоподготовки важно различать собственно матричный фактор и степень экстракции [Ярошенко Д. В., 2014]. Для оценки матричного эффекта готовят разбавления стандартного раствора в обычной матрице и после ее разбавления в 5–10 раз, изменение детекции аналита при этом позволяет выявлять матричный эффект [Larger P. J. et al., 2005].

С развитием биотехнологий все большую популярность приобретает матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (МАЛДИ), позволяющая анализировать термолабильные, труднолетучие и высокомолекулярные ЛС. Несмотря на то, что МАЛДИ можно назвать самым чувствительным методом, зависимость сигнала от сформированной кристаллической структуры образца делает количественный анализ достаточно проблематичным [Dudley E., 2014; Лебедев А. Т., 2015].

Основной задачей пробоподготовки является максимальное извлечение аналита из биологической матрицы. В ФК-исследованиях наиболее распространены следующие методы пробоподготовки: осаждение белков, жидкостная (ЖЭ) и твердофазная экстракция (ТФЭ). В целом говорить о преимуществах какого-либо метода экстракции некорректно, так как выбор метода экстракции тесно сопряжен с методом ионизации. К примеру, осаждение белков оптимально сочетается с APCI (в ВЭЖХ-МС) или ионизацией электронным ударом (в ГХ-МС). ЖЭ лучше экстрагировать менее полярные аналиты, а для полярных соединений необходимо подбирать

растворитель и кислотность pH для достижения изоэлектрической точки и обеспечения возможности перехода молекул аналита в менее полярную среду растворителя. Имеет смысл отметить ситуации, когда более эффективна ТФЭ. ТФЭ нивелирует влияние матрицы, что особенно важно для комбинации этого метода и ESI. В целом ТФЭ оптимизирует временные затраты, снижает расход растворителей, улучшает точность и воспроизводимость метода [Чернецова Е. С., Корякова А. С., 2010].

Внутренний стандарт (ВС) – вещество, заведомо не находящееся в исследуемой матрице, и предназначенное для уменьшения влияния факторов системной вариации метода (потери при обработке пробы, различия в степени экстракции, объема введенной пробы, ионизации, эффекта матрицы и т. п.). Калибровка отношения сигнала аналита к сигналу ВС значительно точнее калибровки по абсолютным значениям отклика сигнала (площади пика) аналита. В масс-спектрометрии наиболее эффективными ВС являются вещества, представляющие собой аналит с внедренными в его молекулу стабильными изотопами C^{13} , N^{15} или H^2 . При этом масса молекулы ВС должна отличаться от массы молекулы аналита не менее, чем на 3 а.е.м., доля дейтерированных атомов должна быть как можно больше, а сами атомы изотопа должны находиться в стабильных положениях. Самыми распространенными являются дейтерированные стандарты. Так как применение стандартов с изотопной меткой существенно удорожает анализ, как ВС можно рассматривать любое вещество, близкое по своим физико-химическим свойствам к измеряемому аналиту, что минимизирует погрешности при пробоподготовке и ионизации. Концентрацию ВС при этом подбирают в диапазоне 30–50% от верхнего предела обнаружения искомого аналита. [Лаваньини И. и соавт., 2008; Schellekens R. C. A. et al., 2011].

1.2.2 Методы количественного определения изучаемых препаратов

Методики ВЭЖХ с УФ-детекцией (ВЭЖХ-УФ) обладают недостаточной чувствительностью для количественного анализа анастрозола в пробах крови [Abubakar M. B. and Gan S. H., 2016]. Например, НПКО в одном из экспериментов с применением ВЭЖХ-УФ составлял 1,053 мкг/мл, что сильно превышает плазменный уровень препарата при приеме внутрь [Kumar D.S. et al., 2011]. Хороший калибровочный диапазон для ФК-экспериментов (0,5–200 нг/мл) был достигнут в комбинации ГХ и детектора электронного захвата [Duan G. et al., 2002]. Применение ВЭЖХ-МС/МС позволяет существенно снизить НПКО. В обзорной статье Abubakar M. B. и Gan S. H. описаны эти методики, а также приведены сведения по подбору ВС [Abubakar M. B. and Gan S. H., 2016].

ВЭЖХ-УФ для количественного определения летрозола также обладает недостаточной чувствительностью для ФК-исследований [Mondal N. et al., 2009]. ВЭЖХ-МС успешно преодолевает такие затруднения, позволяя добиваться количественного определения следовых количеств лекарственных веществ [Мирошниченко И. И., 2011; Niwa M., 2012]. При этом, описанные в литературе ВЭЖХ-МС/МС методы количественного определения летрозола достаточно специфичны: в одной работе используются ВС с изотопной меткой и режим ультравысокого давления для ВЭЖХ [Precht J. C. et al., 2012], в другой режим фото-ионизации [Trösken E. R. et al., 2006], что затрудняет их адаптацию и воспроизведение.

Для количественного определения рисперидона зачастую применяют метод ВЭЖХ-УФ [Khorana N. et al., 2011; Torres P. et al., 2011]. Сочетание ВЭЖХ с электрохимической детекцией [Locatelli L. et al., 2009] обладает более высокой чувствительностью, но требует особых условий пробоподготовки, большего времени анализа и объема биоматериала. Успешно применяются различные методики ВЭЖХ-МС [Писарев В. В. и др., 2013; Roman M. et al. 2008; Liu Y. et al., 2013a]. С учетом наличия фармакологической активности метаболита необходимо располагать количественной методикой определения обоих веществ. Принимая во внимание распространенность политерапии антипсихотиками [Centorrino F. et al., 2004; Langan J., Shajahan P., 2010; Correll C. et al., 2009], а также актуальность мониторинга их концентрации у пациентов, оптимальным решением должен быть метод одновременного количественного определения нескольких АП, составляющих наиболее распространенные терапевтические схемы.

1.3 Фармакокинетический анализ

Материал данного раздела опубликован в обзоре «Популяционный фармакокинетический анализ в программе Lixoft Monolix» [Платова А. И., 2021].

1.3.1 Популяционная фармакокинетика

Целью фармакотерапии является достижение целевого терапевтического эффекта при минимизации нежелательных явлений. Влияние ЛС на организм, изучаемое фармакодинамикой (ФД), обычно осуществляется через взаимодействие с рецепторами и определяется уровнем концентрации ЛС в целевой ткани. Другими словами, для достижения и контроля терапевтического эффекта необходимо поддержание определенного уровня экспозиции препарата в этой ткани. В то же время лекарство подвергается воздействию и со стороны организма – процессам абсорбции, распределения, метаболизма и выведения (экскреции), что составляет предмет изучения

фармакокинетики (ФК). Оценить динамику этих процессов можно лишь косвенно, моделируя динамику концентрации препарата в тест-ткани (играет роль выхода системы)⁶.

Как и любая научная дисциплина ФК сначала накапливает информацию, проходя путь от частного к общему, а затем применяет выявленные закономерности, двигаясь от общего к частному. Пример первого метода – получение на основе измеренных концентраций типовых ФК-характеристик, приводимых в инструкциях по медицинскому применению препарата. Второй, дедуктивный метод, решает обратную задачу: моделирование концентрации препарата у конкретного пациента с учётом его индивидуальных особенностей, что позволяет прогнозировать терапевтический ответ. Такой персонализированный подход к лечению не может быть осуществлен без методологии популяционной фармакокинетики (ПФК) [Дедов И. И. и др., 2012].

В статистике под популяцией понимают генеральную совокупность пациентов, все свойства которой должны быть отражены в выборке – если последняя репрезентативна. Как объект изучения ФК популяция может быть представлена группой пациентов или здоровых добровольцев, причём быть как однородной, так и разнородной по набору и разбросу индивидуальных характеристик [Guideline on reporting, EMA, 2007].

ПФК как научная дисциплина изучает: 1) взаимосвязи ФК-параметров с индивидуальными (демографическими, патофизиологическими, терапевтическими) характеристиками – ковариатами; 2) влияние последних на межиндивидуальную вариацию ФК-параметров; 3) остаточную (необъяснимую часть) вариации ФК-параметров [Sheiner L.B., 1984; Guidance for Industry, FDA, 1999]. Другими словами, ПФК акцентирует внимание на той части вариации параметров фармакокинетики, которая связана с ковариатами, рассматриваемых в качестве предикторов [Guideline on reporting, EMA, 2007]. ПФК наряду с ТЛМ [Терапевтический лекарственный мониторинг: инструмент персонализированной медицины, под ред. Кукеса В. Г., Берри Д., 2013] является одним из основных инструментов персонализированной медицины [Long-Boyle J. R. et al., 2015].

Вопросы ПФК рассматриваются в русскоязычных [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Каркищенко Н. Н. и др., 2001; Мирошниченко И. И., 2011] и иностранных [Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014] источниках. В настоящее время методические рекомендации по изучению популяционной ФК включены в рекомендательные базы США [Guidance for Industry, FDA, 1999] и Евросоюза

⁶ Используемые в ФК формулы (модели) – это выраженные в математической форме представления о реально протекающих процессах, отражающих функционирование системы «организм → лекарство».

[Guideline on reporting, EMA, 2007]. Очевидна необходимость создания соответствующих руководств в России.

ПФК-исследования изучают распределение и межиндивидуальную вариацию кинетических параметров, влияние на них индивидуальных предикторов, изменение кинетики во времени (например, при многократном приёме), а также направлены на обнаружение субпопуляций пациентов с отклоняющимися ФК-параметрами [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Heeremans E. H. et al., 2010]. При этом ПФК-исследования в основном проводятся в двух случаях. Первый – когда для выхода на рынок (регистрации) нового препарата необходимо изучить его ФК у особых групп пациентов (с нарушением почечной и/или печёночной функции). Второй случай составляют разрозненные постмаркетинговые наблюдательные исследования, зачастую проводимые в одном центре [Watanabe-Uchida M et al, 2019].

Изучение ПФК ограничивается не только со стороны финансов, но и применяемыми математическими подходами. Для выявления влияния какого-либо фактора на кинетику препарата у пациентов, у которых одновременно и в различных комбинациях присутствуют и другие потенциальные предикторы, необходимо, в первую очередь, учесть смешанный характер воздействия всех этих факторов. Применение устоявшихся (фреквентивистских) математических подходов для решения подобной задачи является ошибкой, а полученные при этом результаты не отражают реальное состояние изучаемого явления. Развитие компьютерных технологий способствовало активному внедрению методов ММП в сферу биомедицинских исследований, открывая новые возможности в изучении ПФК-закономерностей. Так, реализация методов нелинейного моделирования смешанных эффектов (NLMEM), улучшенных алгоритмом SAEM⁷ и байесовским функционалом, в программе Monolix, позволяет даже в малых и ненормированных выборках выявлять зависимость фармакокинетики от индивидуальных характеристик [Lavielle M., Mentre F., 2007; Beal S.L., Sheiner L.B., 1992].

Оценка ФК-параметра, как и любой случайной величины, означает нахождение характеристик её распределения. Экспериментальные методы оценки популяционных ФК-

⁷ SAEM – метод максимизации математического ожидания (EM-метод) со стохастической аппроксимацией (от англ. «stochastic approximation expectation maximization»), применяющийся для реализации ММП. EM-метод (алгоритм максимизации ожидания) – итерационный масштабируемый алгоритм для нахождения максимума функции правдоподобия для параметров вероятностных моделей при решении задач со скрытыми переменными, EM-метод помогает разделять смеси нормальных распределений. При этом ФК-параметры можно оценивать без линеаризации данных. SAEM дополнительно улучшает сходимость даже при постоянном и небольшом объёме симуляции, а также использует информацию из всех данных на всех предшествующих итерациях.

параметров можно разделить на три подхода: традиционный, стандартный 2-этапный и NLMEM (Рисунок 6).

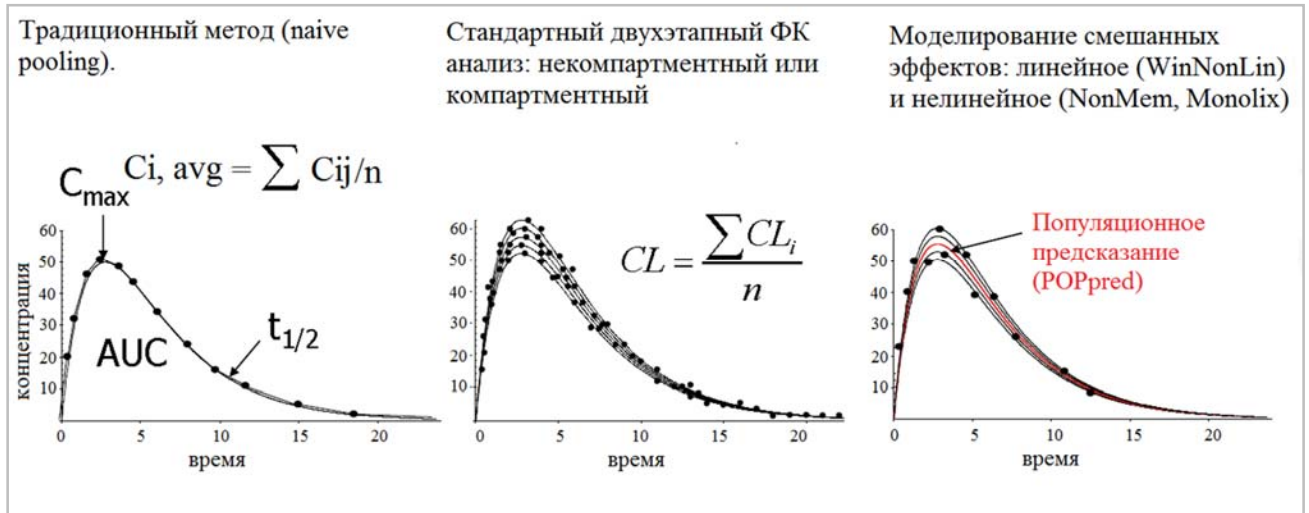


Рисунок 6 – Методы оценки популяционных ФК-параметров

Традиционный метод объединения данных в единый пул (naive pooling). Вычисляются средние величины концентраций образцов, забранных у разных индивидов в одно и то же время после приема препарата, по этим значениям строится одна эмпирическая кривая, ФК-параметры которой признают усреднёнными оценками для всей выборки. Этот подход часто применяется в доклинических исследованиях, когда у каждого животного возможен забор только одной пробы крови. Метод не позволяет оценить индивидуальные ФК-параметры и характеристики их распределения [Сергиенко, В. И. и соавт., 2003], а практикуемые для этого методы ресемплинга [Мирошниченко, И. И. и др., 2020a] недостаточно эффективны.

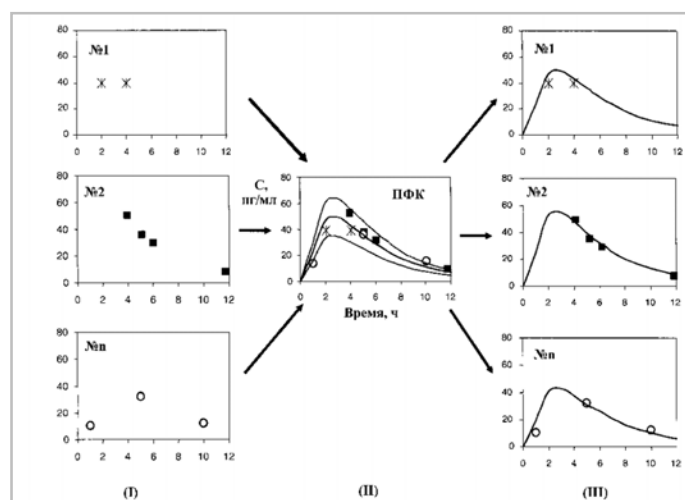
Стандартный двухэтапный – самый распространённый в ФК-исследованиях метод, дающий на 1-м этапе точные оценки индивидуальных параметров кинетики, для чего необходимо располагать полным профилем «концентрация-время» для каждого индивида. На 2-м этапе для этих параметров оценивают выборочные характеристики распределения, которые затем экстраполируются на генеральную совокупность (популяцию в целом). Для применения этого подхода в каждом индивидуальном ФК-профиле должно быть достаточно ФК-заборов. Например, при пероральном приёме препарата для НКА необходимо как минимум 3 забора тест-ткани в фазе абсорбции, ещё 3 около времени достижения C_{max} и 5 заборов в фазе элиминации [Холодов Л. Е., Яковлев В. П., 1985]. В камерном анализе для идентификации M параметров модели необходимо не менее M измерений уровня препарата у каждого индивида [Moon Y. J. et al., 2008; Сергиенко, В. И.

и соавт., 2003]. Стандартный двухэтапный метод не реализуем для данных лекарственного мониторинга. В отличие от NLMEM, основанном на ММП, характеристики распределения в стандартном 2-хэтапном методе находят более простым и менее точным методом моментов.

Нелинейное моделирование смешанных эффектов (факторов). Модели могут быть с фиксированными эффектами, со случайными эффектами и со смешанными эффектами. Они также могут быть линейными и нелинейными, и, конечно, все эти типы встречаются в разных комбинациях. Модели со смешанными эффектами имеют преимущества перед другими типами. Так как зависимость концентрации от времени или ФК-параметров имеет нелинейную природу, оценивать её можно, или после линеаризации, или применяя нелинейное моделирование. Поэтому, несмотря на то что в изучении структуры межиндивидуальной вариации могут применяться разные математические методы, в последнее время под ПФК-анализом понимают комплекс приёмов, основанных на NLMEM [Guideline on reporting, ЕМА, 2007].

Модели смешанных эффектов включают фиксированные и случайные факторы. В ПФК-анализе фиксированными факторами являются ФК-параметры, например объем распределения или клиренс, а их центральные тенденции – это популяционные средние (Θ). Кроме того, фиксированные факторы содержатся в структуре регрессионной модели в виде ковариат, например: $V = \Theta_1 + \Theta_2 * \text{ИМТ}$, где Θ_1 – среднее той части величины объема распределения (V), которая не связана с ИМТ, а Θ_2 – среднее коэффициента пропорциональности той доли величины V , которая пропорциональна ИМТ. В ПФК-моделях под случайными факторами понимают компоненты модели, отражающие необъясненную часть вариации параметров (индивидуальные оценки η и их дисперсии ω^2), а также ошибку модельных предсказаний (индивидуальные остаточные ошибки ϵ и их дисперсия σ^2). Оценки фиксированных и случайных факторов получают, находя максимум функции правдоподобия, при этом также может применяться байесовский функционал [Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014; Сергиенко В. И. и соавт., 2003].

NLMEM позволяет уйти от ограничения, связанного с наличием M измерений для идентификации M параметров модели. В этом случае для полноценного ПФК-анализа достаточно небольшого количества биообразцов, взятых у одного индивида. В общий пул собираются данные профилей «концентрация–время» от разных индивидов (обычно 2–4 ФК-забора), после чего выполняется построение модели, параметры которой отражают популяционные оценки. С учётом последних методы Монте-Карло с цепями Маркова (МСМС) позволяют оценить индивидуальные параметры кинетики, с максимальной вероятностью соответствующие измеренным концентрациям (Рисунок 7).



- (I) - получение разрозненных данных по концентрации;
 (II) – построение или уточнение ФК-модели для максимального соответствия измеренным концентрациям;
 (III) – моделирование индивидуальных ФК-кривых и расчет соответствующих индивидуальных ФК-параметров.

Рисунок 7 – Этапы популяционного фармакокинетического моделирования, источник: [Мирошниченко И. И., 2011]

При оценке вклада, вносимого различными ковариатами в структуру внутри- и/или межиндивидуальной вариации, среди последних выявляют значимые предикторы. При их дальнейшем включении в структуру модели такие случайные факторы становятся фиксированными, создается более сложная иерархическая модель, дающая более точные индивидуальные предсказания. При экстраполяции модели на новые данные выполняется её валидация или дальнейшая доработка [Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014].

В отличие от методов линейного моделирования NLMEM позволяет работать с зависимостями нелинейного характера, демонстрирует ряд других преимуществ, принципиально важных для ФК-исследований [Vonesh E. F., Carter R. L., 1992; Bauer R. J. et al., 2007] (Таблица 6).

Таблица 6 – Сравнение традиционного и популяционного фармакокинетического анализа

Традиционный ФК-анализ (линейные модели фиксированных эффектов)	Популяционный ФК-анализ, основанный на нелинейных моделях смешанных эффектов
Традиционные статистические тесты, основанные на точечных и интервальных оценках, например: критерии Стьюдента, Пирсона, Спирмена, ANOVA, ANCOVA	Статистики, основанные на ММП, например: критерии LRT, Вальда. Возможно включение байесовского функционала

Продолжение Таблицы 6

Достаточное (большое) число фармакокинетических заборов (более 10) у одного индивида	Ненормированное время и малое число образцов (достаточно 2–4)
Часто небольшие исследования в группах, однородных по всем факторам, не подлежащим тестированию	Исследования с несбалансированными выборками или объединённый пул данных нескольких исследований
Заранее спланированное сравнение групп по определённым (фиксированным) факторам, количество факторов ограничено	Возможно выявление действия случайного фактора и последующее включение его в модель. Количество возможных предикторов не ограничивается
Результаты экстраполируются на генеральную совокупность, хотя данные получены на выборке, однородной по не интересующим исследователя предикторам	Нет критериев отбора по действующим факторам, поэтому экстраполяция на генеральную совокупность более правомерна
НКА является рекомендованным стандартом	Данные формализуются моделью без НКА
Всегда проспективное исследование с жёсткими критериями отбора, зачастую требующее предварительного одобрения регуляторными органами	Исследование может быть наблюдательным и ретроспективным. Максимально широкие критерии отбора, соответствующие реальной практике (разнородная популяция пациентов)
Софт: WinNonlin, Kinetica и др.	Софт: R-statistics, NONMEM, Lixot Monolix

Выявление ФК-предикторов является основной задачей ПФК. Ее можно решать разными методами. Например, можно сравнить распределения ФК-параметров на предмет различий в связи с причинным фактором – при условии, что сравниваемые группы однородны по всем другим возможным предикторам. В этом случае достаточно стандартного 2-этапного метода, а сравнение можно выполнить типовыми статистическими тестами. Если же данные собраны в наблюдательном исследовании или в ТЛМ, т. е. не нормированной по потенциальным предикторам выборке, оценить их влияние на ФК возможно только путём NLMEM. При этом отсутствует необходимость в стандартизации времени пробоотбора, а для выполнения полноценного анализа достаточно забора 1–3 проб у одного индивида.

С помощью NLMEM появляются возможности изучения совместного влияния на ФК различных внутренних (антропометрические, физиологические, биохимические факторы, сопутствующая патология) и внешних (курение, социальные факторы, комедикация) факторов. Современные методы ПФК-анализа предоставляют возможность изучения кинетики препарата в разных дозировках, разных режимах дозирования в несбалансированных клинических исследованиях [Joerger M., 2012].

Как и в любом моделировании (предсказании изучаемого явления), выявление статистически достоверной корреляции предиктора и ФК-параметра в одной популяции ещё не гарантирует её подтверждение в более обширной популяции. ПФК-моделирование – это этапный процесс, который начинается с разработки популяционной модели на основе имеющихся, в том числе, литературных данных, и продолжается в виде последующей отладки модели при поступлении новой информации. При этом основная ценность любого моделирования заключается не столько в максимальном приближении к фактическим данным, сколько в практической актуальности модели [Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014].

1.3.2 Программное обеспечение для популяционного моделирования

ПФК исторически применяла разные инструменты для изучения зависимости кинетики препарата от индивидуальных характеристик. Довольно длительное время для выявления различий в ФК между популяциями здоровых добровольцев и пациентов с почечной и/или печёночной недостаточностью использовался стандартный 2-этапный метод (в исследованиях 1-й фазы).

ПФК-анализ может быть основан на параметрических и непараметрических методах. И те, и другие, успешно сочетаются с байесовским функционалом, а также методами максимального правдоподобия. В таблице 7 приведены основные методы ПФК-анализа и программы, в которых они реализованы.

Таблица 7 – Математические алгоритмы, применяющиеся для ФК-анализа

Метод	Описание и программное обеспечение
Традиционный стандартный двухэтапный метод	1-й этап: с использованием полного профиля «концентрация-время» для каждого индивида рассчитываются ФК-параметры. 2-й этап: получают средние выборочные оценки, которые затем экстраполируют на генеральную совокупность (например, в исследованиях БЭ). Софт: Резольвента, WinNonlin, Kinetica [WinNonlin® User's Guide, CD-ROM]
Глобальный двухэтапный метод	Кроме приемов стандартного 2-этапного метода дополнительно проводится учет ковариации ФК-параметров, что улучшает точность ФК-модели [Clifford A. J., Müller H-G., 1998]
Итеративный 2-этапный метод (IT2S)	Кроме приемов стандартного 2-этапного метода дополнительно тестируется влияние факторов, ММП с итеративным подходом. Софт: WinNonlin [Frommer A., Szyld D. B., 1992]

Продолжение Таблицы 7

Линейное моделирование смешанных эффектов	Использует методы ММП и нелинейное моделирование. Софт: WinNonlin [WinNonlin® User's Guide, CD-ROM]
MAP (от англ. «maximum a posteriori») - метод оценки с помощью апостериорного максимума	ММП с байесовским функционалом реализуется итеративным механизмом. Софт: USC*PACK, NONMEM [Beal, S. L., NONMEM Users Guides, CD-ROM; Tatarinova T. et al., 2013]
Непараметрический метод максимального правдоподобия (NPLM)	ММП строит дискретную совместную плотность распределения параметров, например, 3-мерное пространство распределения Kel, Cl и V позволяет визуально выделять субпопуляции пациентов. Софт: модуль NPEM в USC*PACK, полунепараметрическая процедура «NLMIX» в SAS [Jelliffe R. W., Schumitzky A., 1990; Tatarinova T et al., 2013]
NLMEM	Оценка ФК-параметров проводится ММП, основанного на алгоритмах FOCE8 или SAEM. Учитывается автокорреляция между ФК-параметрами, возможно выявлять потенциальные предикторы, влияющие на ФК-параметры, сочетается с байесовским функционалом, MCMC. При этом используется аппроксимация нормального распределения ФК-параметров. Софт: NONMEM, Monolix, процедура «NLME» в S-PLUS, процедура «NLINMIX» в SAS [Vonesh E. F., Carter R. L., 1992; Bauer R. J. et al., 2007; Lavielle M., Mentre F., 2007]

Компьютерная реализация линейного, а затем и нелинейного моделирования смешанных факторов открыла возможности более эффективного решения задач ПФК, которая прошла путь от элементарного тестирования гипотез до NLMEM с реализацией методов максимального правдоподобия (ММП). В настоящее время оптимальным алгоритмом, применяющим ММП в исследованиях ФК, можно назвать SAEM. Этот EM-метод⁹, расширенный стохастической процедурой, позволяет улучшать сходимость даже при постоянном и небольшом объеме симуляции, а также использует всю информацию, полученную в предыдущих итерациях. Изначально разработанный для программы Lixoft Monolix, этот алгоритм сейчас реализован в программах

⁸ FOCE - метод проверки условия первого порядка (от англ. «first order conditional estimation»), выполняет линейризацию первого порядка функции регрессии по отношению к случайным эффектам (в нелинейных моделях смешанных эффектов).

⁹ Алгоритм EM (алгоритм максимизации ожидания) – итерационный масштабируемый алгоритм нахождения максимума функции правдоподобия параметров вероятностных моделей при решении задач со скрытыми переменными, использует методы максимального правдоподобия и помогает разделять смеси нормальных распределений. При этом для оценки ФК-параметров нет необходимости в линейризации данных.

NONMEM, R-statistics (пакет saemix) и Matlab (как функция nlmefitsa.m). Хотя, в ПФК-исследованиях «золотым стандартом» по-прежнему остаётся программа NONMEM, в настоящее время Monolix уступает лишь её версии 7.0 в части реализации непараметрических методов [Beal S. L., Sheiner L. B., 1992; Lavielle M., Mentre F., 2007; Savic R. M. et al., 2011; Urien C. et al., 2013].

1.3.3 Камерный и некамерный фармакокинетический анализ

Существует два метода расчета ФК-параметров: камерный (также называемый частевым или компартментным) и некамерный (нечастевой, некомпартментный, модель-независимый, НКА). В компартментном подходе систему «организм/лекарство» рассматривают как совокупность камер, между которыми и внутри которых происходят процессы распределения, превращения и выведения ЛС. Некамерный анализ рассматривает ФК-профиль как зависимость плотности распределения молекул лекарства от времени их пребывания в анализируемой ткани и применяет для его анализа метод статистических моментов нулевого (AUC), первого (MRT, среднее время удержания ЛС в организме) и второго порядков (VRT, дисперсия среднего времени удержания) [Горьков В. А., Карамышева Е. И., 2004].

В основе камерного и некамерного методов лежат разные вычислительные подходы.

В камерном анализе параметры модели рассчитываются исходно, исходя из формулы модели. В камерном подходе функция $C(t)$ может описываться разными формулами (моделями) в зависимости от кинетики препарата. Например, для 1-камерной кинетики при внесосудистом введении параметрами модели являются константы элиминации (K_{el}) и абсорбции (K_a), а также кажущийся объем распределения (V_d) и клиренс (Cl).

В НКА функция $C(t)$ предполагается неизвестной, и для эмпирического расчета параметров кинетики необходимо наличие ее полного профиля. При этом по фактическим данным «концентрация–время» сначала находят параметры AUC_t , T_{max} , C_{max} и λ_z , далее находят AUC_{inf} как производную величину от AUC_t и λ_z , и затем рассчитываются остальные параметры V_z/F , Cl_z/F и $T_{1/2}$ с использованием λ_z , AUC_{inf} и дозы [Соловьев В. Н. и др., 1980; WinNonlin[®] User's Guide, CD-ROM].

Сопоставление методов расчета ФК-параметров при НКА и камерном подходе (на примере 1-камерной модели) приведено в Таблице 8, составленной с помощью базовых руководств [Gibaldi M., Perrier D., 1982; Gabrielsson, J., Weiner D., 2000; Rosenbaum S., 2011].

Таблица 8 – Сравнение методов расчета параметров фармакокинетики в некамерном и камерном подходе

Параметр	НКА	Камерный подход (на примере 1-камерной модели)
Первичные ФК-параметры*	AUCt, λz, Tmax и Cmax, AUMCt, эмпирическая функция C(t)	Ka, Kel, Vd – по заданной частевой модели формуле C(t)
Вторичные ФК-параметры*	AUCinf, AUMCinf, Cl, Vz, MRT, T _{1/2}	AUC, AUM, Cl, T _{1/2} , Tmax, Cmax, MRT
AUCt	Трапецеидальный метод: $AUCt = \sum(t_i - t_{i-1}) * \frac{(C_i + C_{i-1})}{2}$	По формуле модели: $AUCt = \int_0^t C(t)dt$
C(t)	Задается фактическим измерением	Задается как формула частевой модели: $C(t) = \frac{Dose * F}{Vd} * \frac{Ka}{Ka - Kel} * exp^{-Kel * t}$
Ka	Не рассчитывается	Графический метод (метод остатков), МНК или ММП
Константа элиминации	λz рассчитывается МНК для лог-линейной регрессии	Kel определяют графическим методом (метод остатков), МНК или ММП
Cmax	Эмпирически	$Cmax = \left(\frac{F * D}{Vd}\right) * exp^{-Kel * Tmax}$
Tmax	Эмпирически	$Tmax = \frac{\ln(Ka/Kel)}{Ka - Kel}$
AUCinf	AUCt + C _{last} /λz	По формуле модели: $AUCinf = \int_0^{\infty} C(t)dt$
AUMCt	Вычисляется по правилу трапеций	По формуле модели: $AUMCt = \int_0^t tC(t)dt$
Кажущийся объем распределения	$Vz = \frac{Dose * F}{AUCinf * \lambda z}$	$Vd = \frac{D * F}{AUCinf * Kel}$
Cl	$Cl = \frac{Dose * F}{AUCinf}$	Cl = Vd · Kel
T _{1/2}	$T_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\lambda z}$	$T_{1/2} = \frac{\ln(2)}{Kel}$
MRTinf	$MRTinf = \frac{AUMCinf}{AUCinf} = \frac{AUMCt * \frac{Tlast * Clast}{\lambda z} + \frac{Clast}{\lambda z^2}}{AUCinf}$	$MRTinf = \frac{AUMCinf}{AUCinf} - \frac{1}{Ka} = \frac{\int_0^{+\infty} tC(t)dt}{\int_0^{+\infty} C(t)dt} - \frac{1}{Ka}$

Примечания: * – первичные ФК-параметры, лежащие в основе расчёта остальных параметров; D – доза; F – величина биодоступности при приёме внутрь; МНК – метод наименьших квадратов; ММП – метод максимального правдоподобия; MRTinf – среднее резидентное время, экстраполированное до бесконечности; AUMCinf и AUMCt – площади под кривой, формируемой временем и величиной произведения времени и концентрации, т. е. первый момент интеграла кривой «концентрация-время», экстраполированной до бесконечности (AUMCinf), или рассчитанный для интервала времени 0–t (AUMCt); C_t – последняя измеренная ненулевая концентрация; T_{last} – время измерения последней ненулевой концентрации.

В некамерном анализе расчет AUCt и AUMCt применяется трапецеидальный метод (линейный или логарифмический), а для расчёта терминальной константы элиминации (λz) –

регрессионный анализ. Последний выполняется для участка ФК- профиля, соответствующего финальному моноэкспоненциальному снижению концентрации [24]. Основываясь на трапецидальном методе, НКА нуждается в наличии полных профилей «концентрация–время». Этот метод ФК-анализа в настоящее время остаётся основополагающим при проведении доклинических и клинических исследований ЛС, что закреплено в международных и отечественных методических рекомендациях. В частности, при проведении исследований БЭ и 1 фазы необходимо применение именно НКА. Это обстоятельство во многом объясняется простотой лежащих в его основе математических методов. НКА основан на допущении линейности кинетических процессов, их независимости от времени, а также предположении, что элиминация препарата происходит только из центральной камеры, что для многих препаратов является сильным упрощением [Сергиенко В. И. и соавт., 2003].

Камерный анализ. ФК-процессы так или иначе не могут быть непосредственно изучены в организме человека. Поэтому, для представления о количестве и концентрациях ЛС в разных органах и тканях организма, так или иначе, необходима модель. Фармакокинетическая модель – это система дифференциальных уравнений, с помощью которых можно *предсказать* концентрацию ЛС в ткани в различные моменты времени. Камерный анализ всегда руководствуется выбранной моделью (и лежащей в её основе формулой), которая описывает процессы абсорбции, метаболизма, распределения между камерами и выведения ЛС [Davda J. P. et al., 2014]. В этом случае выполняется подгонка (фиттинг) выбранной модельной зависимости для максимального приближения к фактическим профилям «концентрация – время». Этот процесс обычно осуществляется с применением итеративного алгоритма. Правдоподобие и точность полученных оценок ФК-параметров зависят от выбранной структурной модели. Очевидно, что чем ближе предсказанные и измеренные концентрации, тем выше качество модели. Задача выбора ФК-модели, наиболее точно описывающей кинетику препарата, максимально эффективно решается с помощью NLMEM.

Камерный анализ в WinNonlin реализован на основе МНК с применением метода Гаусса-Ньютона в модификации Левенберга, существенный недостаток которого заключается в невозможности выбора между различными моделями [Bonate P. L., Howard D. R., 2004]. Например, для перорального введения предусмотрено большое число разных моделей: 1-камерная с константой абсорбции 0-го порядка и константой элиминации 1-го порядка, 1-камерная с константой абсорбции 1-го порядка и элиминацией, подчиняющейся закону Михаэлиса–Ментен, кроме того, существуют различные варианты 2-камерных или 3- камерных моделей. Раньше единственным инструментом,

позволяющим в той или иной мере адекватно судить о типе процессов абсорбции и элиминации препарата в организме, была визуализация графиков «концентрация–время» в полулогарифмических координатах, что весьма ограничивало возможности исследователей.

Некамерный анализ освобождает от необходимости конкретизации компарментов модели, что отражает его преимущества и сферу применения: доклинические исследования, 1 фаза клинической разработки, когда нет исходных данных по фармакокинетике у человека, а также исследования БЭ, когда выбор модели не должен повлиять на результаты.

Камерный анализ имеет преимущества в ПФК, в изучении массового баланса, при моделировании кинетики при подборе режима дозирования, в исследованиях метаболизма, а также при нелинейности кинетики лекарства. Ранее камерный анализ, как и некамерный, требовал наличия полного ФК-профиля, так как проводился с помощью МНК. В настоящее время такой необходимости нет благодаря компьютеризации трудоемких расчетов, свойственных ММП.

Следует отметить, что, существует сопоставимость параметров, оцениваемых некамерным и камерным методами, например величина λz в НКА в камерной интерпретации соответствует K_{el} (константе элиминации для 1-камерной модели) и гибридной константе β , отражающей терминальную фазу элиминации для 2-камерной модели. Величины V_z и Cl_z из НКА отражают кажущийся объем распределения в центральной камере (V_1) и клиренс (Cl) в камерном анализе, независимо от числа компарментов [Gabrielsson, J., Weiner D., 2000; 2012]. Вместе с тем, из-за различий в методологии расчета этих параметров в некамерном и камерном анализе полученные оценки могут существенно сильно отличаться.

Можно заключить, что оба подхода являются взаимодополняющими. Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Так, при неизвестном характере ФК, например, в исследованиях 1-й фазы, чтобы исключить какие-либо предположения об описывающей её модели, целесообразно использовать НКА. А для дальнейшего изучения кинетики ЛС в организме целесообразнее использовать камерный анализ. Таким образом, преимущества НКА заключаются в недостатках камерного подхода, и наоборот [Gabrielsson J., Weiner D., 2000].

1.3.4 Влияние индивидуальных характеристик на фармакокинетику

Вариация ФК-параметров между пациентами во многом объясняется различием комплекса их индивидуальных характеристик (ковариат). Эти потенциальные предикторы часто являются многокомпонентными и коллинеарными. Любой потенциально влияющий на ФК фактор можно рассматривать как иерархическую систему многих механизмов, опосредующих это влияние, причем

часто взаимосвязанных. Часто один фактор по-разному воздействует на разные параметры кинетики, оказывая противоположное действие на уровень концентрации препарата.

Пол вносит существенный вклад в межиндивидуальную вариабельность кинетики, причем колебание уровня половых стероидов у женщин оказывает влияние и на интраиндивидуальном уровне. Сводное представление о влиянии пола на ФК и опосредующих это влияние механизмах приводится в Таблице 9 [Soldin O. P. and Mattison D. R., 2009; Gandhi M. et al, 2004; Fadiran E. O. and Zhang L., 2015]:

Таблица 9 – Женский пол как фактор, влияющий на фармакокинетику

ФК-процесс	Механизмы влияния женского пола на кинетические процессы и их взаимосвязь с индивидуальными характеристиками
Абсорбция (A)*	<ul style="list-style-type: none"> - Более высокий pH желудка pH = 2,59 (у мужчин средний pH = 1,92) более низкая секреция желудочного сока ($\downarrow A$); - Более длительный транзит в ЖКТ; - Более высокий объем минутной вентиляции легких и более низкий дыхательный объем;
Метаболизм (M)	<ul style="list-style-type: none"> - Различия в интестинальном метаболизме опосредованном цитохромами и интестинальной активности P-гр (более низкая экспрессия Pгр в энтероцитах); - Ниже сердечный выброс ($\downarrow A$); - Более низкая площадь поверхности тела ($\downarrow A$); - Меньше толщина дермы (\uparrow трансдермальная абсорбция); - Ниже кишечная моторика ($\downarrow A$); - Ниже скорость опорожнения желудка (\downarrow кислотный гидролиз, $\downarrow A$).
Распределение (D)	<ul style="list-style-type: none"> - Более низкие масса, площадь поверхности тела и ИМТ; - Большая доля жировой (около 25 % против 16 % у мужчин) ткани ($\uparrow V$ жирорастворимых ЛС) и меньшая доля мышечной ткани ($\uparrow Vd$ для липофильных и $\downarrow Vd$ для гидрофильных ЛС); - Меньший объем внутри- и межклеточной жидкости, а также общего содержания воды в организме ($\uparrow Conc$ и $\downarrow V$); - Ниже органый кровоток и меньше объем плазмы ($\uparrow Conc$, $\downarrow V$); - Ниже уровень $\alpha 1$-гликопротеина (его экспрессия зависит от половых стероидов) что увеличивает несвязанную фракцию ряда препаратов; - Меньший размер внутренних органов; - Гормональная флюктуация во время менструального цикла воздействует на мочевыделительную и сердечно-сосудистую системы, систему крови, влияет на связывание с белками (V); - Ниже сердечный выброс (\downarrow скорость распределения); - Эритроциты, гемоглобин и гематокрит, а также триглицериды

Продолжение Таблицы 9

Метаболизм (М)	<ul style="list-style-type: none"> - Более высокие уровни эстрогенов и прогестерона могут снижать метаболический клиренс, увеличивая аккумуляцию многих ЛС. Эстроген – субстрат для CYP3A4 и CYP1A2, что может вызывать ФК-взаимодействия с метаболизирующимися этими ферментами препаратами (например, метаболизм антидепрессантов замедляется во время поздней лютеиновой фазы цикла или эстрогензаместительной терапии); - Более низкий общий уровень печеночного метаболизма; - Более низкий уровень экспрессии P-gp и BCRP (белок резистентности рака молочной железы) в гепатоцитах; - Относительно большая экспрессия NTCP (натрий-таурохолат-котранспортный полипептид, отвечающий за реабсорбцию желчных кислот в печени) в печени; - Связь с экспрессией транспортных протеинов (OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1) изучается; - Ниже активность цитохромов 1A, 2E1, УДФ-глюкуронилтрансферазы, сульфотрансфераз, метилтрансфераз; - Более высокая или сопоставимая активность CYP3A; - Модуляция активности CYP2D6, различной для разных препаратов
Экскреция (Е)	<ul style="list-style-type: none"> - Более низкие величины почечного клиренса, клиренса креатинина, скорости почечного кровотока, гломерулярной фильтрации (прямо пропорциональна массе тела) (↓ почечной экскреции); - Более низкая скорость гломерулярной фильтрации; - Ниже легочная функция (↓ легочной экскреции); - Отличия в содержании почечной глутатион S-трансферазы; - Более низкий уровень креатинина и мочевой кислоты (в среднем)

Примечания: ↓ – снижение; ↑ – повышение; Conc – концентрация; А – абсорбция; D – распределение; М – метаболизм; Е – экскреция; * – факторы, влияющие на интенсивность биотрансформации, при пресистемном метаболизме могут влиять на параметры абсорбции (константу абсорбции и биодоступность).

Другим примером многокомпонентного фактора является возраст. Старение организма означает прогрессирующее снижение функционального резерва элиминационных систем. С возрастом увеличивается доля сопутствующей патологии и, соответственно, комедикации. Такие возрастные изменения как сокращение пресистемного метаболизма, снижение рН желудочного сока и моторики ЖКТ влияют на системную биодоступность. Снижение доли воды в организме и уровня альбумина крови сказывается на распределении препарата. Увеличение возраста может быть ассоциировано с ростом ИМТ. С возрастом снижается активность метаболизирующих ферментов, и возрастает доля пациентов со сниженным почечным клиренсом, что влияет на элиминацию препаратов из организма [S. Shi and U. Klotz, 2011; Холодов Л. Е., Яковлев В. П., 1985; Сергиенко В. И. и соавт., 2003].

Кроме того, часто влияющими на ФК факторами являются вес и ИМТ, параметры крови и генетический полиморфизм.

Поскольку общий объем внеклеточных жидкостей прямо пропорционален весу, вполне понятна зависимость объема распределения от массы тела. Увеличение ИМТ связано с большей долей жировой ткани в организме и, соответственно, меньшим содержанием водной фазы. При этом в центральной камере наблюдаются более низкие концентрации липофильных веществ и более высокие гидрофильных. В периферической камере будет иметь место обратное соотношение. Поэтому для достижения оптимального содержания препарата в эффекторной камере у пациентов с большим ИМТ потребуется коррекция дозировок [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Холодов Л. Е., Яковлев В. П., 1985].

Уровень АЛТ (аланинаминотрансфераза) и АСТ (аспартатаминотрансфераза) в крови отражает функцию печени. Причем более точно отражать тяжесть печеночного поражения может отношение содержания этих ферментов АСТ/АЛТ [N. Deb, D. Lahon and P. Sharma, 2016]. Была установлена связь активности СУРЗА и кинетики лигнанов с плазменным уровнем АЛТ и АСТ, означающая, что уровень этих ферментов в крови может быть ассоциирован с активностью метаболизирующих цитохромов [Xie Y. et al., 2010].

Известно, что повышение уровня неконъюгированного или общего билирубина может быть опосредовано ингибированием УДФ-глюкуронозилтрансферазы (UGT1A1), вызванным некоторыми лекарствами, например, атазанавиром [Smith D. et al., 2006]. Между препаратами с высокой степенью связи с белками крови и билирубином возможна конкуренция за связь с альбуминами. В таком случае гипербилирубинемия изменяет распределение препарата, увеличивая его свободную фракцию в крови и, соответственно, риск развития токсичности [Burton M. E. (ed.), 2006].

Снижение содержания общего белка и альбумина в крови может быть связано с тяжелым нарушением функции печени, что отразится на параметрах кинетики препаратов, в основном элиминируемых метаболическим путем. Уровень альбумина будет влиять на распределение препаратов с сильной степенью связывания с этим белком. В этом случае снижение содержания альбумина в крови увеличит свободную фракцию препарата и его переход в периферическую камеру. Высокий уровень альбумина, напротив, будет препятствовать проникновению препарата в ткани [Каркищенко Н. Н. и соавт., 2001].

Разное содержание препарата в эритроцитах и плазме крови может быть причиной разных результатов при его измерении в плазме или цельной крови. Объем эритроцитарной массы в этом случае может искажать кинетику препаратов, особенно с малым объемом распределения.

Генетический полиморфизм – это наличие в популяции аллелей, отвечающих за разную степень активности гена. Вариация ФК-параметров в популяции во многом объясняется полиморфизмом ферментов лекарственного метаболизма, в первую очередь цитохромов 2С9, 2С19, 2D6 и 3А4(5) [Мирошниченко И. И., 2011]. Многие АП, в том числе рисперидон, являются субстратами фермента СYP2D6. Полиморфизм этого цитохрома может приводить как к полному дефициту, так и чрезвычайно высокой активности фермента. По этому признаку выделяют: медленных метаболизаторов (PM, когда оба аллеля не функциональны, обычно из-за точечной мутации); промежуточных (IM, носители одного нерабочего аллеля); нормальных (EM, условная норма, когда оба аллеля не содержат мутаций, нарушающих их функционирование) и быстрых (UM, носители мутации с увеличением числа копий гена). Иногда IM и PM объединяют в одну группу медленных метаболизаторов. Клинический интерес представляют, в первую очередь, медленные и быстрые метаболизаторы [Johansson I., Ingelman-Sundberg M., 2011].

Полиморфизм ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма может существенно влиять на абсорбцию препарата (эффект первого прохождения через печень). Так, в кишечнике человека были идентифицированы цитохромы: СYP1A1, СYP2, СYP2D6, СYP2E1 (следовые количества), СYP3A4 и СYP3A5. Безусловно, ведущее влияние на пресистемный метаболизм оказывает фермент СYP3A4. Было показано, что его концентрация в тонком кишечнике составляет около 80 – 100% от соответствующего уровня в печени, в то время как концентрация СYP2D6 составляет лишь около 20% от величины концентрации в печени. Кроме того, в пресистемном метаболизме могут принимать участие ферменты 2 фазы метаболизма: глюкуронилтрансфераза, сульфотрансфераза, N-ацетилтрансфераза, S- метилтрансфераза, тиопуринметилтрансфераза, глутатион-S- трансфераза [Gavhane Y. N. and Yadav A. V., 2012, Abuasal B. and Kaddoimi A., 2012].

Ряд исследований показал серьезное влияние витаминоподобных веществ на лекарственный метаболизм и, как следствие, размер фармакологического эффекта [А. А. Махова, В. В. Шумянцева, Е. В. Ших и соавт., 2013]. Компоненты пищи и биологически активные добавки (БАД) могут менять биодоступность препаратов при приеме внутрь. Поэтому в ФК-исследованиях ФК важно регистрировать не только комедикацию другими препаратами, но и прием БАД и некоторых пищевых продуктов (например, грейпфрутовый сок), влияющих на активность цитохромов Р450 3А4 и 2С9, вовлеченных в метаболизм большинства ЛС. Недооценка этого правила при проведении исследования может исказить полученные результаты [Е. В. Ших, Г. В. Раменская, Д. А. Сычев, 2005].

Как показано выше, индивидуальные характеристики часто взаимосвязаны между собой, например, уровни АЛТ и АСТ, общего белка и альбумина крови ($r=0,6$). Возникающая при

множественном регрессионном анализе проблема мультиколлинеарности приводит к росту остаточной ошибки и недооценке вероятности ошибки I рода. Тщательный предварительный анализ интересующих ковариат и тестируемых гипотез и учет скрытой множественности сравнений могут стать хорошими решениями этой проблемы. Как вариант работы со связанными предикторами может быть их предварительная категоризация и замена одной переменной [Bonate P. L., PK&PD Modelling and simulation, 2011; Bonate P. L. and Howard D. R., PK in drug development, vol. 1, 2005].

1.3.5 Биоэквивалентность и взаимозаменяемость мультиисточниковых препаратов

Терапевтическая неравнозначность химически идентичных лекарств может быть следствием различий в биодоступности из-за целого ряда причин. На кинетику лекарств существенное влияние может оказывать не только состав вспомогательных компонентов и примесей, но и качество субстанции активного фармацевтического ингредиента (АФИ). Субстанции, даже в одном производстве, могут различаться кристаллическими или аморфными модификациями, способными влиять как на абсорбцию, так и время действия препарата, меняя его терапевтические свойства. Многие субстанции включают стереоизомеры с разными свойствами, и сдвиг их соотношения в фармацевтической композиции может стать причиной терапевтической неэквивалентности. К примеру, на европейском рынке только 15% таких препаратов производят в виде чистых изомеров, прочие 85% субстанций представляют собой стереоизомерические смеси [Кукес В. Г., Сычев Д. А. (ред.), 2009].

Общепризнанным подходом для тестирования БЭ в настоящее время остается усредненная биоэквивалентность (АВЕ), которая сводится к подтверждению гипотезы о нахождении отношения средних (в обычных величинах) или их разности (в лог-преобразованных величинах) в определенном интервале:

$$\ln(0,8) \geq (\ln(\mu_T) - \ln(\mu_R)) \geq \ln(1,25) \text{ или } 0,8 \geq (\mu_T/\mu_R) \geq 1,25,$$

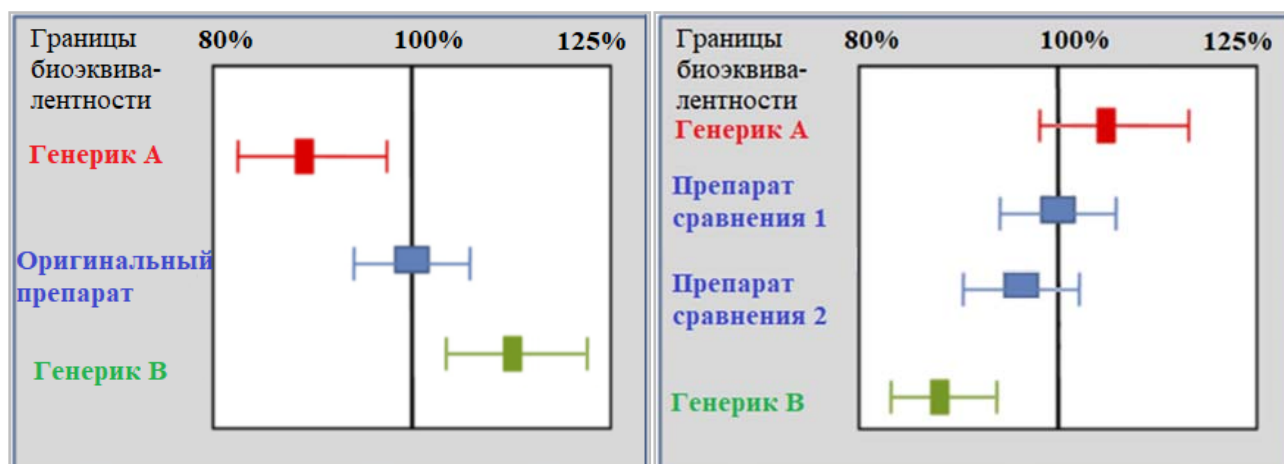
где μ_T и μ_R – это популяционные средние ФК-параметров.

Однако подтверждение биоэквивалентности генерика еще не означает его терапевтическую взаимозаменяемость с другими аналогами. Для такого положения есть ряд причин.

Первая заключается в отсутствии единых признанных референсных препаратов. Так, несмотря на регулярно обновляемые регламенты ВОЗ по выбору препарата сравнения для исследований БЭ, для многих давно применяющихся лекарств единые референсы так и не были установлены [Guidance on the selection of comparator... WHO, electronic resource, 2014; Guidance on

the selection of comparator...Annex 11, WHO, electronic resource, 2002] (Рисунок 8). [Chow S. C., Liu J. P., 2008].

Вторая причина кроется в явлении так называемого «дрейфа» границ биоэквивалентности при наличии нескольких генериков. Известно, что с ростом числа копий вероятность транзитивной БЭ между ними существенно снижается, становясь критической уже после 6 копий. Число генериков постоянно растет, иногда достигая нескольких десятков, что усугубляет проблему переключения между ними, которому, до сих пор не уделяется должное внимание. Хорошим решением этого вопроса мог бы стать метаанализ результатов тестирования других генериков. Однако эти данные являются закрытой регуляторной информацией, не всегда публикуются, и такой подход, не будучи закреплен на регуляторном уровне, так и не получил практического распространения [Chow S. C., Liu J. P., 2008; Anderson S., Hauck W. W., 1996] (Рисунок 8).



Слева: оба генерика А и В биоэквивалентны оригинальному препарату, но не входят в допустимые для эквивалентности границы при сравнении друг к другу. Справа: в качестве референса выбраны разные препараты: наблюдается смещение границ БЭ, в итоге генерики А и В также не могут быть фармакокинетически взаимозаменяемыми.

Рисунок 8 – Отсутствие биоэквивалентности между генериками

Кроме того, биоэквивалентность, установленная по оценке отношения средних, не означает эквивалентность сравниваемых препаратов на индивидуальном уровне. Действительно, нахождение отношения средних ФК-параметров внутри допустимого для БЭ интервала не означает, что все индивидуальные отношения этих величин [тест/референс] также будут находиться в этом же интервале (0,80–1,25), что не позволяет говорить о терапевтической эквивалентности в масштабе отдельного пациента [Chow S. C., Liu J. P., 2008]. Такие соображения послужили основой разработки 2-х дополнительных методов тестирования, популяционной и индивидуальной БЭ, так и не

получивших распространения за пределами регуляторики США [FDA. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, 2001].

Популяционная биоэквивалентность помимо сравнения средних ФК-параметров предусматривает сравнение их общих дисперсий и может быть рассчитана для стандартного перекрестного 2 x 2 дизайна:

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{\sigma_{TR}^2 \text{ или } \sigma_{T0}^2} \leq \theta_P,$$

где σ_{TT}^2 и σ_{TR}^2 – общие дисперсии («total», сумма внутрииндивидуальной и межиндивидуальной) для Т и R препаратов; σ_{T0}^2 – общая дисперсия; в знаменателе ставится величина σ_{TR}^2 или σ_{T0}^2 , которая больше; установленная для популяционной биоэквивалентности граница θ_P составляет: $[(\text{Ln}1,25)^2 + 0,02]/0,04 = 1,75$. Очевидно, что несмотря на близость терминологии, тестирование популяционной БЭ, не выделяющее межиндивидуальную вариацию, не имеет отношения к популяционной ФК [FDA. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, 2001; Chow S. C., Liu J. P., 2008].

Частично персонализированный подход к терапевтической эквивалентности может реализовываться подтверждением индивидуальной БЭ (ИВЕ). Однако этот тип тестирования возможен лишь для повторного (репликативного) дизайна. В этом случае в расчет дополнительно включаются внутрииндивидуальные дисперсии ФК-параметров, а также часть вариации, обусловленная взаимодействием факторов «субъект-препарат»:

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) + \sigma_D^2}{\sigma_{WR}^2 \text{ или } \sigma_{W0}^2} \leq \theta_I, \text{ где } \sigma_{WT}^2 \text{ и } \sigma_{WR}^2 - \text{внутрииндивидуальные дисперсии для Т и}$$

R препаратов, соответственно; σ_{W0}^2 – общая внутрииндивидуальная дисперсия. В знаменателе ставится та величина, которая больше; σ_D^2 – доля внутрииндивидуальной вариации, отражающая взаимодействие факторов «субъект-препарат».

$\sigma_D^2 = \text{var}(\mu_{IT} - \mu_{IR}) = (\sigma_{BT} - \sigma_{BR})^2 + 2(1 - \rho) * \sigma_{BT} * \sigma_{BR}$, где μ_{IT} и μ_{IR} индивидуальные средние для соответствующего препарата; σ_{BT} и σ_{BR} межиндивидуальная вариабельность для Т и R препаратов, а ρ – коэффициент корреляции факторов «препарат» и «субъект».

Установленная граница θ_I для ИВЕ = $[(\text{Ln}1,25)^2 + 0,02 + 0,03] / 0,04 = 2,49$.

Кроме того, приведенные методы доказательства БЭ имеют общие недостатки из-за присущих НКА допущений. Этот традиционный подход позволяет получать надежные результаты только при выполнении ряда условий: (1) достаточное число образцов собрано в информативные временные точки, (2) наблюдение покрывает не менее 80% полной площади АUC, (3) экспозиция в системном кровотоке отражает экспозицию в месте действия, (4) линейная фармакокинетика, (5)

фармакокинетика оценивается после введения однократной дозы или в стационарном состоянии [Драницина М. А. и соавт., 2019]. Кроме того, в тестировании БЭ, кроме основных ФК-параметров – AUC и C_{max}, важное значение имеет T_{max} (время достижения максимальной концентрации) [FDA Update: Budeprion XL 300 mg Not Therapeutically Equivalent, electronic source]. НКА определяет этот параметр чисто эмпирически – за T_{max} принимается время забора образца крови, в котором выявлена максимальная концентрация препарата. Очевидно, что в НКА параметры C_{max} и T_{max} сильно зависят от дизайна эксперимента (графика ФК-заборов). Хотя сейчас изучают другие методы оценки ФК-параметров для БЭ, на практике их применяют редко [Seng Yue, C. et al, 2019; Драницина М. А. и соавт., 2019].

ФК-параметры у пациентов значительно вариабельнее, нежели в нормированных выборках из здоровых добровольцев, что [Chow S. C., Liu J. P., 2008].

Обозначенные выше вопросы в ряде ситуаций обуславливают преимущества применения, популяционных подходов, позволяющих оценивать как ФК-параметры, так и тестировать БЭ, в реальной клинической практике – у пациентов при ТЛМ [Huang J. et al., 2016].

ПФК-анализ данных ТЛМ позволяет установить индивидуальное для каждого пациента отношение [T/R] для любых параметров, которые могут отражать эффективность или безопасность проводимой терапии: AUC_T, C_{ss_avg}, C_{ss_min}, C_{ss_max} и T_{max}.

1.3.6 Терапевтический лекарственный мониторинг

Терапевтическое действие препарата так или иначе определяется динамикой его концентрации в целевой ткани (эффекторной камере). По основному тезису фармакокинетики в равновесном состоянии имеется четкая связь уровня препарата в эффекторной камере и тест-ткани (крови). Другими словами уровень препарата в крови определяет как терапевтический эффект, так и выраженность побочных реакций [Е. В. Ших, Г. В. Раменская, Д. А. Сычев, 2005]. Сама концентрация препарата зависит от дозы, режима дозирования, пути введения и лекарственной формы, а характер этой зависимости определяется не только физико-химическими свойствами вещества, но и индивидуальной средой организма.

Утверждение, что рекомендованные в инструкции дозировки обеспечивают экспозицию препарата в терапевтическом интервале – диапазоне между минимальным токсическим и минимальным терапевтическим уровнями, характерно лишь для средних величин и на общую популяцию пациентов может экстраполироваться лишь как вероятностное [Сергиенко В. И. и соавт., 2003]. Это служит основной предпосылкой для проведения ТЛМ, главная практическая цель

которого заключается в подборе режима дозирования конкретному пациенту. Эта необходимость часто возникает при плохой переносимости или низкой эффективности лечения, узком терапевтическом индексе препарата или подозрении на некомплаентность пациента. В таком случае надо лишь сравнить измеренную концентрацию с приемлемым диапазоном. Основными стратегиями для сбора биообразцов в ТЛМ являются: 1) забор на уровне C_{ss_max} и C_{ss_min} (возможно при внутривенном введении или инфузии); 2) измерение 2-х уровней концентрации в фазе элиминации (для лекарственных форм пролонгированного действия); 3) C_{ss_min} – при приеме внутрь, например, для антипсихотиков приемлемый терапевтический диапазон разработан именно для C_{ss_min} [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Niemke et al., 2018].

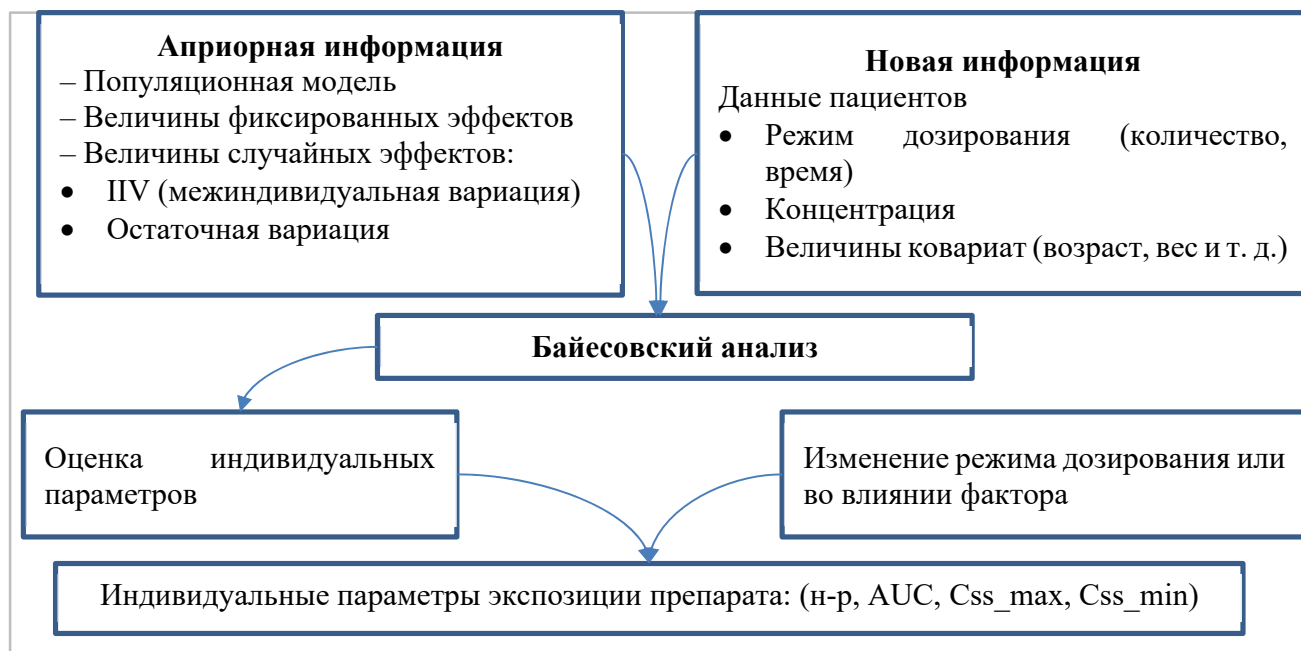
Между тем для многих препаратов (антиаритмических, антигипертензивных, психотропных) характерна связь выраженности побочных реакций с пиковыми концентрациями C_{ss_max} , а степень эффекта часто коррелирует с величиной средней равновесной (C_{ss_avg}) или остаточной концентрации C_{ss_min} (например, у антибиотиков и противоопухолевых препаратов). В таких случаях режим дозирования дополнительно должен учитывать флуктуацию уровня препарата в крови, которую трудно оценить в ТЛМ. Сейчас обыкновенной практикой мониторинга является измерение лишь остаточных концентраций (C_{ss_min}), а результат мониторинга ограничен общими рекомендациями по изменению дозы препарата или его замене на другой. Для оценки C_{ss_avg} или C_{ss_max} необходимо знать индивидуальные параметры фармакокинетики, что становится возможным при ее моделировании.

Основная практическая цель мониторинга, персонализация терапии, требует наличия и учета знаний о взаимосвязи кинетики препарата и индивидуальных характеристик пациента [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Brown H., Prescott R., 2014]. Однако, до сих пор исследования в этой области ограничиваются изучением фармакокинетики при выраженной патологии элиминационных систем или разрозненными сообщениями о результатах ТЛМ.

Вместе с тем в ходе мониторинга может собираться богатейшая информация по индивидуальным характеристикам пациентов, которая может существенно помочь в изучении их связи с фармакокинетикой. Реализации этой научной компоненты лекарственного мониторинга препятствует ряд обстоятельств. Первое заключается в доминировании некамерного анализа в ФК, основанного на допущении о линейности кинетики, которая для большинства препаратов, особенно при многократном приеме, является сильным упрощением. Например, в инструкции по медицинскому применению рисперидона заявлена линейность ФК в терапевтическом диапазоне доз, а на практике имеет наблюдается нелинейность зависимости «концентрация–доза» [Jönsson A. K. et al., 2019]. Другими ограничениями являются устоявшийся подход в оценивании параметров

распределений – метод моментов, а также типовое тестирование возможных предикторов как фиксированных факторов. Модели с фиксированными факторами со своей стороны ограничены рядом допущений: отсутствие повторных измерений и гомоскедастичность остатков, сбалансированность выборок и дизайна в целом по влияющим на ФК факторам (когда определенному уровню предиктора должно соответствовать одно и то же число наблюдений зависимой переменной). Кроме того, разреженный характер собираемых данных создает ряд дополнительных трудностей. Так, реализация D-стратегии для оценки индивидуальных ФК-параметров требует минимум 2–3 измерений концентрации у одного пациента, при этом необходимо большое число пациентов, что потребует дополнительных финансовых и временных затрат, в результате такие поисковые исследования могут занимать годы. [Сергиенко В. И. и соавт., 2003].

Помочь в решении вышеизложенных проблем может нелинейное моделирование смешанных эффектов, все больше приобретающее популярность с развитием компьютерных технологий [Сергиенко В. И. и соавт., 2003; Brown H., Prescott R., 2014]. NLMEM позволяет анализировать данные из несбалансированных выборок, при наличии повторных измерений и нестабильной дисперсии остатков, т. е. работать в условиях ограничений обычного регрессионного анализа [Owen J. S, Fiedler-Kelly J., 2014]. Алгоритм SAEM с методами MCMC за счет улучшенной сходимости итерационного алгоритма позволяет получать популяционные и индивидуальные оценки в условиях ковариации параметров модели, даже при небольшом объёме симуляции и скудной сходимости алгоритма. Байесовский функционал позволяет увеличивать точность предсказаний за счет имеющейся информации. Перечисленные алгоритмы, встроенные в программу Lixoft Monolix, создают приемлемые условия для выполнения ПФК-анализа разреженных данных в лекарственном мониторинге [Lavielle M., Mentre F., 2007] (Рисунок 9).



Примечание: адаптировано из книги [Owen J. S., Fiedler-Kelly J., 2014, p.199]

Рисунок 9 – Типовой план популяционного ФК-анализа

Важно отметить, что чем меньше измерений концентрации выполнено у индивида, тем более важна априорная информация о популяционных характеристиках. Поэтому для анализа данных ТЛМ надо располагать актуальными популяционными оценками. Для этого как нельзя лучше подходят данные полного профиля «концентрация–время» из отечественных исследований биоэквивалентности, характеризующие отечественную, среднерусскую популяцию.

ТЛМ является важным инструментом для персонализации терапии антипсихотиками [Потанин С.С., 2015].

Выраженная межиндивидуальная вариабельность кинетики рисперидона, генетический полиморфизм цитохрома 2D6 вкупе с наличием активного метаболита и отсутствием четкой связи «доза–эффект» создают характерные предпосылки для проведения ТЛМ этого препарата [Hiemke et al., 2018]. Зависимость эффекта от уровня АМ рисперидона в ЦНС, где невозможно непосредственное измерение, подчеркивает важность моделирования ее уровня. Распространенность антипсихотической политерапии и высокая вероятность ФК-взаимодействий в этой группе препаратов повышают интерес к моделированию их кинетики. В Таблице 10 приведены возможные ФК-взаимодействия для устоявшихся в клинике сочетаний АП из базы данных Transformer [The Transformer database: electronic resource].

Таблица 10 – ФК-взаимодействия антипсихотиков

Механизм	Арипипразол	Хлорпромазин	Клозапин	Галоперидол	Оланзапин	Кветиапин	Рisperидон	Зуклопентиксол
CYP1A1		Ind*	Ind*	S*				
CYP1A2		Ind/S/Inh*	Inh/S*	S*	S*			
CYP2C9			Inh/S	S	Inh			
CYP2C19			Inh/S*	S*	Inh*	S*		
CYP2D6	Ind/Inh/S	Inh/S	Inh/S	Ind/Inh/S	Inh/S	Inh/S	Inh/S	S
CYP2E1		Inh	Inh					
CYP3A4	S*	Ind/S *	Ind/Inh/S*	Inh/S *	Inh*	S*	Inh/S *	
CYP3A5	S	Ind		S		S	S	
CYP3A7				S*		S*	S*	
NAT			Ind	Inh				
VGLU1			Ind	Ind				
SO6A1		Ind			Ind			
P-gP #	S				S		S	

Примечания: * – взаимодействие с БАД или продуктами питания; цветом выделена сила лекарственного взаимодействия; # – Большинство АП действуют как ингибиторы, и могут влиять на концентрацию субстратов в мозге и крови [Moons T. et al, 2011]; S – субстрат; Inh – ингибитор; Ind – индуктор; NAT – N-ацетилтрансфераза (фермент II фазы метаболизма); VGLU1– везикулярный глутаматный транспортер 1; SO6A1– транспортер органических анионов семейства 6A1

Важность внедрения подходов популяционной фармакокинетики в клинику подчеркивается в работе, подготовленной в соавторстве с д.м.н., проф. Сергеевой С. А. и д.м.н. Мирошниченко И. И. [Платова А.И. и др., 2014в]. Важность роли ПФК в лекарственном мониторинге антипсихотиков рассматривается в статье, выполненной в соавторстве с д.м.н. Мирошниченко И.И. [Мирошниченко И.И.; Платова А.И., 2015].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Клиническая часть исследований

Клинические исследования проводились по стандартному [Смирнов А.С. и др., 2014] открытому, рандомизированному, двухпериодному, перекрестному дизайну в 2-х группах (2x2) по утвержденным Минздравом РФ протоколам в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики [ГОСТ Р 52379–2005, 2006] и Хельсинкской декларации (Рисунок 10).

Рандомизация на 2 группы	Период 1	Отмывочный период	Период 2
Группа 1 (n субъектов) Последовательность 1 (R→T)	Препарат сравнения (R)		Генерик (T)
Группа 2 (n субъектов) Последовательность 2 (T→R)	Генерик (T)		Препарат сравнения (R)

Рисунок 10 – Схема перекрестного дизайна исследований биоэквивалентности

Исследования состояли из двух равнозначных периодов (этапов). Перед первым приёмом препарата участников исследования рандомизировали (случайным образом распределяли) на две группы, различающиеся последовательностью приема сравниваемых препаратов: «T→R» или «R→T». Этапы исследования были разделены отмывочным периодом¹⁰ – для элиминации из организма следов препарата после его предыдущего приема. На каждом этапе в заранее определенные временные точки после приема сравниваемых препаратов забирали пробы крови (в объеме 5 мл) для измерения концентрации. В качестве антикоагулянта для анастозола и рисперидона использовали гепарин, а для летрозолола – К2ЭДТА (двухкалиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты).

Для отделения плазмы через 5–15 минут после забора кровь центрифугировали 10–15 мин при 2500–3000 об/мин. Далее с помощью автоматических пипеток плазму переносили в полипропиленовые криопробирки. Пробирки с кровью и плазмой маркировали по алгоритму: № протокола – код субъекта – № этапа исследования – № образца.

¹⁰ Отмывочный период - время (интервал) между приемами сравниваемых препаратов.

Криопробирки хранили при температуре не выше минус 20°C. Во время хранения и транспортировки в аналитическую лабораторию температурный режим не менялся.

До и после приема сравниваемых препаратов измеряли артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС), проводили физикальный (общемедицинский) осмотр. Кроме того, оценивали электрокардиограмму (ЭКГ) и отслеживали нежелательные (побочные) явления.

Каждое исследование включало набор правил для исключения влияния на ФК различных факторов, например, запрещалось употребление в ходе исследования кофе и цитрусовых, прием других лекарств, алкоголизм в анамнезе был критерием невключения.

2.1.1 Биоэквивалентность: Анастрозол и Аримидекс®

В исследовании по протоколу № АSTR–100112 (версия 1.0 от 10.01.2012 г.) сравнивали воспроизведенный (Анастрозол) и оригинальный (Аримидекс®) препараты (МНН: анастрозол), данные по составу и производству которых приведены в Приложении А (Таблица А.1). Клиническую часть исследования проводили на базе ГБУЗ «ГКБ № 13 ДЗМ» г. Москвы после предварительного разрешения МЗ № 81 (от 22 мая 2012 г.) и одобрения локальным этическим комитетом (ЛЭК) больницы (от 05 июня 2012 г.).

Исследуемую популяцию составили 18 женщин в возрасте от 45 до 55 лет в состоянии постменопаузы, клинически верифицированном по уровням ФСГ и эстрадиола, определенных на этапе скрининга.

Отбор крови (по 5 мл) проводили до приема анастрозола, а также через: 0,5; 1,0; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12; 24; 48; 72; 96; 120; 144 и 168 часов после приема препарата в дозе 1 мг. В течение первых 24 часов на каждом этапе участники исследования находились в клиническом центре, а для забора крови через 48, 72, 96, 120, 144 и 168 ч приходили в клинический центр в амбулаторном режиме. Отмывочный период составлял 14 суток.

Во время скрининга всем участникам исследования до его начала выполняли: общий анализ крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты), биохимический анализ крови (креатинин, глюкоза, билирубин, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), эстрадиол, ФСГ), а также регистрацию антропометрических показателей (возраст, масса, рост).

2.1.2 Биоэквивалентность: Летрозол®Акри и Фемара®

В исследовании (протокол № AN-001-052, версия 1.0 от 25.08. 2011 г.) сравнивали воспроизведенный (Летрозол®Акри) и оригинальный (Фемара®) препараты, сведения о которых приведены в Приложении А (Таблица А.2). МНН сравниваемых препаратов: летрозол.

Клиническую часть исследования проводили на базе Муниципального автономного учреждения «Центральная городская клиническая больница г. Реутов». Разрешение на проведение клинического исследования от Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств № 677 было получено от 31 января 2012 г. Одобрение проведения клинического исследования от ЛЭК клинического центра было получено 11 апреля 2012 г.

В исследование были включены 32 женщины в возрасте от 45 до 55 лет в постклимактерическом периоде.

Отбор крови (по 5 мл) проводили до приема летрозола, а также через: 0,33; 0,66; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12; 24; 48; 72; 96; 120; 144; 168 и 216 часов после приема препарата в дозе 2,5 мг. Отмывочный период составлял 14 суток.

Во время скрининга всем участникам исследования до его начала выполняли: общий анализ крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты), биохимический анализ крови (креатинин, глюкоза, общий белок, билирубин, АСТ, АЛТ, ЩФ, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), холестерин), а также регистрацию антропометрических показателей (возраст, масса, рост).

2.1.3 Биоэквивалентность: Рисперидон и Рисполепт®

В исследовании (протокол 2011-RIS-001, версия 1.0 от 03.06. 2011 г.) сравнивали воспроизведенный (Рисперидон) и оригинальный (Рисполепт®) препараты, данные по составу и производству которых приведены в Приложении Б (Таблица А.3). МНН сравниваемых препаратов: рисперидон. Клиническую часть исследования выполняли на базе ГКБ № 13 ДЗ города Москвы. Разрешение на проведение исследования выдано Минздравсоцразвития 13 февраля 2012 г за номером 712. Одобрение ЛЭК получено 05.06.2012 г.

Исследуемая популяция включала 18 здоровых мужчин и женщин в возрасте от 18 до 45 лет ($29,8 \pm 8,9$ лет).

Отбор крови (по 5 мл) проводили до приема рисперидона, а также через: 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 12,0; 24,0; 36,0; 48,0; 72,0 и 96,0 часов после приема препарата в дозе 2 мг. В течение 24 ч добровольцы находились в клиническом центре, для забора крови через 48, 72 и 96 ч испытуемые посещали клинический центр амбулаторном режиме. Отмывочный период

составлял 14 суток. Полученные биообразцы подвергали количественному анализу с установлением концентраций, как исходного препарата (рисперидона), так и его основного активного метаболита – 9-гидроксирисперидона.

Во время скрининга регистрировали индивидуальные характеристики: гемоглобин, гематокрит, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, креатинин, глюкоза, общий белок, билирубин, АСТ, АЛТ, ЩФ, ЛДГ, холестерин крови, а возраст, массу и рост.

2.1.4 Терапевтический лекарственный мониторинг рисперидона и его активного метаболита у пациентов

Для моделирования использовали данные пациентов, получавших рисперидон, из двух исследований с ТЛМ (Протокол предварительного одобрения ЛЭК ФГБНУ НЦПЗ № 2 от 27.01.2015 г.). Мониторинг концентрации проводили по достижении равновесного состояния (по истечении 5-ти периодов полувыведения РИС и его активного метаболита после начала или коррекции АП-терапии). Забор крови выполняли до еды и за полчаса до очередной дозы препарата (оценка C_{ss_min}).

При выявлении необычных значений (laboratory alert), когда уровень активной антипсихотической фракции в 3 раза превышал верхнюю границу терапевтического диапазона (>180 нг/мл), данные в срочном порядке передавали в клиническое отделение для коррекции лечения.

По завершении ТЛМ перед закрытием базы данных проводили их сверку и верификацию. В анализ не включали наблюдения в случае некомплаентности, основанием для чего было отсутствие в образцах следов и РИС, и его метаболита. Если хотя бы один из компонентов количественно определялся, а уровень другого находился ниже НПКО, за концентрацию последнего принимали величину 0,2 от уровня НПКО (0,1 нг/мл).

ТЛМ на базе ФГБНУ НЦПЗ проводили в отделениях № 4 (отдел юношеской психиатрии) и № 5 (отдел по изучению эндогенных психозов) [Баймеева Н.В. и др., 2019]. Критерии включения в исследование: 1) заболевание различными формами шизофрении и другими психическими расстройствами; 2) прохождение лечения в условиях стационара. Для моделирования были выбраны данные пациентов, получавших рисперидон. Размер выборки составил 56 пациентов мужского пола (получено 68 образцов). Одно наблюдение было исключено из анализа из-за некомплаентности, поэтому количество валидных наблюдений составило 67 (67 биообразцов, полученных от 56 пациентов). Средние дозы РИС составили $6,4 \pm 1,7$ мг/сут.

При включении в ТЛМ заводили индивидуальную регистрационную карту (ИРК), в которой отмечали показатели шкалы PANSS, UKU, антропометрические показатели (возраст, вес), данные лабораторных анализов (билирубин), побочные явления и сопутствующую терапию.

В ТЛМ на базе Психиатрической больницы №14 (филиал Психиатрической клинической больницы №1 им. Н. А. Алексеева – ПКБ №1 ДЗМ) включали пациентов обоего пола в возрасте 23–60 лет, госпитализированных с диагнозом приступообразно-прогредиентной шизофрении в стадии обострения и преобладанием позитивной симптоматики. Другим критерием включения было назначение 1–2 антипсихотиков при условии, что второй назначался в дозе не выше 200 мг в хлорпромазиновом эквиваленте. Пробы крови отбирали 2 раза: на 7-10-й день (окончание периода титрации дозы) и на 26–30-й день (2-я клиническая оценка). Рисперидон получали 16 пациентов (получено 40 образцов). Некомплаентность стала причиной исключения из анализа 2-х наблюдений, и для моделирования были использованы данные 14 пациентов (38 наблюдений за уровнем концентрации). Средние дозы рисперидона составили $4,8 \pm 1,5$ мг/сут. Оценки по шкалам PANSS, NSA, CGI-S, CGI-I проводили на 2–5-й и 26–30-й дни от момента поступления [Потанин С. С. и др., 2017].

Для сравнения остаточных уровней АМ РИС, нормированных на дозу, их переводили в молярные величины для нивелирования разницы молярного веса родительского вещества с метаболитом. Кроме того, сравнению могли подлежать только данные с одинаковым интервалом дозирования.

2.2 Аналитическая часть: количественное определение лекарственных средств

2.2.1 Оборудование

Для пробоподготовки использовали центрифугу FP-350 Labsystems Oy (Финляндия), встряхиватель (шейкер) Vortex (Labomed, Германия), концентратор TurboVap[®] LV (Caliper LifeSciences, США). ТФЭ выполняли на вакуумном коллекторе Manifold 12 pos (Agilent, США). Деионизированную воду получали с помощью установки Simplicity UV System (Millipore, Франция). Для приготовления навесок применяли электронные весы Ohaus Discovery (Ohaus Europe, Швейцария), контроль состава подвижной фазы выполняли с помощью pH-метра Mettler Toledo S20 (Швейцария). Хроматографическое разделение выполняли с помощью хроматографа Agilent 1200 Series LC (США), состыкованного с тандемным масс-спектрометром Agilent 6410-2K Triple Quad LC-MS QQQ (США) для последующего разделения и детекции (Рисунок 11).

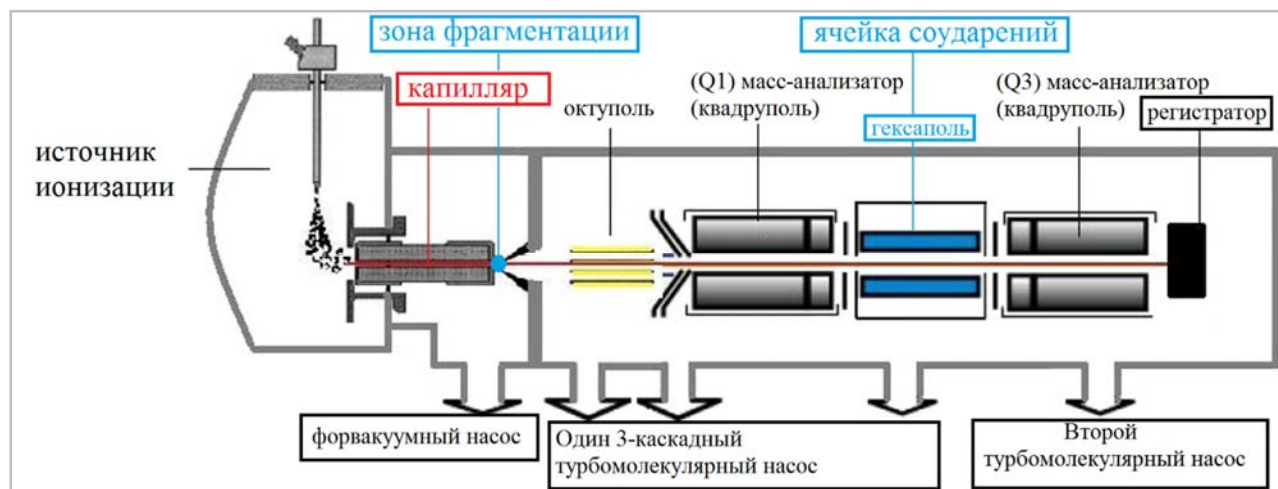


Рисунок 11 – Схема масс-спектрометра Agilent 6410-2K Triple Quad LC-MS (QQQ)

Для ионизации использовали модули ESI или APCI. Генератор NitroFlow®Lab (Parker Filtration, Нидерланды) служил источником азота для форвакуумного насоса. Сбор и обработку данных проводили в программном обеспечении MassHunter B.01.04. (Agilent, США).

2.2.2 Субстанции, реактивы и материалы

Субстанции: летрозол был предоставлен ОАО «Акрихин» (Купавна, Московская область, Россия), клозапин – ОАО «Валента Фармацевтика» (Москва, Россия), норклозапин (N-десметилклозапин) – ЗАО «Исследовательский институт химического разнообразия» (Химки, Московская область, Россия), анастрозол, 9-гидроксириперидон и рisperидон – ЗАО «ОЗОН» (г. Жигулевск, Самарская область, Россия), арипипразол и дегидроарипипразол были поставлены компанией Санта-Крус Биотехнолоджи Инк (США), а галоперидол, зуклопентиксол и карбамазепин – компанией Олдридж (Сент-Луис, Миссури, США). Степень чистоты, заявленная в аналитических паспортах, составляла не менее 99,99%.

Для экстракции и проведения хроматографического анализа использовали следующие реактивы, органические растворители и газы: метанол (Sigma, Германия); муравьиная кислота (Sigma, Германия); диэтиловый эфир (Merck, Германия); деионизированная вода; азот особой чистоты 99,9999%.

Патроны для твердофазной экстракции: AccuBond SPE ODS-C18 (1 мл/100 мг; Agilent, США) и SOLA (1 мл/100 мг, Thermo Fisher Scientific Inc., США).

2.2.3 Процедура разработки методик количественного определения

Разработка и оптимизацию методик проводили по следующему алгоритму:

1. Подбор условий МС/МС детектирования (для целевого аналита и потенциальных ВС): выбор метода (APCI или ESI) и режима ионизации (положительный, отрицательный), определение массового перехода (прекурсор-ион→продукт-ион), оптимизация параметров фрагментации (Fr, CE). Также проводилась оптимизация инструментальных настроек модуля ионизации (коронный разряд или давление небулайзера, потока и температуры осушающего и распыляющего газов).

2. Подбор условий ВЭЖХ: выбор колонки, оптимизация температуры колонки, состава и скорости потока ПФ, подбор градиента, объема инъекции.

3. Оптимизация пробоподготовки включает определение метода экстракции и схемы ее проведения для максимального извлечения аналита, возможностей его концентрирования. Далее необходима предварительная оценка влияния матрицы, селективности метода и линейности отклика детектора.

4. Выбор ВС, который не должен оказывать какого-либо влияния на пик целевого вещества (отсутствие интерференции). По необходимости вновь оптимизируют условия ВЭЖХ для предотвращения коэлюирования пиков и сокращения времени проведения анализа.

5. Приготовление калибровочных образцов и построение калибровочной зависимости с установлением ее характеристик: линейности, уравнения регрессии, точности и прецизионности рассчитанных концентраций, установление НПКО.

6. Проведение валидационных процедур: оценка точности и прецизионности, тестирование стабильности аналита в стандартных растворах и матрице.

7. Проведение рутинного анализа образцов, включая валидационные процедуры в ходе эксперимента.

Разработка метода масс-спектрометрической детекции также выполнялась поэтапно:

1. Определение m/z для родительского иона выполняли в режиме полного сканирования (режим «MS2SCAN» – без фильтрации по массам в первом анализаторе Q1). Предварительно устанавливали исходные параметры ВЭЖХ и работы модуля ионизации (давление небулайзера или коронного разряда, температура и скорость подачи осушающего газа (турбо-газа) и распыляющего газа, а также режима полярности ионизации. После получения полного спектра по максимальному отклику сигнала, соответствующему времени выхода аналита устанавливали m/z иона-прекурсора.

2) Получение спектра продукт-ионов в режиме сканирования «ProductIon» (фильтрация по m/z иона-прекурсора в первом анализаторе с детекцией всех фрагментов, образованных в камере соударений) и выбор основного продукт-иона.

3) Максимальной интенсивности спектра иона-предшественника достигали в режиме детектирования иона-прекурсора («MS2SIM») подбором напряжения (Fr) в первой зоне фрагментации, где происходит активируемая соударением диссоциация.

4) Максимизацию интенсивности спектра для выбранного продукт-иона выполняли в режиме MRM путем регуляции напряжения в ячейке соударений (CE).

5) Далее настраивали работу модуля ионизации, после чего переходили к оптимизации условий ВЭЖХ.

2.2.4 Валидация

Валидацию метода проводили в соответствии с отечественными и международными требованиями [Peters F. T. et al., 2007; Руководство по экспертизе лекарственных средств, Том I, под ред. Миронова А. Н., 2013].

Селективность (избирательность) проверяли, используя 6 холостых образцов¹¹ матрицы разного происхождения (подвергнутой обработке и не содержащей аналит или ВС). Для выявления возможной интерференции каждый образец матрицы тестировали отдельно. Проверяли отсутствие пиков аналита и ВС в холостой матрице, сравнивали по отдельности пики для аналита и ВС, полученные при их разбавлении холостой матрицей и чистыми растворителями (ПФ), также сравнивали пики аналита и ВС при их совместном растворении в ПФ с пиками при растворении в ПФ аналита и ВС по отдельности.

Для построения калибровочной зависимости, охватывающей ожидаемый диапазон концентраций, готовили калибровочные образцы путем добавления стандартных растворов аналита (не менее 6 уровней концентрации) и ВС к матрице, не содержащей каких-либо экзогенных примесей. Калибровочные кривые строили с помощью регрессионного анализа для отношения площадей пиков «аналит/ВС» от добавленных концентраций. Далее проводилась проверка случайной (остаточной) ошибки методом наименьших квадратов. Случайная ошибка должна иметь равномерное расположение, быть центрирована около нуля, не зависеть от величин по осям абсцисс

¹¹ Холостой образец – подвергнутый обработке образец матрицы, не содержащий аналита и внутреннего стандарта. Нулевой образец – подвергнутая обработке матрица, содержащая внутренний стандарт.

или ординат. В противном случае гомоскедастичность случайной ошибки достигается различными приемами взвешивания. Для определенного регрессионного уравнения должен быть представлен коэффициент корреляции (r) или коэффициент детерминации (r^2) зависимости.

Линейность отклика сигнала детектора проводили добавлением к матрице стандартного раствора аналита для достижения финальной концентрации выше верхнего предела количественного определения. После пробоподготовки образец последовательно разводили холостой матрицей с приготовлением серии из 5 образцов. Точность и прецизионность (при оценке площадей пиков аналита) должны составлять менее 15 %.

Точность (правильность)¹² и прецизионность (сходимость)¹³ метода внутри серии оценивали путем анализа не менее пяти образцов контроля качества (КК) препарата на четырех уровнях (нижний предел количественного определения (НПКО), низкий, средний и большой) концентраций. Отдельно проводили оценку правильности и сходимости в различные дни эксперимента (inter-day) путем анализа образцов КК на тех же 4-х уровнях концентраций в течение не менее трех дней. Концентрации образцов КК определяли исходя из ожидаемых плазменных концентраций определяемого вещества и калибровочного диапазона.

Прецизионность рассчитывали как относительное стандартное отклонение по формуле: $SD \cdot 100\%/\bar{x}$, где SD – стандартное отклонение серии измерений, \bar{x} – среднее арифметическое полученных концентраций.

Точность рассчитывали, как процент отклонения измеренной концентрации от ее истинного (добавленного) значения по формуле: $(\bar{x} - \bar{\mu}) \cdot 100\%/\bar{\mu}$, где \bar{x} – среднее арифметическое измеренных концентраций; $\bar{\mu}$ – теоретическая (добавленная) концентрация.

Степень экстракции определяли, как отношение площади пиков аналита в образцах КК (при низком уровне не более $3 \cdot$ НПКО и высоком уровне концентрации) к площади пиков, полученных после добавления стандартных растворов к холостой матрице после экстракции.

Матричный фактор (МФ) вычисляли как отношение площади пика целевого аналита в чистом растворителе к площади пика аналита, добавленного в холостой образец матрицы уже после

¹² Правильность (точность, от англ. «assigasy») – величина, отражающая степень соответствия между истинным значением измеряемой концентрации и результатом, полученным по данной методике.

¹³ Прецизионность (сходимость, кучность, от англ. «precision») – величина, выражающая степень близости (или разброса) результатов для серии измерений, выполненных по данной методике на различных пробах одного и того же однородного образца.

пробоподготовки: $MФ = \frac{S1}{S2} \times 100\%$, где S1 – площадь пика для пробы с добавкой аналита в матрицу после её пробоподготовки, S2 – площадь пика для стандартного раствора аналита.

Матричный фактор оценивали для всех аналитов и ВС на образцах матрицы, полученной различных источников (не менее 6). Для смеси аналитов в одном образце исследовали отсутствие их влияния друг на друга. Для этого оценивали МФ для каждого аналита отдельно по формуле: $MФ = \frac{S_{mix}}{S_a} \times 100\%$ где S_{mix} – площадь пика для холостой матрицы, в которую после пробоподготовки был добавлен стандартный раствор смеси аналитов, S_a – площадь пика для стандартного раствора целевого аналита.

Кроме того, оценивали МФ, нормализованный по внутреннему стандарту:

$MФ\ BC = \frac{MФ\ аналита}{MФ\ внутреннего\ стандарта} \times 100\%$, коэффициент вариации которого не должен превышать 15 %.

Селективность оценивали по образцам холостой матрицы от 6 различных источников на предмет отсутствия пика целевого аналита. При определении нескольких аналитов в одном образце селективность должна была подтверждать отсутствие ложной детекции для целевого аналита, вызванной другими аналитами (особенно коэлюирующими). Результат определения селективности не должен превышать 20% от площади пика по НПКО для аналита и 5% для внутреннего стандарта.

Для определения чувствительности использовали НПКО, при котором точность и прецизионность составляли не более 20%, а соотношение сигнала к шуму (S/N) было не менее 5.

Для оценки стабильности исследовали:

- ◆ стабильность стандартных растворов аналита и внутреннего стандарта (в течение 1 месяца) при хранении при температуре 4°C;
- ◆ стабильность образцов КК после трех циклов замораживания-оттаивания для низких (не более 3-х НПКО) и высоких концентраций аналита в плазме (-20 °C) и оттаивания (при комнатной температуре);
- ◆ стабильность размороженного аналита в матрице при хранении в условиях комнатной температуры в течение 12 часов;
- ◆ долгосрочная стабильность аналита в матрице в условиях заморозки (в течение 30 дней);
- ◆ стабильность аналита после экстракции в течение 1 суток при хранении в термостате инжектора при температуре -15° С.

Тестирование пригодности хроматографической системы проводилось в процессе рутинного количественного анализа для контроля приемлемости аналитических условий, что необходимо для

подтверждения качества полученных результатов [Tiwari G., Tiwari R., 2010; Sonawane L.V. et al., 2014; Abbatiello S. E. et al., 2013].

Критерии приемлемости хроматографических условий:

- ◆ Относительное стандартное отклонение (RSD) времени удерживания определяемого вещества должен быть не более 5%;
- ◆ Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику анализируемого вещества. Число теоретических тарелок при этом должно быть не менее 2000;
- ◆ Фактор удерживания (коэффициент ёмкости) должен быть не менее 2,0;
- ◆ Коэффициент асимметрии пика не должен превышать 2,0;
- ◆ Фактор переноса (после образцов КК с высокой концентрацией вводят чистый растворитель) должен не превышать 20% отклика сигнала от НПКО;

Критерии приемлемости масс-спектрометрических условий:

- ◆ стабильность отклика сигнала оценивалась повторной (5 раз) разгонкой одного образца (стандартный раствор целевого аналита) на высоком уровне концентрации в начале дня и однократно в конце дня и рассчитывалась как RSD площади пика. Отклик детектора считался стабильным при значении RSD не более 2%.
- ◆ чувствительность масс-спектрометрической детекции (отношение S/N) определялась ежедневно перед измерениями и в конце дня. Сигнал образца КК на уровне НПКО должен более чем в 5 раз превосходить сигнал холостого образца во всех повторях.

Разрешение по массе (ширина спектра на половине его высоты) поддерживалось постоянным автоматически и составляло 0,7 а.е.м.

Робастность аналитического метода (от англ. терминов «robustness/ruggedness») можно определить как оценку способности методики оставаться неизменной при каких-либо отклонениях в параметрах метода [ICH, Text on Validation of Analytical Procedures, 1994]. Таким образом, цель тестирования робастности заключается в определении диапазона отклонений параметров метода, при соблюдении которого гарантирована надежность (т. е. прохождение валидации) метода в другой лаборатории.

2.3 Фармакокинетический анализ

2.3.1 Некамерный фармакокинетический анализ



Рисунок 12 – График типичной зависимости «концентрация препарата - время» после однократного приема лекарства внутрь

В исследованиях БЭ для каждого участника были получены данные «концентрация – время» после приема каждого из сравниваемых (референсного и тестируемого)¹⁴ препаратов. На Рисунке 12 схематически изображен график зависимости концентрации препарата от времени при однократном приеме внутрь (с точками, означающими заборы крови).

Собранные данные «концентрация–время» подвергали НКА с определением ФК-параметров для каждого участника:

- ◆ Cmax – максимальная концентрация ЛС на фактической кривой «концентрация - время», определяется непосредственно по измеренным значениям концентрации;
- ◆ Tmax – время достижения максимальной плазменной концентрации (Cmax), определяется как время забора образца с максимальной концентрацией;

¹⁴ Референсный препарат или препарат сравнения (R) – оригинальный лекарственный препарат (оригинал), в исследовании биоэквивалентности является эталоном, с которым сравнивается воспроизведенный лекарственный препарат (генерик). Тестируемый препарат (Т) – воспроизведенный лекарственный препарат (генерик), сравниваемый в исследовании биоэквивалентности с оригинальным лекарственным препаратом.

- ◆ λz – константа элиминации в терминальной (лог-линейной) фазе, вычисляется как тангенс угла наклона графика «Ln концентрации - время» на участке моноэкспоненциального снижения концентрации;
- ◆ AUC_t – площадь под кривой «концентрация ЛС в плазме крови - время» в интервале времени от нуля (прием препарата) до момента отбора последней пробы биоматериала (в которой была измерена концентрация), в НКА вычисляли линейным трапецеидальным методом (с линейной интерполяцией);
- ◆ AUC_{inf} – площадь под кривой «концентрация ЛС в плазме крови - время», в интервале времени от нуля (прием препарата), экстраполированная до бесконечности, вычисляется как сумма (AUC_t + C_{last}/λz), где C_{last} - последняя измеренная концентрация (выше НПКО);
- ◆ T_{1/2} – период полувыведения в терминальной фазе, рассчитывается путем анализа линейной регрессии терминальной (моноэкспоненциальной) части кривой «лог-концентрация - время», T_{1/2} вычисляется на основе λz по формуле: $t_{1/2} = \ln(2)/\lambda z$.

Для сравнения биодоступности ЛС для каждого участника определяли следующие величины:

- ◆ f – относительная степень всасывания (относительная биодоступность) ЛС, определяемая отношением AUC_{inf} (T)/AUC_{inf} (R);
- ◆ f' – относительная степень всасывания (относительная биодоступность) ЛС, определяемая отношением AUC_t (T)/AUC_t (R);
- ◆ f'' – отношение C_{max} (T)/C_{max} (R).

Рассчитанные индивидуальные ФК-параметры анализировали с установлением популяционных средних и прочих описательных статистик: стандартное отклонение (SD), стандартная ошибка среднего (SE), 95% доверительный интервал (95% ДИ) среднего, медиана, минимум, максимум и разброс.

ФК-анализ, расчет описательных статистик, дисперсионный анализ и тестирование биоэквивалентности выполняли в специализированной программе WinNonlin (v 5.2). Статистическая обработка и оформление результатов проводилось с помощью пакетов программного обеспечения MS Office Excel (v. 2010-2016) и IBM SPSS Statistics, v. 22. Методы статистического анализа определялись характером гипотезы и типом данных.

2.3.2 Популяционное моделирование

Для популяционного фармакокинетического анализа использовалась программа Monolix® v.4.2 (Lixoft, Франция), от франц. «MOdèles NOn LInéaires à effets miXtes» – нелинейное

моделирование смешанных эффектов (Рисунок 13). Доза, интервал дозирования, наряду со значениями концентрации и времени ее измерения, а также индивидуальные характеристики участников исследования, явно задаются в исходном массиве данных (Приложение В).

Построение популяционных моделей выполнялось на данных полного профиля «концентрация-время» из проведенных исследований БЭ без байесовского функционала для независимости характеристик модели. Для устранения мешающих факторов и связанности наблюдений при моделировании использовали данные после приема референсных препаратов. Структуру внутрииндивидуальной (IOV – от англ. «interoccasion variability») вариации в модель на этом этапе не внедряли.

Для оценки стабильности популяционных средних пул данных, собранных после приема препарата-теста (Т), подвергался независимому моделированию.

Моделирование многократного приема выполняли на основе популяционных параметров, полученных при однократном приеме, в модуле Lixoft Mlxplore2019R2 или программе WinNonLin. Моделирование кинетики АМ РИС у пациентов выполняли с применением байесовского функционала с учетом характеристик модели, разработанной по данным однократного приема.

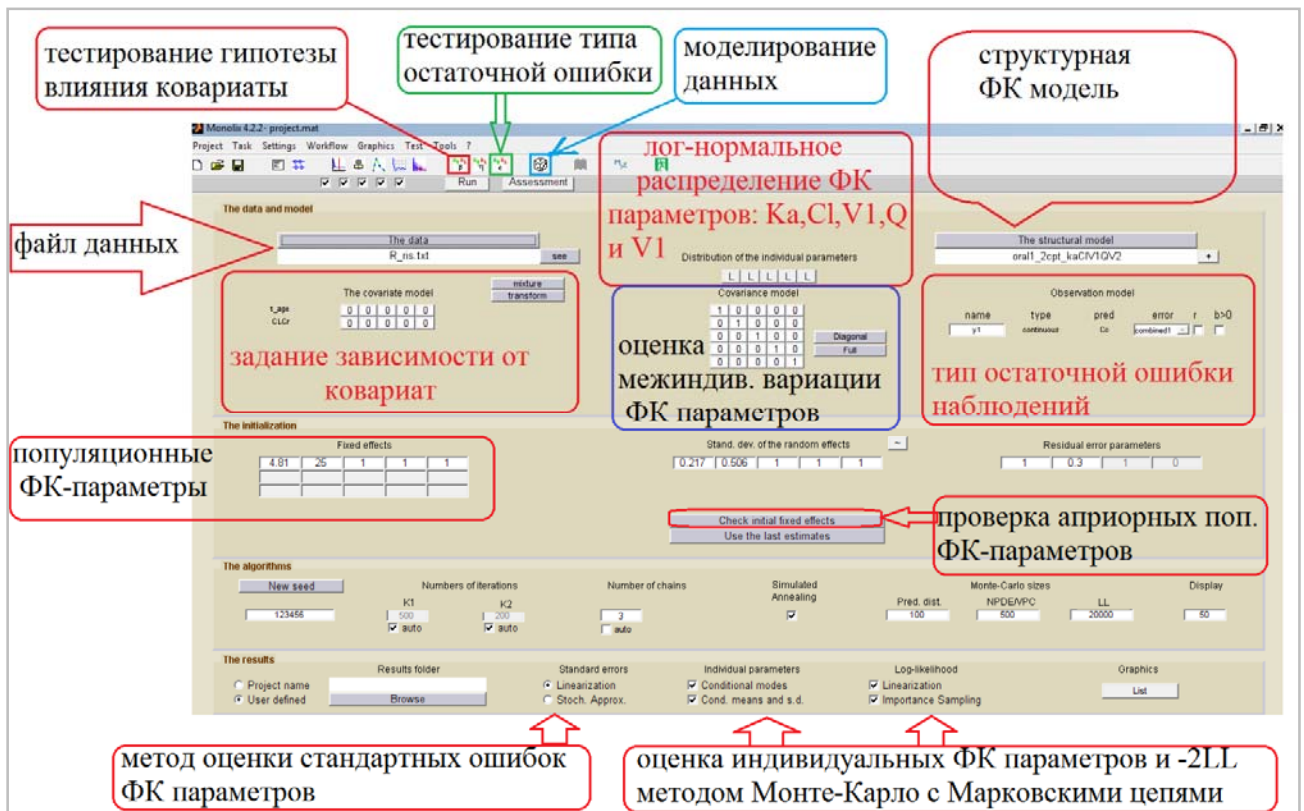


Рисунок 13 – Рабочее окно программы Monolix v.2.4

Популяционный фармакокинетический анализ включал пошаговый алгоритм:

- 1) определение структуры ФК-модели;
- 2) изучение типа распределения остатков;
- 3) вычисление популяционных характеристик;
- 4) вычисление индивидуальных ФК-параметров с тестированием влияния ковариат, оценка ошибок фиксированных (популяционных средних – Θ и коэффициентов при ковариатах, включенных в модель) и случайных эффектов (матрица Ω величин η);
- 5) проверка стабильности итоговой модели.

Подбор структурной фармакокинетической модели

Определение структурной ФК-модели, лучше всего формализующей измеренные концентрации, основано на максимизации ее предсказательной ценности нахождением максимума функции правдоподобия, который соответствует минимальным значениям информационных критериев: Байеса (BIC), Акаике (AIC), а также собственно величины $-2LL$ ¹⁵.

Модель валидировали с помощью графиков регрессии предсказанных и измеренных концентраций, а также диаграмм зависимости взвешенных остатков индивидуального прогноза (IWRES) от времени и концентрации. Для каждого времени наблюдения 90%-ный межпроцентильный интервал для измеренных концентраций должен перекрываться соответствующим диапазоном, полученным с помощью тестируемой модели, что отображается на графике рс-VPC (график проверки предсказательности модели при откорректированном прогнозе) (Bergstrand M. et al, 2011). Дополнительно использовали метод NPC (численный метод проверки предсказательности модели).

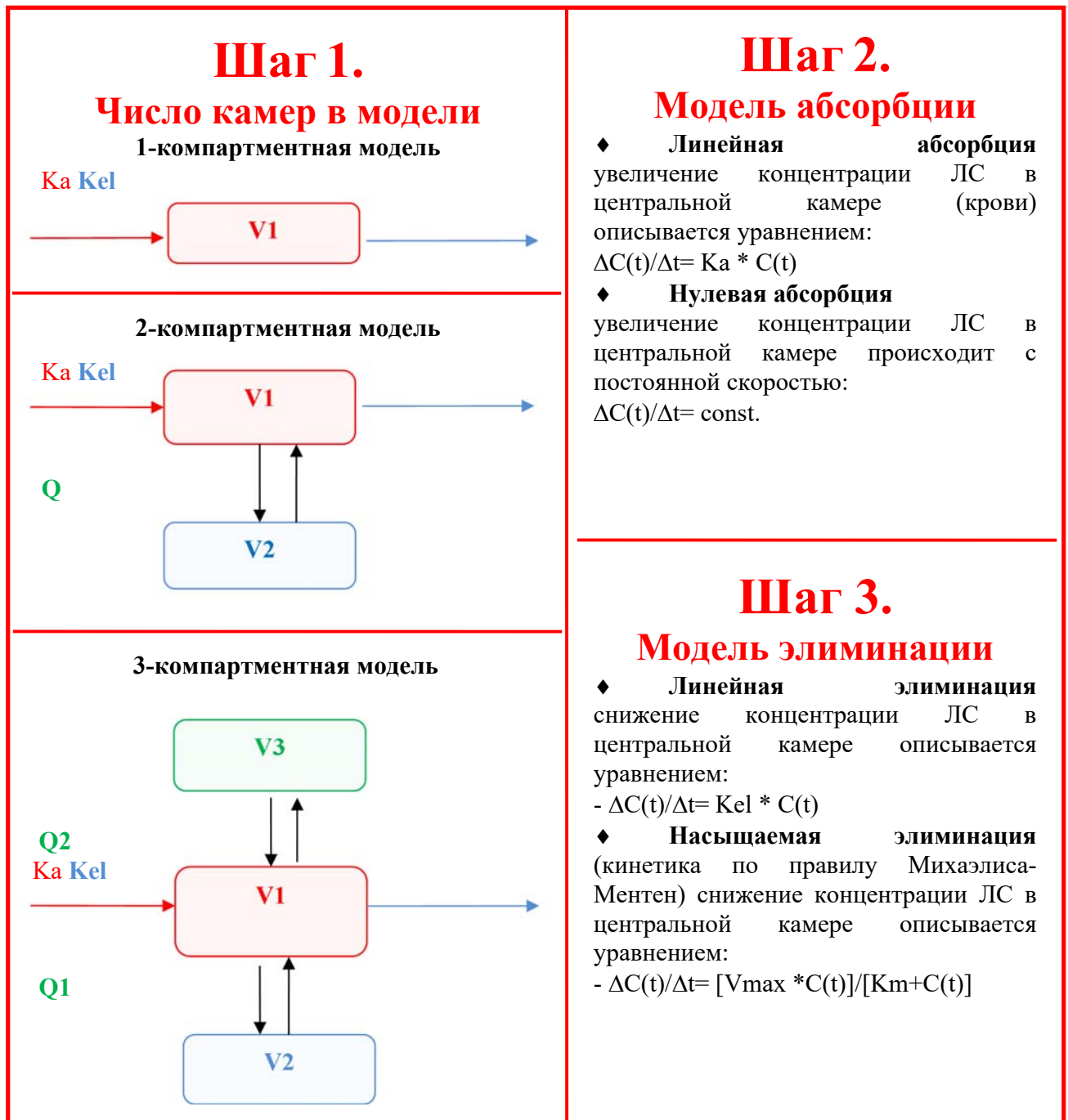
Тестирование различных структурных ФК-моделей проводилось поэтапно при равномерном распределении остатков: сначала подбирается количество компартментов (камер), затем характер абсорбции и элиминации (Рисунок 14).

¹⁵ Информационный критерий – мера относительного качества статистической модели, характеризующая точность описания моделью экспериментальных данных. Эти критерии применяются в методе максимального правдоподобия и рассчитываются на основе функции правдоподобия (L) по формулам:

AIC = $2P - 2 * \ln(L)$, где P - общее количество параметров, оцениваемых моделью (например, для 2х-камерной модели их 5: Ka, CL, V1, Q и V2);

BIC = $\ln(N) P - 2 * \ln(L)$, где P - общее количество параметров, оцениваемых моделью, а N - количество субъектов;

$-2LL$ – лог-производная функции правдоподобия: $-2 * \ln(L)$. Чем больше правдоподобие – тем меньше величина $-2 * \ln(L)$, и, соответственно, меньше величина информационных критериев.



Примечание: V_1 – объем распределения в центральной камере, V_2 и V_3 объемы распределения в периферических камерах, K_a – константа абсорбции, K_{el} – константа элиминации, Q – межкамерный клиренс, V_{max} – максимальная скорость ферментативной реакции, K_m – константа Михаэлиса, $\Delta C(t)/\Delta t$ – производная графика «концентрация-время» в точке t , отражающая скорость изменения концентрации в этой временной точке, $C(t)$ – концентрация ЛС в крови в момент времени t .

Рисунок 14 – Основные ФК-модели, соответствующие приему лекарства внутрь

Анализ остатков

Характер распределения остатков устанавливали пошаговой минимизацией информационных критериев или с помощью теста отношения правдоподобия (LRT¹⁶, от англ. «likelihood-ratio test») с дальнейшей верификацией графическим анализом диаграммы рассеяния IWRES в зависимости от концентрации и времени. Кроме того, важно исследовать распределение нормализованных остатков (NPDE). Остатки должны быть равномерно распределены – не зависеть от времени ФК-заборов или уровня предсказанной концентрации, кроме того распределение остатков должно быть центрировано в нуле. Оценка объективной функции (правдоподобия) осуществляется с помощью алгоритма SAEM.

Подбор типа распределения остатков пошаговым сравнением разных распределений, например: постоянная → пропорциональная → экспоненциальная → комбинированная остаточная ошибка. Р-величина теста менее 0,05 означает лучшую точность предсказаний для новой модели. При этом изначальную модель остатков (H0) отклоняют, а тестируемую (H1) принимают. Последнюю далее сравнивают со следующим типом распределения.

В общем виде концентрация ЛС, измеренная у субъекта i в момент времени j может быть выражена в виде формулы: $Y_{ij}=f(\Theta_i) + \epsilon_{ij}$, (1)

где Y_{ij} – наблюдаемая (измеренная) концентрация у i -того субъекта во время j -того измерения концентрация ЛС;

f – модельная функция;

Θ_i – набор (вектор) индивидуальных ФК-параметров (фиксированных эффектов) субъекта i ;

ϵ_{ij} – остаточная ошибка, разность между предсказанной и измеренной концентрациями у субъекта i при заборе крови в момент времени j (Рисунок 15).

¹⁶ Тест отношения вероятностей (LRT) вычисляется по формуле: $LRT = 2 (\log L1 - \log L0)$, где $L1$ – правдоподобие альтернативной гипотезы, а $L0$ – нулевой гипотезы; LRT применяется для сравнения правдоподобия двух гипотез.

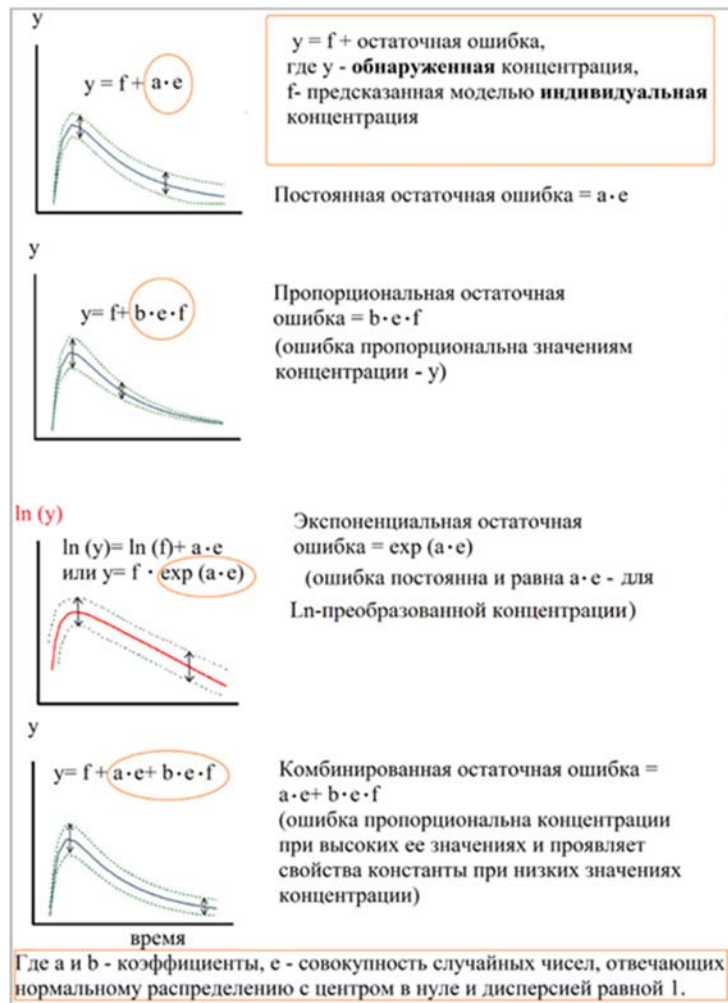


Рисунок 15 – Моделирование остаточной ошибки

Существует несколько паттернов распределения остатков, например, постоянный, пропорциональный, экспоненциальный, комбинированный, есть и более сложные комбинированные типы. Постоянная остаточная ошибка по модулю имеет равномерный характер, не зависит от предсказанной концентрации, отражая лишь «системный шум». Этот тип связывают с погрешностью аналитического метода или отклонениями во времени забора биоматериала. Пропорциональная остаточная ошибка возрастает соразмерно увеличению концентрации, что часто связано с большей вариабельностью K_a , влияющей на уровень максимальных концентраций [Karlsson M.O. et al., 1995]. Комбинированная остаточная ошибка наблюдается при сочетании причин, характерных для постоянной и пропорциональной ошибок. Экспоненциальный характер распределения остатков может означать взаимосвязь (скоррелированность) остатков ФК-модели (η) и остаточной ошибки концентраций (ϵ) [Mould, D. R, Upton R. N., 2013; Karlsson M.O. et al., 1995].

Также существуют различные типы ошибок, комбинирующие вышеперечисленные компоненты (Рисунок 15).

Получение популяционных характеристик

Определение популяционных ФК-параметров основано на оценке объективной функции (правдоподобия), выполняемой с помощью итеративного алгоритма SAEM (Рисунок 16).

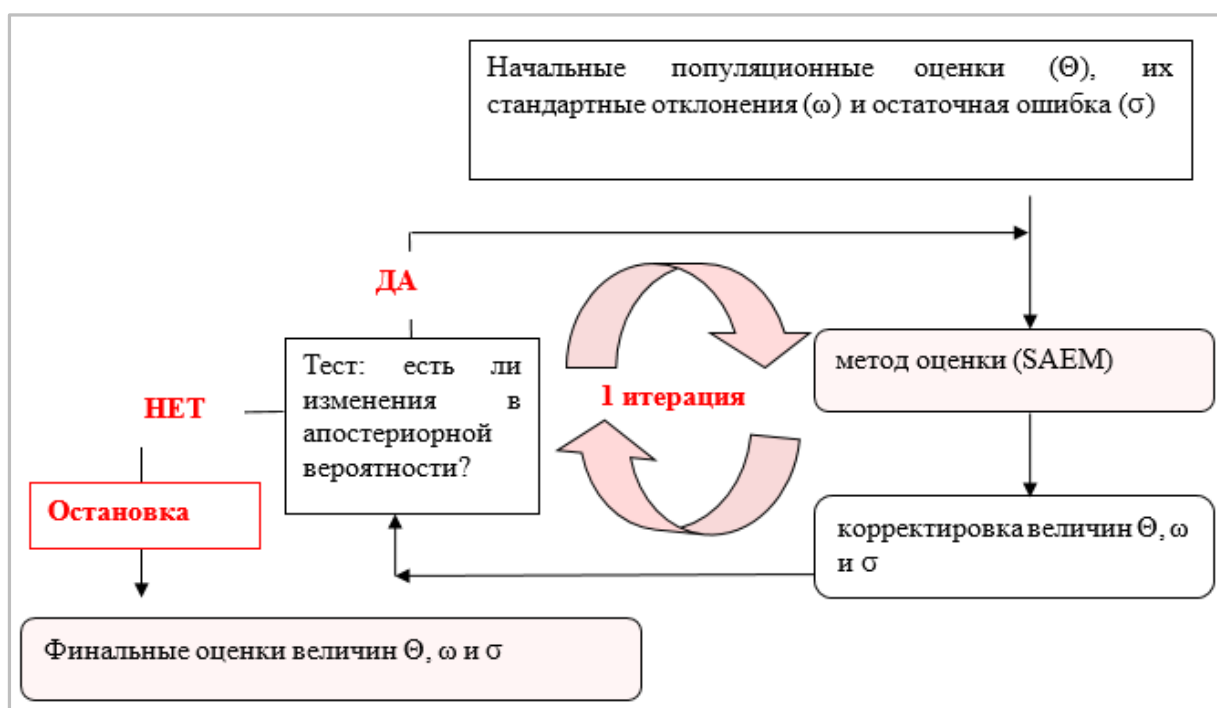


Рисунок 16 – Схема итерационного алгоритма SAEM

Во время ряда итераций последовательно подбираются ожидаемые популяционные оценки ФК-параметров, лучше всего характеризующие фактически измеренные концентрации. При этом также определяются линеаризованные стандартные ошибки, отклонения и дисперсии популяционных оценок, а также остатки предсказаний модели.

Получение индивидуальных оценок и тестирование влияния ковариат

Индивидуальные ФК-параметры оценивают с учётом ожидаемых популяционных средних. Вычисление этих параметров проводится как без учёта параметров распределения методом итераций (опция в программе «Conditional mode»), так и с учётом параметров распределения – в комбинации с Марковскими цепями Монте-Карло, по достижении

сходимости которых вычисляются условные средние для каждого индивида (опция «Conditional distribution»).

Оценка ошибок фиксированных (популяционных средних – Θ) и случайных эффектов (матрица Ω величин η) проводится методом стохастической (вероятностной) аппроксимации. Изучение межиндивидуальной вариации ФК-параметров (связь индивидуальных ошибок ФК-параметров η с ковариатами) проводится с помощью визуального анализа графиков рассеяния и теста Вальда для выбранных ковариат.

Кроме того, в версии Monolix 2019 появилась возможность дополнительного тестирования ковариат с помощью критерия Пирсона и простого дисперсионного анализа ANOVA. Тестирование взаимосвязи ФК-параметра с ковариатами выполняется при их пошаговом добавлении и удалении. По завершении исследования межиндивидуальной ФК-вариации выполняется построение финальной популяционной модели, учитывающей обнаруженные зависимости.

Тестирование влияния и дальнейшее включение ковариат в модель, прежде всего, должно основываться на предположениях, имеющих физиологический смысл. Как и в обычном регрессионном анализе, важно тестировать возможность взаимосвязи предикторов. Однако, в отличие от него, смешанные модели позволяют включать в модель взаимодействие предикторов без снижения точности предсказаний.

В ФК имеется ряд общих закономерностей. Так, клиренс креатинина (КлКр) отражая почечную функцию, будет коррелировать с клиренсом препаратов, в значительной степени элиминируемых почками. Идеальная масса тела (IBW), отражая массу метаболически активной части организма, может быть предиктором клиренса у препаратов, которые элиминируются в основном путём биотрансформации. Распределение большинства препаратов часто определяется массой, а для липофильных препаратов – индексом массы тела (ИМТ). Отсюда следует целесообразность рассмотрения величин КлКр, массы тела, ИМТ, IBW и BSA, как возможных регрессоров при построении ФК-моделей. Для расчёта этих переменных можно использовать следующие формулы [Мирошниченко И. И., 2011]:

$$\text{КлКр (мл/мин)} = \frac{1,228 \cdot [140 - \text{возраст}] \cdot \text{вес тела (кг)} \cdot 0,85 \text{ (для женщин)}}{\text{креатинин плазмы (мкмоль/л)}} \quad (\text{Формула 2})$$

$$\text{ИМТ} = \text{масса/рост}^2 (\text{кг/см}^2) \quad (\text{Формула 3})$$

$$BSA = \sqrt{\frac{\text{рост (м)} \times \text{вес (кг)}}{3600}} \quad (\text{Формула 4})$$

$$IBW = 50 + 2,3(\text{рост в см} - 60) \text{ для мужчин} \quad (\text{Формула 5})$$

$$IBW = 45,5 + 2,3(\text{рост в см} - 60) \text{ для женщин}$$

Влияние предикторов на ФК-параметры оценивается пошаговым алгоритмом: сначала в модель по одной включаются ковариаты с достоверной предсказательной способностью (при $p < 0,05$), а затем тестируется удаление ковариат (в порядке возрастания их предсказательной значимости) (при $p < 0,01$) с помощью критерия LRT. Далее с помощью критерия Вальда тестируется значимость коэффициентов фиксированных эффектов/параметров для выбранных ковариат. Такое последовательное исключение любой переменной, которая перестаёт быть значимой при введении в модель последующей переменной, обеспечивает стабильность финальной популяционной модели. Иногда переменные ФК-предикторов могут требовать дополнительных преобразований (центрирование, лог-преобразование), что может усиливать выявленные зависимости (делать их более тесными). Улучшение предсказательности новой модели с ковариатами подтверждается снижением величины информационных критериев. (Рисунок 17).

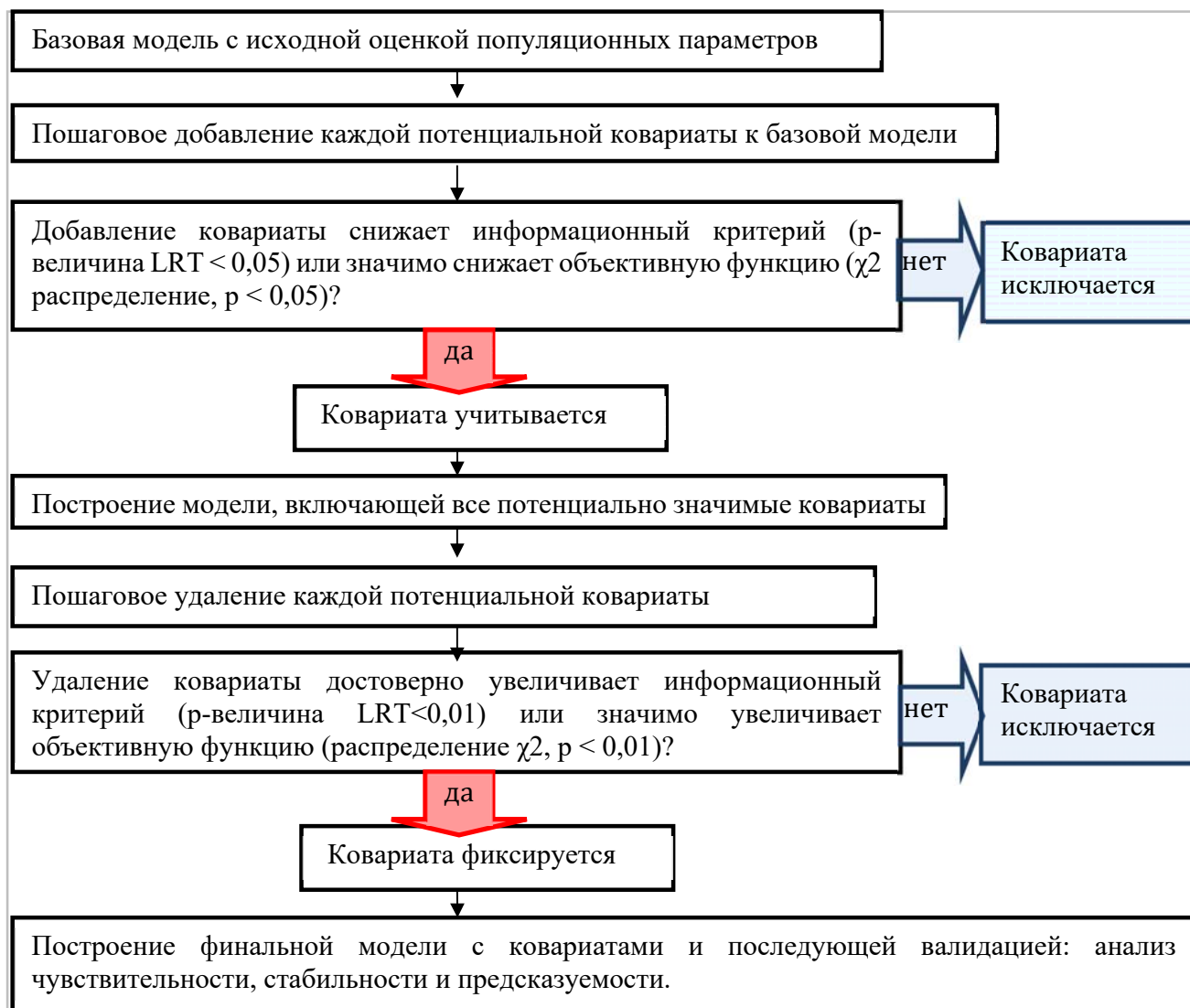


Рисунок 17 – Алгоритм тестирования ковариат в нелинейной модели смешанных эффектов

Стабильность итоговой ФК-модели

Стабильность итоговой модели оценивают с помощью внутренней валидации. В модуле «Mlxplorg» многократно моделируется (1000 раз) пул данных с параметрами, определенными в итоговой модели. Стабильность популяционных оценок (медиана – Θ и ω) определяют сравнением величин, полученных на исходных и смоделированных данных. Модель признают стабильной, если эти параметры не имеют статистически значимых различий. 95%-ный ДИ рассчитывается как величина $\pm 1,96 \times SE$. Кроме того прогностическую эффективность разработанных моделей предварительно проверяют по графику $pc-VPC$.

В формате внешней валидации для оценки стабильности популяционных оценок пул данных, собранных после приема препарата-теста (Т), подвергали независимому моделированию с определением популяционных ФК-параметров без включения байесовского функционала.

Возможности применения популяционных характеристик, полученных после однократного приема, для моделирования данных после многократного приема, проводили симуляцию многократного дозирования на основе установленных популяционных параметров в программах WinNonLin в. 5.2. и Lixoft Mlxplore с расчетом стационарных концентраций и их сравнением с имеющимися сведениями.

2.3.3 Тестирование биоэквивалентности

Тестирование БЭ выполняли для параметров AUCt и Cmax. Для этого ln-преобразованные величины подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) с тестированием влияния 4-х факторов: участник исследования, последовательность приема препаратов (R→T или T→R), период исследования (1-й или 2-й) и препарат (T или R). Затем после обратного преобразования ln-трансформированных величин рассчитывали 90% ДИ для отношения (T/R) средних геометрических параметров. Препараты считают биоэквивалентными, если границы 90% ДИ для Cmax и AUCt находятся в пределах 80%–125%. При сильной вариабельности (>30%) допустимые границы БЭ для Cmax вычисляют по формуле: $[U, L] = \exp [\pm 0,76 \times Swr]$, где Swr – внутрииндивидуальное стандартное отклонение ln-преобразованной величины Cmax оригинального препарата. Таким образом, установление БЭ основывалось на двух односторонних тестах Шуирманна, выполнялось в программе WinNonlin и заключалось в тестировании гипотез:

$$H_0: 90\% \text{ДИ } \beta [T/R] \{ \leq \ln(0,8) \text{ или } \geq \ln(1,25) \}$$

$$H_1: 90\% \text{ДИ } \beta [T/R] \in [\ln(0,8); \ln(1,25)],$$

где β – ФК-параметр, вычисленный НКА (AUCt, Cmax) или модельным методом (AUCt, Cmax и Ka).

Сравнение препаратов по Tmax (непараметрическая дискретная величина) выполняли на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Тестирование БЭ препаратов рисперидона включало дополнительное тестирование БЭ его активного метаболита, в соответствии с общепринятой регуляторной практикой [Руководство по экспертизе лекарственных средств, Том I, под ред. Миронова А. Н., 2013].

Дополнительно индивидуальные величины AUCt и Cmax рассчитывали путем анализа функции «концентрация-время», формализующей камерную кинетическую модель. Для этого в статистическую структуру модели внутрииндивидуальную вариацию включали только для

константы абсорбции K_a , так как остальные параметры не должны варьировать в пределах одного субъекта в исследованиях БЭ. Далее для AUC_t, C_{max} и K_a (камерный эквивалент параметров биодоступности) строили двусторонние 90% ДИ и выполняли типовой тест Шуирманна.

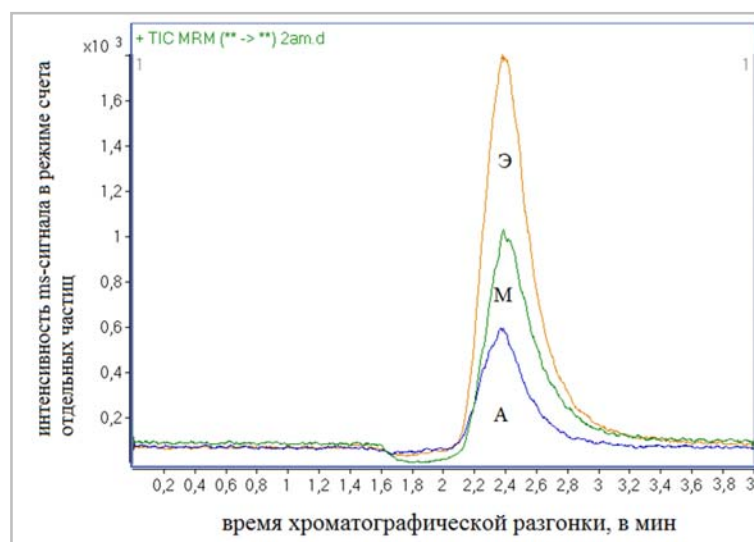
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Разработка и оптимизация методов количественного определения

3.1.1 Оптимизация пробоподготовки

После приема изучаемых препаратов в исследованиях БЭ их концентрации были достаточно низки. Так после приема 1 мг анастрозола его уровень в плазме не превышал 20 нг/мл. Это требовало высокую чувствительность у разрабатываемых методик, для достижения чего помимо метода детекции следовало оптимизировать пробоподготовку, обеспечивающей максимальную очистку образцов от примесей с достаточной экстракцией и концентрированием аналита. Этими преимуществами обладает ТФЭ [Meadows K. et al., 2012].

Для анастрозола использовали картриджи (патроны) AccuBond SPE ODS-C18 (1 мл/100 мг; Agilent). Для подбора элюента сравнивали MeCN, MeOH и этанол. Этанол в качестве элюента максимизировал отклик сигнала. Время выхода анастрозола составляло $2,40 \pm 0,02$ мин. (Рисунок 18).



Примечание: А – MeCN, М – MeOH, Э – этанол.

Рисунок 18 – Хроматограммы (MRM) стандартных образцов, содержащих анастрозол в концентрации 2 нг/мл

Представленная на Рисунке 18 хроматограмма была получена при скорости потока ПФ - 0,2 мл/мин. В дальнейшем при увеличении скорости ПФ до 0,3 мл/мин и повышении температуры

колонок с 20°С до 25°С сократили время выхода целевых аналитов до $2,05 \pm 0,03$ мин. Степень экстракции анастрозола в среднем составила $88,2 \pm 1,5\%$.

Для ТФЭ летрозола и нейролептиков использовали монолитные картриджи SOLA-RP (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Из-за периодической закупорки картриджей для осаждения белков тестировали различные реагенты при различных рН, что неизменно усиливало ионную супрессию (МФ составлял более 50%). Это, по-видимому, связано с повышением в элюате содержания фосфолипидов и жирных кислот, увеличивающих поверхностное натяжение капель при десольватации, что существенно затрудняет ионизацию электросредем [Chambers E. et al., 2007; Ярошенко Д. В., 2014]. Поэтому осаждение белков перед ТФЭ не проводили, а проблему закупорки картриджей SOLA решили предварительной обработкой образцов ультразвуком.

Степень экстракции определяли как отношение площади пиков аналита образцов КК к площадям пиков, полученных после добавления стандартных растворов к холостой матрице (с получением тех же концентраций). Степень экстракции ингибиторов ароматазы превышала 95%.

Экстракция смеси АП из плазмы имела дополнительные сложности. АП имеют разные константы диссоциации, при этом максимальная экстракция каждого компонента наблюдается при разных рН матрицы и элюента. Поэтому общие «усредненные» условия пробоподготовки для смеси аналитов будут снижать долю извлечения каждого из них в отдельности, что особенно характерно для жидкостной экстракции [Maurer H. N., 2005]. ТФЭ в этом отношении сравнительно лучше, поэтому и была выбрана для обработки образцов смеси АП (картриджи SOLA). В работах других исследователей в количественном анализе смеси АП также предлагается использовать ТФЭ [Kratzsch C. et al., 2003; Josefsson M. et al., 2003]. Степень экстракции АП варьировала от 82% (зуклопентиксол) до 88% (арипипразол).

3.1.2 Пробоподготовка образцов плазмы крови человека

Для подготовки проб анастрозола к 450 мкл плазмы добавляли 50 мкл внутреннего стандарта (ВС) - раствора арипипразола (100 нг/мл) в растворе вода: метанол (MeOH) в соотношении 50%:50% (по объему). Картридж AccuBond SPE ODS-C18 промывали последовательно 3x1 мл этанола и 3x1 мл деионизированной воды. Затем 0,5 мл плазмы разбавляли 0,5 мл воды, перемешивали на вибровстряхивателе Vortex и центрифугировали 5 мин при 5000 об/мин. Супернатант наносили на картридж, который промывали 3x1 мл 5 % водного раствора этанола, после чего анастрозол элюировали 1 мл этанола в течение 1 минуты. Полученный элюат упаривали досуха под током азота

при температуре 5 °С. Осадок растворяли в 250 мкл MeOH, перемешивая на вибровстряхивателе. Аликвоту объемом 5 мкл инжектировали в хроматограф.

Для подготовки проб летрозолола к 400 мкл плазмы добавляли 50 мкл ВС – раствора (100 нг/мл) оланзапина в растворе MeOH: вода в соотношении 50%:50% (по объему) и 50 мкл дистиллированной воды, после чего образцы подвергали воздействию ультразвука. Для ТФЭ использовали SOLA-RP картриджи (Thermo Fisher Scientific Inc, США) и вакуумный коллектор (Манифоулд 12 pos, Agilent). Картридж последовательно промывали 500 мкл MeOH, уравнивали 500 мкл деионизированной воды. Плазму крови в объеме 500 мкл наносили на патроны, которые затем промывали 500 мкл 5% водного раствора MeOH. Затем летрозолол элюировали 500 мкл MeOH в течение 1 мин. Полученный элюат упаривали досуха под током азота при температуре 50°С. Осадок растворяли в 200 мкл подвижной фазы (ПФ) (100% ацетонитрил (MeCN)) и перемешивали на вибровстряхивателе в течение 10 с. Раствор переносили в вials и инжектировали в хроматограф в объеме 5 мкл.

Пробоподготовку для количественного определения антипсихотиков осуществляли следующим образом. К 400 мкл плазмы добавляли 50 мкл ВС - анастрозола (500 нг/мл) в растворе MeOH: вода в соотношении 50%:50% (по объему) и 50 мкл дистиллированной воды, после чего образцы подвергали воздействию ультразвука. Для ТФА использовали SOLA-RP картриджи (Thermo Fisher Scientific Inc, США) и вакуумный коллектор (Манифоулд 12 pos, Agilent). Картридж последовательно промывали 500 мкл MeOH, уравнивали 500 мкл деионизированной воды. Плазму крови общим объемом 500 мкл наносили на патроны, которые затем промывали 500 мкл 5% водного раствора MeOH. Затем элюирование проводили 500 мкл раствором 0,2% муравьиной кислоты в MeOH в течение 1 мин. Полученный элюат упаривали досуха под током азота при температуре 40°С с последующим восстановлением в 200 мкл MeOH, перемешивали на вибровстряхивателе в течение 10 с. Раствор переносили в вials и инжектировали в хроматограф в объеме 5 мкл.

3.1.3 Условия хроматографического анализа и параметры масс-спектрометрии для количественного определения целевых соединений

Ингибиторы ароматазы: анастрозол и летрозол

Максимальный отклик сигнала масс-детектора, соответствующий иону-предшественнику анастрозола, при регистрации в диапазоне 100–1000 m/z соответствовал величине 294,2 m/z (Рисунок 19).

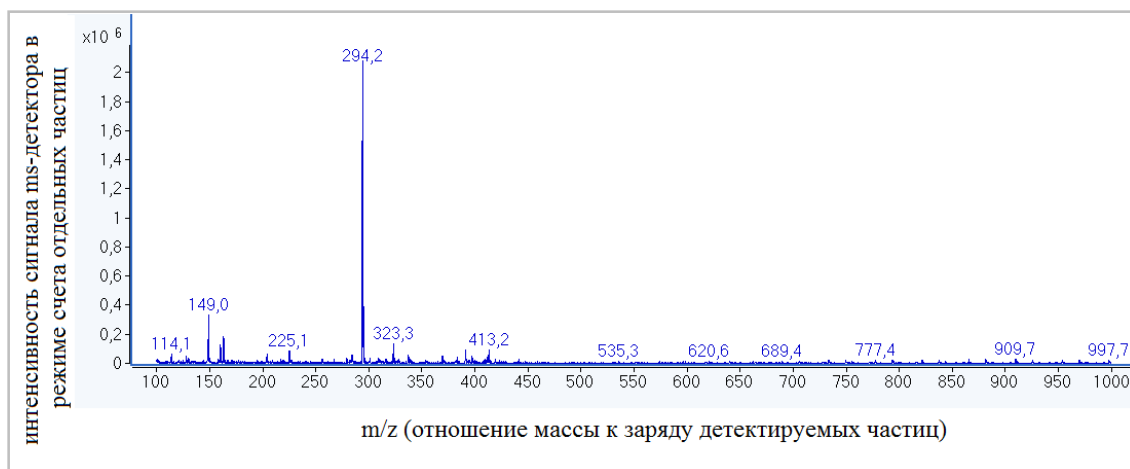


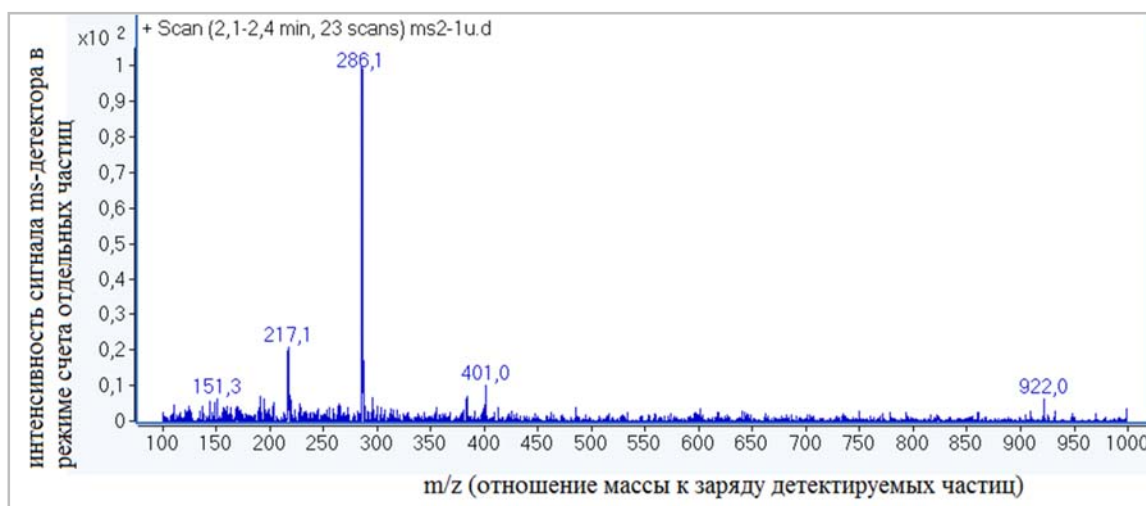
Рисунок 19 – Масс-спектр стандартного раствора анастрозола (1 мкг/мл, в MeOH) в режиме полного сканирования

В режиме фильтрации иона-предшественника на 1-м анализаторе (MS1) и сканировании всех образованных из него фрагментов сигнал родительского иона минимален, что говорит о полной фрагментации и оптимальном ее режиме (Рисунок 20).



Рисунок 20 – Определение m/z иона-продукта (анастрозол)

Аналогичным образом оптимизировали условия масс-спектрометрической детекции для летрозола (Рисунок 21, Рисунок 22).



Спектр, полученный в режиме полного сканирования в диапазоне детекции 100–1000 m/z . Зарегистрированный максимальный отклик масс-спектрометрического сигнала соответствует родительскому иону летрозола - 286,1 m/z .

Рисунок 21 – Полный масс-спектр стандартного раствора летрозола 1 мкг/мл в MeOH

При сравнении интенсивности сигнала от протонированных молекул (родительских ионов) при разных величинах F_r (50, 70, 90, 100, 120, и 150 вольт) было установлено, что оптимальный отклик сигнала достигается при напряжении 90 В. Дальнейшее сравнение величин F_r (85, 90 и 95 В) показало оптимальный отклик сигнала материнского иона при величине 95В. Также оптимизировали величину CE , при которой величина отклика от потока дочерних ионов была

максимальной – 25 В. На Рисунке 22 представлен полный спектр продукт-ионов, полученный при оптимальных величинах Fr и CE.



Рисунок 22 – Спектр дочерних ионов. Определение m/z иона-продукта (217,1) летрозола

Для количественного определения летрозола применяли электроспрей-ионизацию, при которой, по сравнению с APСI, характерна ионная супрессия, возрастающая в сочетании с ТФЭ [Liang, H. R et al., 2003]. Для минимизации этого феномена оптимизировали состав ПФ. В качестве основного растворителя исследовали MeOH и MeCN с добавлением в различных соотношениях ацетата аммония и муравьиной кислоты. Наилучший результат был получен при использовании ПФ: 100% MeCN (фаза В): 0,2 % раствор муравьиной кислоты в воде (фаза А), в соотношении 70:30 (по объему). Условия хроматографического анализа и параметры масс-спектрометрии для ИА приведены в Таблицах 11 и 12, соответственно.

Таблица 11 – Условия хроматографического анализа ингибиторов ароматазы

Целевой аналит	Анастрозол	Летрозол
Скорость потока	0,2 мл/мин	0,3 мл/мин
Подвижная фаза (элюент)	Элюент А: 0,2% раствор муравьиной кислоты в воде, Элюент В: 100% MeOH, Состав ПФ: 30% элюент А: 70% элюент В	Элюент А: 0,2% раствор муравьиной кислоты в воде, Элюент В: 100 % MeCN, Состав ПФ: 30% элюент А: 70% элюент В

Продолжение Таблицы 11

Стационарная фаза (колонка)	Zorbax Bonus-RP, 3,5 мкм, 100x2,1 мм (Agilent, США)	
Предколонка	5 мкм, 12,5x4,6 мм (Agilent, США)	
Температура колонки	25°C	20°C
Объем инъекции	5 мкл	
Общее время анализа	3 мин	
Время удерживания	2,05 ± 0,03 (анастрозол) 1,31 ± 0,04 (арипипразол)	2,10 ± 0,02 (летрозол) 1,31 ± 0,02 (оланзапин)

Таблица 12 – Условия масс-спектрометрического детектирования ИА

Целевой аналит	Анастрозол	Летрозол
Метод ионизации	APCI	ESI
Режим ионизации	Положительный (Positive)	
Тип сканирования	Режим множественного мониторинга масс (MRM)	
Параметры ионизации		
Расход газа	6 л/мин	8 л/мин
Температура газа	350 °C,	350 °C,
Температура испарителя	250°C,	250°C,
Коронный разряд	4 мкА	-
Напряжение капилляра	2000 В	4000 В
Давление небулайзера	25 psi.	25 psi.
Напряжение зоны фрагментации (Fr)	Анастрозол: 90 В BC (арипипразол): 100 В	Летрозол: 95 В BC (оланзапин): 95 В
Напряжение ячейки соударений (CE)	Анастрозол: 30 В BC (арипипразол): 30 В	Летрозол: 25 В BC (оланзапин): 25 В
Молекулярный ион (M + H) ⁺	m/z = 294,2 (анастрозол) m/z = 448,2 (арипипразол)	m/z = 286,1 (летрозол) m/z = 313,0 (оланзапин)
Дочерний ион	m/z = 225,1 (анастрозол) m/z = 285,1 (арипипразол)	m/z = 217,1 (летрозол) m/z = 256,0 (оланзапин)

Примечание: Psi - внесистемная единица давления (фунт-сила на квадратный дюйм), часто применяемая в США, численно равна 6894,8 Па.

Антипсихотические препараты

В соответствии с целью настоящей работы была поставлена задача разработки аналитической методики, пригодной для изучения популяционной фармакокинетики рисперидона. В последнее время в психиатрии наблюдается тенденция к политерапии [Centorrino F. et al., 2004; Langan J.,

Shajahan P., 2010; Correll C. et al., 2009]. Вместе с хорошими перспективами в плане уменьшения частоты обострений и увеличения длительности ремиссий в терапии шизофрении имеет место увеличение риска экстрапирамидных нарушений, антихолинэргических и других побочных явлений [Al- Khaja K. A. J. et al., 2012]. Поэтому для стандартизации оптимальных сочетаний и режима дозирования АП необходимо комплексное изучение ФК-взаимодействий, корреляций «концентрация – эффект», а также связи ФК с частотой и выраженностью нежелательных явлений. Такой подход особенно важен при проведении ТЛМ. Поэтому было важно разработать унифицированную аналитическую методику для определения нескольких АП, а также метаболитов при их наличии.

Арипипразол и его активный метаболит – дегидроарипипразол, характеризуются практически одинаковыми химическими и изоэлектрическими свойствами (в молекуле дегидроарипипразола «не хватает» только двух атомов водорода). Поэтому достичь хроматографического разделения этих веществ проблематично. Однако масс-селективная детекция позволяет выполнять качественный анализ, поэтому хроматографическое разделение не является непременным условием. При ионизации ESI для снижения ионной супрессии и, соответственно, увеличения чувствительности метода, необходим подбор состава и рН ПФ [Hua Y., Jenke D., 2012; Mannur V. S. et al., 2011]. Оптимальный отклик достигался при применении 0,2% раствора муравьиной кислоты в составе ПФ.

Метод позволяет определять содержание 5-ти АП (галоперидол, клозапин, арипипразол, рисперидон, зуклопентиксол) и 3-х активных метаболитов (9-гидроксирисперидон - активный метаболит рисперидона, норклозапин - активный метаболит клозапина, дегидроарипипразол - активный метаболит арипипразола) в плазме крови человека (Рисунок 23).

В качестве ВС изначально предполагали тестировать анастрозол и карбамазепин.

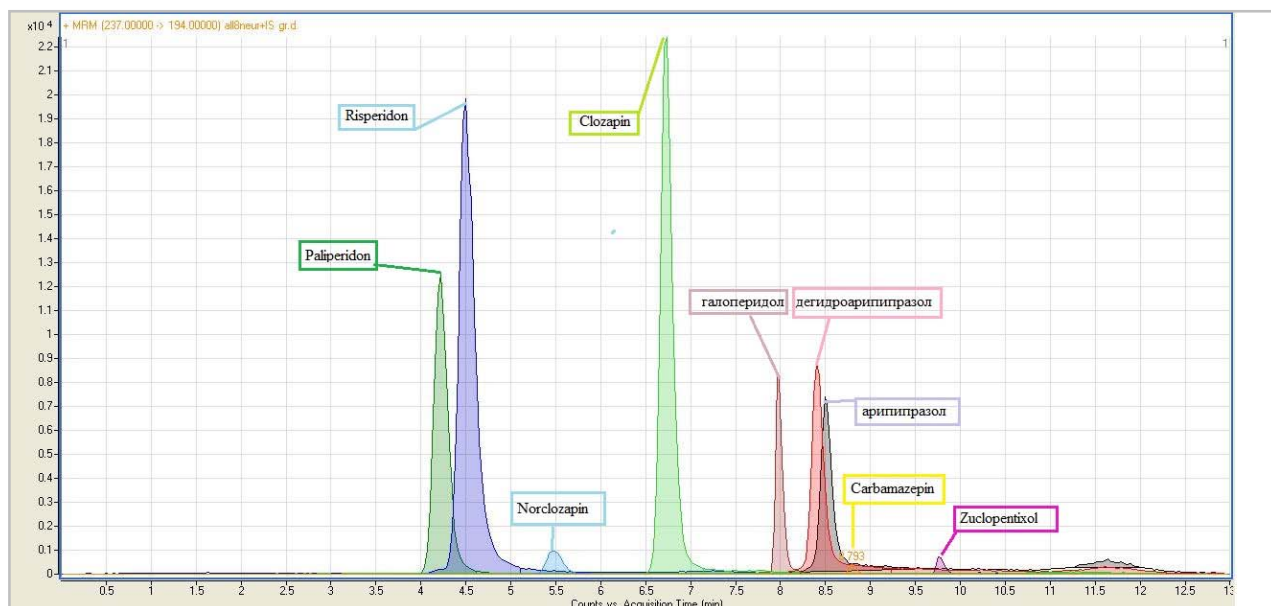


Рисунок 23 – Хроматограмма стандартного образца смеси нейролептиков и их активных метаболитов в концентрации 10 нг/мл (ВС – карбамазепин).

Карбамазепин обладает вполне приемлемыми характеристиками и может использоваться как ВС для количественного определения АП, что нежелательно в ТЛМ из-за возможной комедикации [Дубенко А.Е., Коростий В. И., 2013]. Поэтому в качестве ВС был выбран анастразол. Условия хроматографического анализа и параметры масс-спектрометрии для анализа смеси АП и их активных метаболитов приведены в Таблицах 13 и 14, соответственно.

Таблица 13 – Условия хроматографического разделения смеси АП

Параметр	Настройки
Ионизация	ESI
Режим	Положительная ионизация
Тип сканирования	MRM
Параметры ионизации	Расход азота – 6 л/мин, температура газа (азот высокой чистоты) – 250 °С
Состав ПФ	А: 0,2 % раствор муравьиной кислоты в воде, В: 0,2 % раствор муравьиной кислоты в MeOH

Продолжение Таблицы 13

Градиент ПФ	Время, мин	Фаза А, %	Фаза В, %
	0 – 7	40	60
	8	60	40
	10	40	60
	11 – 13	0	100
ВЭЖХ-условия	Колонка: Zorbax Eclipse-XDB-C18, температура колонки: 20°C, объем инъекции: 5 мкл.		

Таблица 14 – Условия масс-спектрометрического детектирования АП

Препарат	MRM	Время удерживания, мин	Fr, В	CE, В.
Арипипразол	448,2 → 285,2	8,5	100	30
Дегидроарипипразол	446,2 → 188,1	8,4	100	50
Галоперидол	376,2 → 165,0	8,0	135	20
Зуклопентиксол	401,2 → 231,0	9,7	135	40
Карбамазепин*	237,0 → 194,0	8,8	100	30
Анастрозол*	294,2 → 225,1	8,3	90	20
Клозапин	327,2 → 270,0	6,7	150	30
Норклозапин	448,2 → 285,1	5,5	140	35
9-ОН-рисперидон	427,3 → 207,2	4,2	135	30
Рисперидон	411,3 → 191,1	4,5	135	35

* Внутренние стандарты.

3.1.4 Установление калибровочных зависимостей

Анастрозол

Калибровочные стандарты готовили путем добавления к 400 мкл бланковой плазмы 50 мкл ВС (раствор арипипразола в смеси вода:MeOH в соотношении 50:50, по объему) в концентрации 100 нг/мл, а также 50 мкл стандартных растворов анастрозола (в растворе вода:MeOH, 50%:50%) в концентрации 2,5; 5,0; 10; 50; 100; 250 и 500 нг/мл. При этом финальные концентрации анастрозола в калибровочных стандартах составляли, соответственно, величины концентраций в 10 раз меньше, чем в добавляемых стандартных растворах: 0,25; 0,5; 1; 5; 10; 25 и 50 нг/мл.

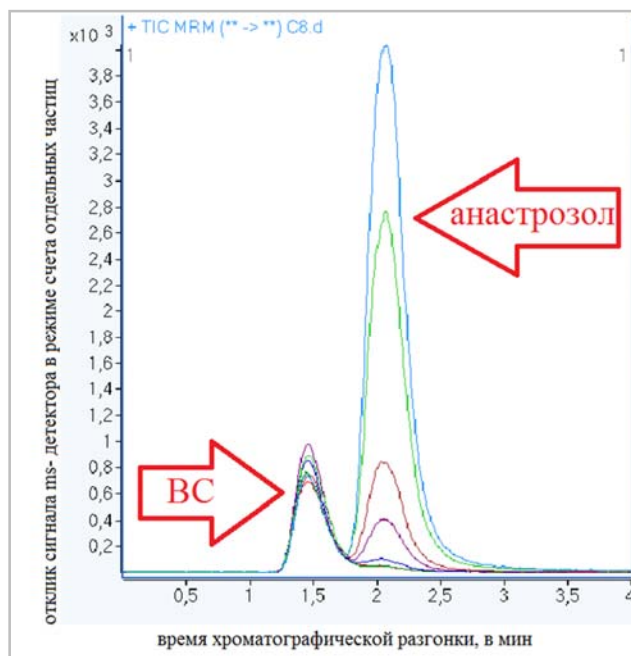


Рисунок 24 – Хроматограммы калибровочных стандартов анастрозола

На Рисунке 24 приведены хроматограммы калибровочных стандартов в концентрации от 0,25 до 50 нг/мл, представленные методом наложения.

Калибровочная зависимость характеризовалась линейностью и описывалась уравнением: $Y = -0,0089 + 0,1317 \cdot X$ (где Y – отношение площади под хроматографическим пиком анастрозола к площади под хроматографическим пиком ВС; X – концентрация анастрозола, нг/мл). Линейность калибровочной зависимости была продемонстрирована с коэффициентом детерминации $r^2 = 0,997$ (Рисунок 25).

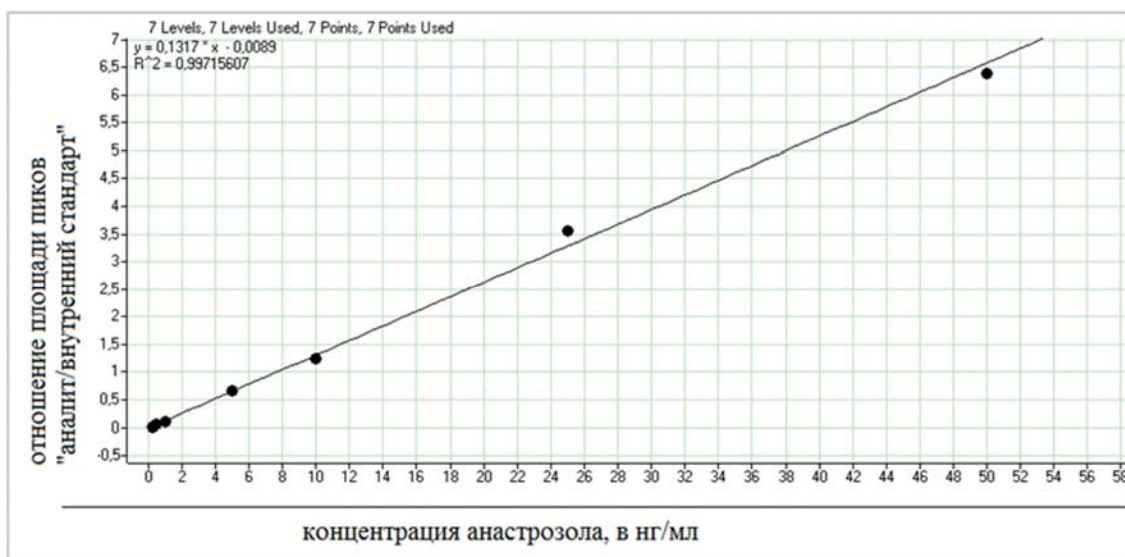


Рисунок 25 – Калибровочная зависимость для анастрозола, сформированная в программе Agilent MassHunter

Предел количественного определения анастрозола составил 0,25 нг/мл ($S/N = 9,21$). Калибровочная зависимость характеризовалась приемлемыми показателями точности (Таблица 15).

Таблица 15 – Линейность и точность калибровочной зависимости для анастрозола

Конц-ция (добавлено) нг/мл	Конц-ция (найдено) нг/мл	Точность, %	Площадь пика аналита	Площадь пика ВС	Отношение площадей пиков «аналит/ВС»
0,25	0,26	2,71	243	9749	0,02
0,500	0,496	-0,81	750	13300	0,06
1,00	0,96	-4,12	1754	14948	0,12
5,00	5,10	1,99	4204	6344	0,66
10,00	9,54	-4,58	16724	13402	1,25
25,00	27,15	8,62	55579	15579	3,57
50,00	48,49	-3,03	81898	12842	6,38

Летрозол

Для построения калибровочной зависимости готовили калибровочные стандарты путем добавления к 400 мкл бланковой плазмы 50 мкл стандартных растворов летрозол в смеси вода:MeOH в соотношении 50:50 (по объему) в концентрациях: 2,5; 5; 10; 50; 100; 250; 500 и 1000 нг/мл, а также 50 мкл ВС (раствор 100 нг/мл оланзапина в смеси MeOH:вода 50:50, по объему).

НПКО составил 0,25 нг/мл при отношении S/N 11,72 (Рисунок 26). При этом в калибровочных стандартах концентрации летрозола составили 0,25; 0,5; 1; 5; 10; 25 и 50 нг/мл при концентрации ВС 10 нг/мл (Рисунок 27).

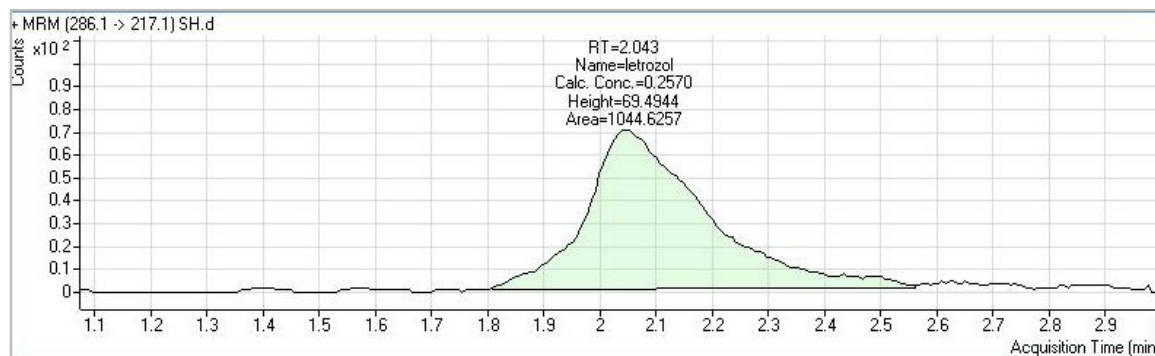
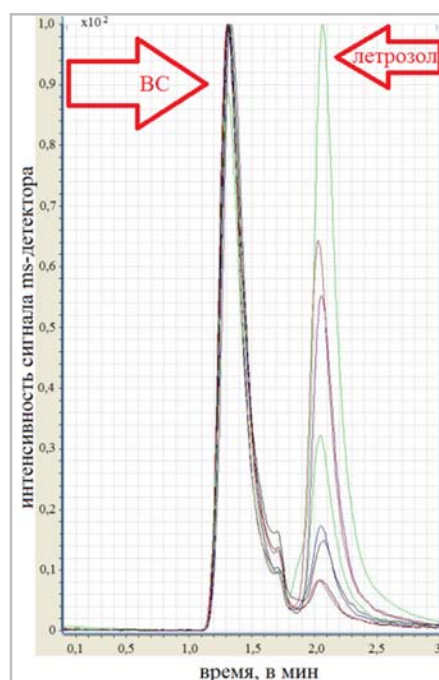


Рисунок 26 – Хроматограмма (в режиме MRM) образца, содержащего летрозол в концентрации, соответствующей НПКО



Примечание: Методом наложения представлены хроматограммы калибровочных стандартов летрозола в диапазоне концентраций от 0,25 до 100 нг/мл.

Рисунок 27 – Хроматограммы калибровочных стандартов (летрозол)

Калибровочная зависимость описывалась линейным уравнением: $Y = 0,0122 \cdot X + 0,0515$, где Y – отношение площадей пиков летрозола и ВС, X – концентрация летрозола с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,999$ (Рисунок 28).

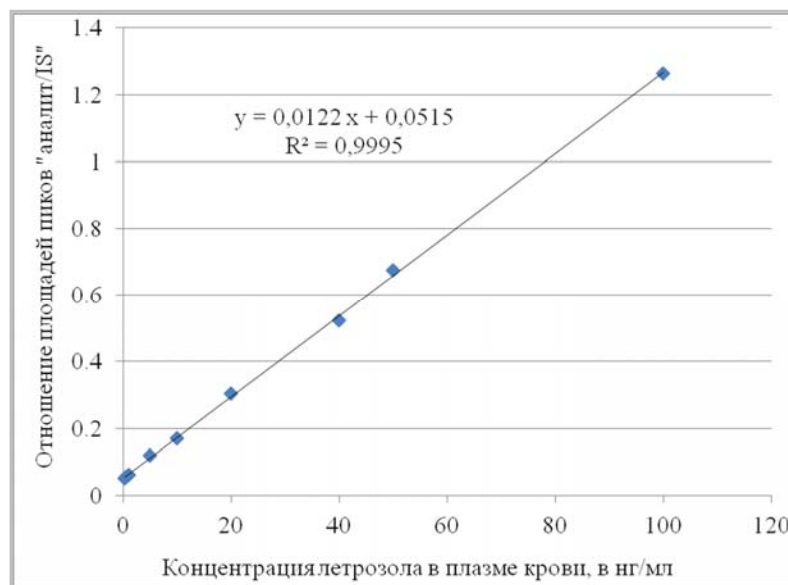


Рисунок 28 – График калибровочной зависимости летрозола

Калибровочная зависимость в диапазоне концентраций 0,25–100 нг/мл была линейной и обладала приемлемыми показателями точности (Таблица 16).

Таблица 16 – Линейность и точность калибровочной зависимости для летрозола

Конц-ция (добавлено) нг/мл	Конц-ция (найдено) нг/мл	Точность, %	Площадь пика аналита	Площадь пика ВС	Отношение площадей (аналит/ВС)
0,25	0,22	-13,81	4764	92368	0,052
0,50	0,46	-7,01	5111	93469	0,055
1,00	0,94	-6,24	6292	103886	0,061
5,00	5,53	10,55	11146	94733	0,118
10,00	9,69	-3,07	15316	90437	0,169
20,00	20,62	3,08	29222	96001	0,304
40,00	38,41	-3,99	49517	94730	0,523
50,00	50,93	1,86	67149	99445	0,675
100,00	99,98	-0,02	128646	101787	1,264

Антипсихотики

Маточные растворы каждого аналита (1 мг/мл) готовили в 100% метаноле. Далее методом серийных разведений получали концентрации 10000; 5000; 1000; 500; 250; 200; 100; 50; 25 и 10 нг/мл в смеси МеОН : вода (50:50, об/об). Дополнительно из маточных растворов готовили смесь из 8 аналитов в МеОН – с концентрацией 100 мкг/мл для каждого компонента. На основе этого смешанного раствора методом серийных разведений с помощью раствора МеОН : вода (50:50, об/об) готовили стандартные растворы с концентрацией по 10000; 5000; 1000; 500; 250; 200; 100; 50; 25; 10; 5 и нг/мл для каждого аналита. Калибровочные образцы готовили путем добавления к 400 мкл холостой матрицы 50 мкл стандартных растворов смеси аналитов и 50 мкл раствора ВС (анастрозол, 500 нг/мл), достигая в 10 раз меньших итоговых плазменных 2,5 концентраций.

НПКО составил диапазон 0,25–1 нг/мл при отношении S/N более 10 для всех определяемых веществ. Калибровочный диапазон концентраций АП был определен так, чтобы охватить колебания их равновесной концентрации (C_{ss}) у пациентов и обеспечить применимость методики в ТЛМ. Калибровочные зависимости приведены в Таблице 17, где Y – отношение площадей пиков целевого аналита и ВС, X – концентрация целевого аналита, в нг/мл. Калибровочные кривые были линейны в представленных диапазонах.

Таблица 17 – Калибровочные и валидационные характеристики количественного определения нейрелептиков в смешанном образце

Аналит	Уравнение регрессии	R ²	Калибровочный диапазон нг/мл	C _{ss} (нг/мл)	Точность, %*	Прецизионность, RSD%*
Арипипразол	$y = 0,0127 \cdot X + 0,3505$	0,997	0,5 ÷ 500	150–300	8,2	9,6
Дегидроарипипразол	$y = 0,0178 \cdot X + 0,3456$	0,999	0,5 ÷ 500	51,6 ± 22,3	-9,1	8,5
Галоперидол	$y = 0,2171 \cdot X + 1,0283$	0,999	0,25 ÷ 20	5,5–14,4	10,7	8,6
Зуклопентиксол	$y = 0,0195 \cdot X + 0,0795$	0,998	0,5 ÷ 250	10–40	12,2	12,9
Клозапин	$y = 0,0049 \cdot X + 0,1955$	0,999	1 ÷ 1000	C _{min} : 41–343 C _{max} : 102–771	-6,2	10,3
Норклозапин	$y = 0,0024 \cdot X + 0,0187$	0,998	1 ÷ 1000	50–300	13,1	13,5
РИС	$y = 0,1702 \cdot X + 2,3543$	0,998	0,5 ÷ 500	10–70	7,9	10,6

Продолжение Таблицы 17

9-ОН-рисперидон	$y = 0,0933 \cdot X + 1,5660$	0,998	0,5 ÷ 500	5–50** 30–50***	– 8,7	11,6
-----------------	-------------------------------	-------	-----------	--------------------	-------	------

Примечания: * – междневные валидационные характеристики, установленные для НПКО;

* – при приеме 9-ОН-РИС в качестве отдельного ЛС (МНН: палиперидон);

*** – стационарные уровни 9-ОН-РИС как метаболита РИС**.

Источники сведений по равновесным концентрациям: для арипипразола и дегидроарипипразола [Bachmann C.J. et al., 2008], для 9-гидроксирисперидона [Alamo C., López-Muñoz F., 2013], для прочих ЛС [Мирошниченко И. И., 2011].

3.1.5 Валидационные характеристики

Все предложенные методики характеризуются хорошей селективностью. Посторонних пиков, соответствующих времени удерживания и отношению m/z целевых аналитов, вызванных эндогенными веществами матрицы или присутствием ВС не выявлено. Интерференция между арипипразолом и дегидроарипипразолом из-за их близкой химической структуры не превышала 20% от площади пика на уровне НПКО антипсихотиков.

Отношение S/N для анастрозола и летрозола было не менее 9 и 10, соответственно. Для АП отношение S/N у всех аналитов было не менее 5. Линейность отклика детектора не зависела от степени разведения холостой матрицей. Степень экстракции всех аналитов характеризовалась приемлемым уровнем точности и сходимости.

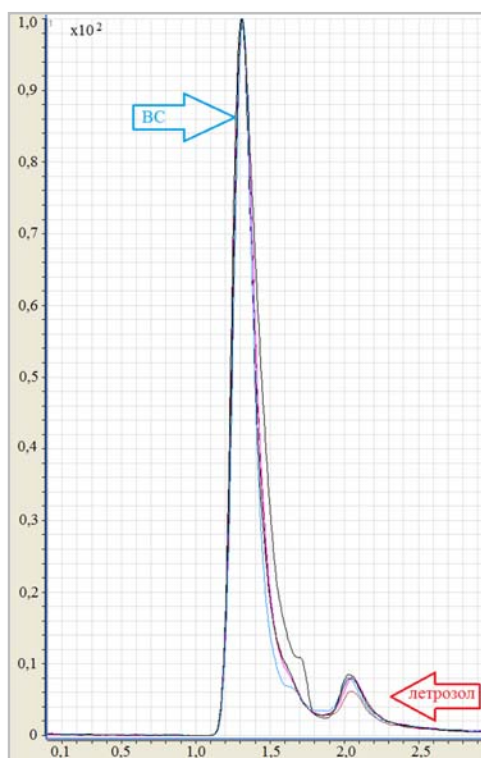
В количественном определении ингибиторов ароматазы МФ составил $98,1 \pm 1,2\%$ для анастрозола и $97,2 \pm 1,4\%$ для летрозола, что означает отсутствие ионной супрессии. Коэффициент вариации нормализованного по внутреннему стандарту МФ был менее 4 % для анастрозола и 3% для летрозола, что означает отсутствие влияния матрицы на отклик сигнала [Matuszewski B. K., 2006]. Пики коэкстрактивных веществ матрицы, а также внутреннего стандарта не оказывали влияния на отклик этих аналитов. МФ для АП составил диапазон от 83,4% до 92,8%, что свидетельствует о существенной роли ионной супрессии. Пики коэкстрактивных веществ матрицы, а также ВС (анастрозола) не оказывали влияния на отклик целевых аналитов, что было протестировано для каждого АП по отдельности.

Точность и прецизионность рассчитывали для 4-х уровней концентрации, для анастрозола 0,25; 2,5; 6 и 16 нг/мл, для летрозола 0,25; 1, 25; 15 и 40 нг/мл. Внутриведенную валидацию для анастрозола выполняли с применением 6 образцов КК на каждом уровне концентрации, для летрозола – 5-ти образцах. Междневную точность и сходимость выполняли для 3-х серий образцов. Внутриведенная сходимость для летрозола продемонстрирована на Рисунке 29. Все валидационные показатели находились в приемлемых диапазонах (Таблица 18).

Таблица 18 – Точность и прецизионность метода количественного определения анастрозола в плазме крови человека

Концентрация добавленная, нг/мл	Внутридневная (intra-day)			Междневная (inter-day)		
	Концентрация найденная, нг/мл	Точность, %	Прецизионность, RSD%	Концентрация найденная, нг/мл	Точность, %	Прецизионность, RSD%
Анастрозол						
0,25	0,26	4,00	7,69	0,24	-4,00	15,77
2,5	2,61	4,40	5,62	2,6	4,00	9,41
6	6,5	7,00	9,19	6,4	6,67	10,11
16	16,6	6,47	7,67	17,1	6,88	9,83
Летрозол						
0,25	0,26	4,00	10,2	0,27	8,00	12,43
1,5	1,46	-2,67	9,07	1,45	-3,33	9,41
15	16,03	6,87	5,33	16,09	7,27	7,16
40	38,44	-3,9	5,05	38,34	-4,16	6,28

На Рисунке D.1 (Приложение D) приведены примеры хроматограмм образцов КК анастрозола, на рисунках D.2 и D.3 – хроматограмм из исследований БЭ препаратов анастрозола и летрозолола, соответственно. Для сравнения откликов сигнала хроматограммы приведены в режиме наложения попарно – после приема тестируемого (Т) и референсного (R) препаратов.



Хроматограммы 5-ти образцов КК, содержащих летрозол в концентрации 1,5 нг/мл, анализ выполнен в течение одного дня. Хроматограммы получены в режиме MRM и представлены методом наложения

Рисунок 29 – Хроматограммы проб плазмы крови, содержащих летрозол в концентрации 1,5 нг/мл (n = 5)

Все показатели точности и прецизионности для АП также находились в приемлемом диапазоне (Таблица 17).

Стандартные растворы всех аналитов и ВС демонстрировали стабильность при хранении в течение месяца при температуре 4°C. После трех циклов замораживания-оттаивания были продемонстрированы приемлемые данные по стабильности для всех аналитов (на образцах КК). Хранение в матрице при комнатной температуре не показало снижения концентраций в течение 12 часов. Долгосрочная стабильность в матрице в условиях заморозки была подтверждена для всех аналитов в течение 30 дней. Образцы в термостате инжектора (15°C) были стабильны в течение суток. Результаты тестирования стабильности благоприятны для рутинного анализа при проведении исследований БЭ или ТЛМ.

Тестирование пригодности хроматографической системы в ходе эксперимента по анализу биообразцов в исследовании БЭ не выявило отклонений от приемлемых диапазонов. Отклик сигнала масс-спектрометрического детектора был стабилен в ходе всего эксперимента.

Разработанные методики являются робастными и могут быть воспроизведены на оборудовании ВЭЖХ-МС/МС при соблюдении описанных условий детекции. При выполнении адаптации методики на колонках других типов возможны вариации скорости потока ПФ и времен выхода целевого анализа и внутреннего стандарта. Внутренний стандарт может быть изменен на другое вещество при условии хорошей детекции при заданных условиях пробоподготовки, ВЭЖХ и детекции, а также при отсутствии влияния (интерференции) на пик целевого анализа. Для обеспечения качества результатов в других лабораториях данная методика должна пройти частичную валидацию при соблюдении условий тестирования аналитической системы. Для адекватного разделения пиков по m/z будет достаточно доказательства отсутствия интерференции со стороны коэлюирующего анализа.

3.2 Изучение фармакокинетики стандартным двухэтапным методом с немодельным подходом у здоровых добровольцев

3.2.1 Аримидекс® и Анастрозол

Определяемый в плазме крови анализ (анастрозол) превышал НПКО в течение всего времени мониторинга – 168 ч. Динамика плазменных концентраций характеризовалась выраженной вариабельностью, особенно в области T_{max} , около 24 ч., а также в области ФК-кривой, соответствующей фазе элиминации. Значительный вклад в общую вариацию вносит межиндивидуальная составляющая (Рисунок 30). Концентрации анастрозола на каждом уровне его мониторинга между сравниваемыми препаратами не различались (Таблица 19).

ФК-параметры препаратов не различались. Анастрозол – лекарство с длительным периодом полувыведения, величина λ_z которого составила $58,6 \pm 21,6$ ч. и $63,5 \pm 38,0$ ч., для Анастрозола (Т) для Аримидекса (R), соответственно (Таблица 20).

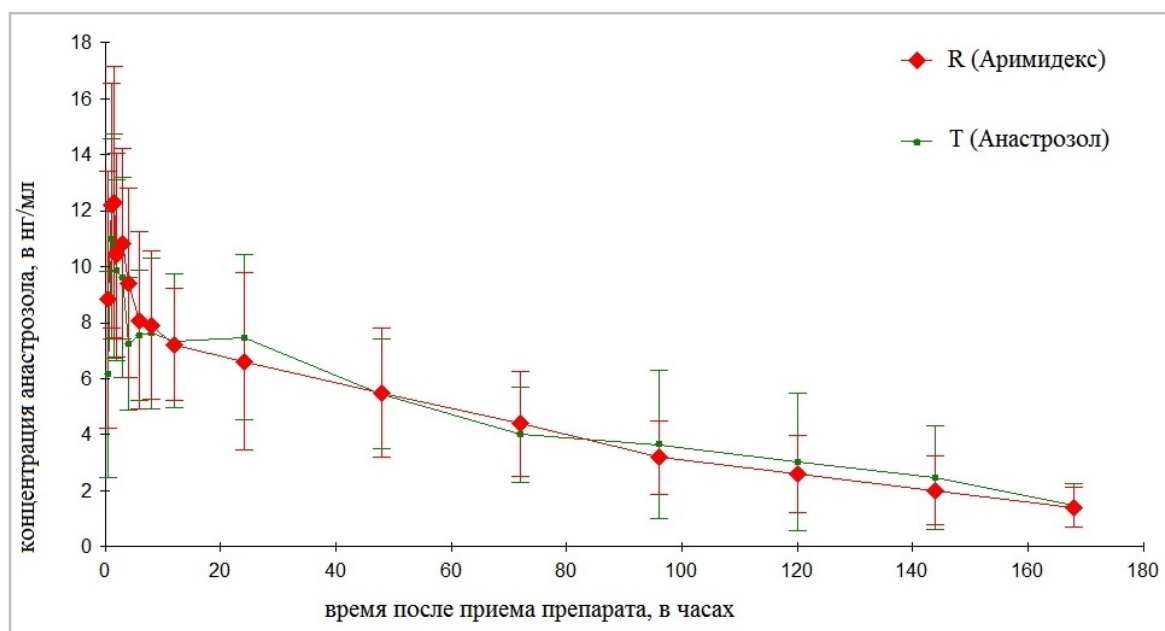


Рисунок 30 – Динамика концентрации анастрозола в плазме крови после перорального приема оригинального (Аримидекс®) и воспроизведенного (Анастрозол) препаратов в дозе 1 мг

Полученные ФК-параметры было интересно сравнить с результатами других исследований. В США тестировать БЭ анастрозола рекомендовано в популяции женщин постклимактерического периода, однако в международной практике зачастую такие исследования проводят и в популяции мужчин. Сравнение ФК выполняли для оригинального препарата Аримидекс® у целевой популяции – женщин в постклимактерическом периоде. По параметру AUC_{inf} среднерусская популяция была сопоставима с популяциями других стран, однако период полувыведения $T_{1/2}$ был существенно выше и вариабельнее. Несколько более низким значением характеризовался C_{max} , хотя и без достоверных различий (Таблица 1). В НКА существенное влияние на C_{max} и $T_{1/2}$ может оказать график забора биообразцов – в районе T_{max} и в терминальной фазе, соответственно. Однако, различия популяций разных стран по этим ФК-параметрам анастрозола также могут объясняться различной частотой полиморфных аллелей цитохрома P3A5 и, возможно, UGT1A4, а кроме того, высокой вариабельностью активности цитохрома P3A4 [Kamdem L. K. et al., 2010].

Таблица 19 – Усредненные концентрации анастрозола в крови (в нг/мл)

Параметр	Время (в часах) - после приема ЛС																
	0,5	1	1,5	2	3	4	6	8	12	24	48	72	96	120	144	168	
Среднее	8,5	11,8	11,9	10,4	10,8	9,4	8,5	7,9	7,2	6,6	5,6	4,4	3,2	2,4	1,9	1,3	
SD	4,5	3,4	4,6	3,6	3,4	3,4	3,3	2,6	2,0	3,2	2,3	1,9	1,3	1,2	1,2	0,6	
SE	1,1	0,8	1,1	0,9	0,8	0,8	0,8	0,6	0,5	0,8	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	
CV %	53,8	28,7	38,3	34,9	31,5	35,9	38,9	33,4	27,7	48,0	40,6	42,7	41,6	49,6	61,8	48,2	
95% ДИ	6,2	10,1	9,7	8,6	9,1	7,7	6,8	6,6	6,2	5,0	4,5	3,5	2,5	1,8	1,3	1,0	
	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	
	10,7	13,4	14,2	12,2	12,5	11,1	10,1	9,2	8,2	8,2	6,7	5,3	3,8	3,0	2,5	1,6	
Анастрозол	Среднее	6,2	11,0	11,7	9,9	9,6	7,2	7,6	7,5	7,3	7,5	5,5	4,1	3,7	3,0	2,5	1,5
	SD	3,7	3,6	5,3	3,2	3,6	2,4	2,3	2,4	2,4	2,9	1,8	1,6	2,6	2,4	1,8	0,7
	SE	0,9	0,8	1,3	0,8	0,9	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,4	0,4	0,6	0,6	0,4	0,2
	CV %	59,8	32,6	45,2	32,7	37,3	32,9	30,9	32,5	32,7	39,3	32,9	38,0	70,8	80,6	74,1	51,1
	95% ДИ	4,3	9,2	9,1	8,3	7,8	6,1	6,4	6,3	6,2	6,0	4,6	3,4	2,4	1,8	1,6	1,1
÷		÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	
	8,0	12,8	14,3	11,5	11,4	8,4	8,7	8,7	8,5	8,9	6,4	4,9	5,0	4,2	3,4	1,8	

Таблица 20 – ФК-параметры анастрозола, рассчитанные посредством НКА для сравниваемых препаратов

Параметр (ед. измерения)	T _{1/2} (ч)		T _{max} * (ч)		λ _z (ч ⁻¹)	
	R	T	R	T	R	T
Среднее	63,5	58,6	–	–	0,014	0,014
SD	38,0	21,6	–	–	0,005	0,008
SE	9,0	5,1	–	–	0,001	0,002
95% ДИ	44,5 ÷ 82,4	47,9 ÷ 69,4	–	–	0,011 ÷ 0,016	0,010 ÷ 0,018
Медиана	55,3	53,5	1,5	1,5	0,012	0,013
Минимум – максимум	33,2 – 184,3	15,7 – 112,4	1 – 4	0,5 – 12	0,005 – 0,024	0,006 – 0,044

Примечание: * T_{max} – непараметрическая величина, поэтому параметрические описательные статистики для нее не предоставляются.

Продолжение Таблицы 20

Параметр (ед. измерения)	C _{max} (нг/мл)		f'' (%)	AUC _t (нг · ч/мл)		f' (%)	AUC _{inf} (нг*ч/мл)		f (%)
	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]
Среднее	14,3	14,0	97,94	701,0	743,4	108,11	831,5	875,4	109,11
SD	3,7	4,2	19,40	245,6	286,1	23,47	317,0	317,3	25,61
SE	0,9	1,0	4,57	57,9	67,4	5,53	74,7	74,8	6,04
95% ДИ	12,5 ÷ 16,2	11,9 ÷ 16,0	88,29 ÷ 107,59	578,9 ÷ 823,2	601,1 ÷ 885,7	96,44 ÷ 119,78	673,8 ÷ 989,1	717,5 ÷ 1033,2	96,37 ÷ 121,85
Медиана	14,5	13,3	92,50	649,5	714,0	107,50	806,5	821,0	108,50
Минимум – максимум	8,1 – 24,9	7,9 – 24,3	74,00 – 145,00	360,0 – 1398,0	439,0 – 1657,0	58,00 – 137,00	384,0 – 1666,0	460,0 – 1688,0	60,00 – 144,00

3.2.2 Фемара® и Летрозол® Акри

На Рисунке 31 представлен ФК-профиль летрозолола (среднее значение \pm SD) после однократного приема внутрь препаратов: референсного (Фемара®) и воспроизведенного (Летрозол® Акри), в дозе 2,5 мг. Предварительные оценки ФК-параметров опубликованы нами в работе [Мирошниченко И. И., 2013а]. Длительность мониторинга концентрации составляла 216 ч. Концентрации летрозолола в каждой временной точке для сравниваемых препаратов не различались.

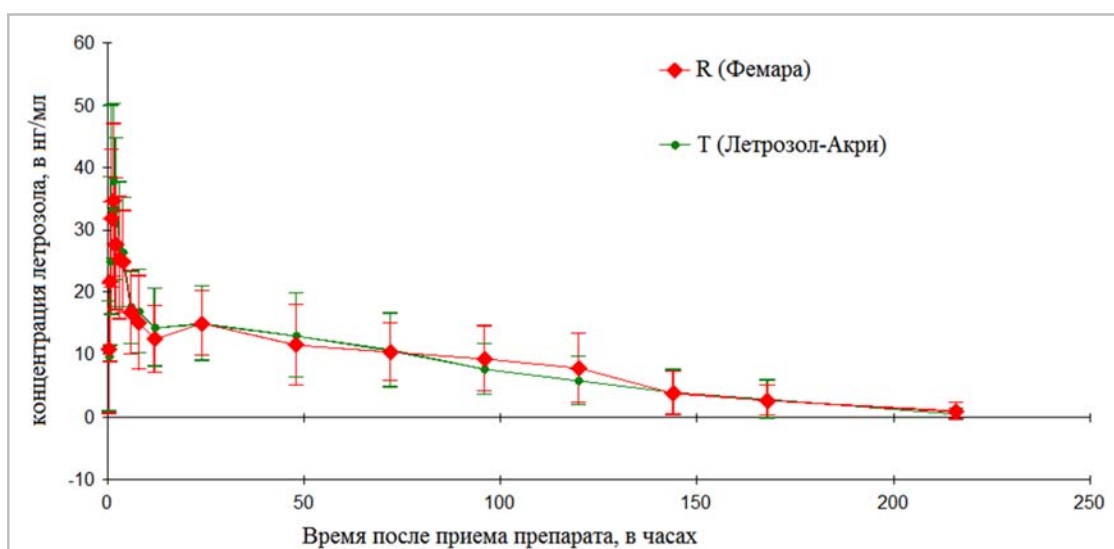


Рисунок 31 – Динамика усредненной концентрации летрозолола в крови человека после перорального приема в дозе 2,5 мг

Выраженная межиндивидуальная вариация концентрации отражается разбросом ее коэффициента CV%: 33,1 – 89,1% (Таблица 21). ФК-параметры сравниваемых препаратов также статистически не различались (Таблица 22). Было подтверждено отсутствие различий по T_{max} между препаратами ($p < 0,05$; парный критерий Уилкоксона).

Таблица 21 – Описательная статистика концентраций летрозола в крови (в нг/мл), полученных после приема сравниваемых препаратов (2,5 мг однократно внутрь)

Фема [®]	параметр	Время (в часах) - после приема ЛС																		
		0,33	0,66	1	1,5	2	3	4	6	8	12	24	48	72	96	120	144	168	216	
Фема [®]	Среднее	12,0	21,6	31,8	34,8	27,7	25,4	24,8	16,7	15,1	12,4	14,9	11,5	10,4	9,3	7,8	4,1	3,3	1,6	
	SD	10,2	12,8	11,1	12,3	10,6	9,8	8,2	6,7	7,5	5,3	5,1	6,4	4,6	5,2	5,5	3,4	2,2	1,4	
	SE	1,9	2,3	2,0	2,2	1,9	1,7	1,5	1,2	1,3	0,9	0,9	1,1	0,8	0,9	1,0	0,6	0,4	0,3	
	CV%	85,1	59,2	34,9	35,3	38,3	38,7	33,1	40,3	49,9	43,0	34,4	56,2	44,1	56,2	71,4	83,8	64,5	86,1	
	95% ДИ	÷	8,1	17,0	27,8	30,3	23,9	21,9	21,9	14,3	12,3	10,5	13,1	9,1	8,7	7,4	5,8	2,8	2,5	0,9
		÷	15,9	26,2	35,8	39,2	31,5	28,9	27,8	19,1	17,8	14,3	16,8	13,8	12,0	11,2	9,8	5,3	4,2	2,3
Летрозол -Акри	Среднее	11,1	24,9	33,1	37,8	33,4	27,6	26,4	17,5	16,8	14,3	14,9	13,0	10,7	7,6	5,8	4,0	3,5	1,1	
	SD	8,5	13,6	16,8	12,4	11,4	10,1	8,8	5,8	6,7	6,2	5,9	6,7	5,9	4,1	3,8	3,5	3,0	1,0	
	SE	1,6	2,4	3,0	2,2	2,0	1,8	1,6	1,0	1,2	1,1	1,0	1,2	1,0	0,7	0,7	0,6	0,6	0,3	
	CV%	76,9	54,4	50,8	32,9	34,1	36,4	33,5	33,2	39,9	43,4	39,8	51,6	55,2	53,4	66,5	87,8	85,9	89,1	
	95% ДИ	÷	7,8	20,0	27,1	33,3	29,3	24,0	23,2	15,4	14,4	12,0	12,7	10,6	8,5	6,1	4,4	2,7	2,3	0,5
÷		14,4	29,8	39,2	42,3	37,5	31,2	29,6	19,6	19,3	16,5	17,0	15,4	12,8	9,1	7,1	5,3	4,7	1,7	

Таблица 22 – Параметры фармакокинетики летрозола, рассчитанные немодельным методом

Параметр (ед. измерения)	T _{1/2} (ч)		T _{max} * (ч)		λ _z (ч ⁻¹)	
	R	T	R	T	R	T
Среднее	35,1	34,3	–	–	0,027	0,025
SD	18,7	17,1	–	–	0,018	0,012
SE	3,3	3,0	–	–	0,003	0,002
95% ДИ	28,3 ÷ 41,8	28,1 ÷ 40,4	–	–	0,021 ÷ 0,034	0,021 ÷ 0,030
Медиана	30,2	30,9	1,5	1,5	0,024	0,022
Минимум – максимум	12,0 – 81,0	11,0 – 83,7	0,7 – 4	1,4 – 1,9	0,009 – 0,091	0,008 – 0,063

* T_{max} – непараметрическая величина, поэтому параметрические описательные статистики для нее не предоставляются.

Продолжение Таблицы 22

Параметр (ед. измерения)	C _{max} (нг/мл)		f'' (%)	AUC _t (нг · ч/мл)		f' (%)	AUC _{inf} (нг · ч/мл)		f (%)
	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]
Среднее	41,3	46,4	117,69	1702,0	1678,6	106,50	1798,9	1788,2	109,09
SD	8,5	8,6	39,82	598,1	545,6	37,65	666,3	599,5	42,54
SE	1,5	1,5	7,04	105,7	96,4	6,65	117,8	106,0	7,52
95% ДИ	38,2 ÷ 44,3	43,3 ÷ 49,5	103,33 ÷ 132,05	1486,3 ÷ 1917,6	1481,9 ÷ 1875,3	92,93 ÷ 120,07	1558,6 ÷ 2039,1	1572,0 ÷ 2004,4	93,76 ÷ 124,43
Медиана	42,8	46,9	111,00	1640,5	1635,6	102,00	1780,2	1848,7	103,00
Минимум – максимум	21,4 – 60,5	24,7 – 62,1	68,00 – 283,00	584,7 – 2738,8	606,6 – 2840,2	41,00 – 171,00	607,0 – 3122,8	616,8 – 3086,4	38,00 – 214,00

Параметры C_{max} и AUC оригинального препарата летрозолола – Фемара®[®], полученные для среднерусской популяции женщин постклимактерического периода, в целом сопоставимы с другими исследованиями БЭ. Так, C_{max} и AUC_{inf} у женщин Китая составили $44,8 \pm 13,6$ нг/мл и 2040 ± 815 нг·ч/мл, соответственно, а у женщин Канады $32,5 \pm 5,8$ нг/мл и 1725 ± 625 нг·ч/мл, соответственно. Период полувыведения летрозолола в нашем исследовании был значительно меньше: $35,1 \pm 18,5$ ч⁻¹ (в отечественной популяции), $62,8 \pm 29,7$ ч⁻¹ в Канаде [Final report, Cinfa, 2008], $62,0 \pm 25,8$ ч⁻¹ в Китае [Liu Y. et al., 2013 b], что выделяет среднерусскую популяцию большей скоростью элиминации этого препарата (Таблица 2). Клиренс летрозолола в основном осуществляется метаболизмом с помощью изоферментов CYP3A4 и CYP2A6, обладающих полиморфизмом и разным соотношением аллелей в разных странах [Oscarson M., 2001], что может объяснять полученные данные.

3.2.3 Рисполепт® и Рисперидон

Мониторинг уровней веществ в крови осуществлялся в течение 96 ч. после однократного приёма внутрь препаратов: Рисполепт® и Рисперидон. Графики «концентрация–время» для рисперидона, его активного метаболита, а также их суммы (АМ) показаны на Рисунках 32, 33 и 34. Межиндивидуальная вариация уровней концентрации рисперидона после завершения всасывания уменьшалась по мере приближения к фазе терминальной элиминации (Рисунок 32).

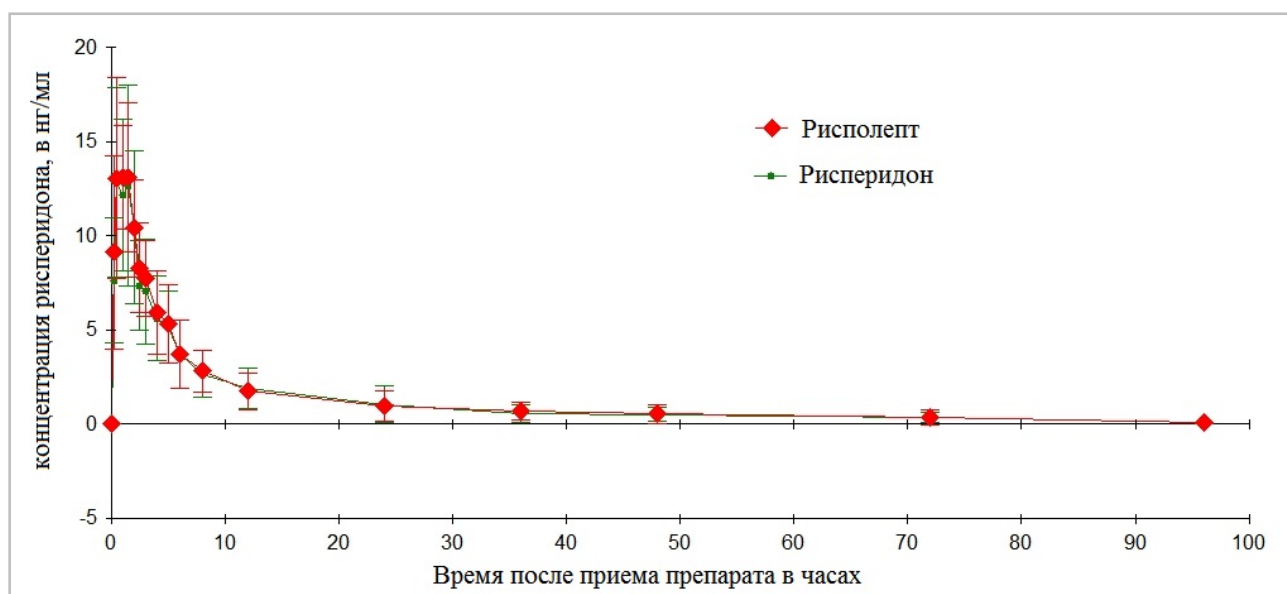


Рисунок 32 – Динамика концентрации (среднее ± SD) рисперидона после перорального приема в дозе 2 мг одного из сравниваемых препаратов

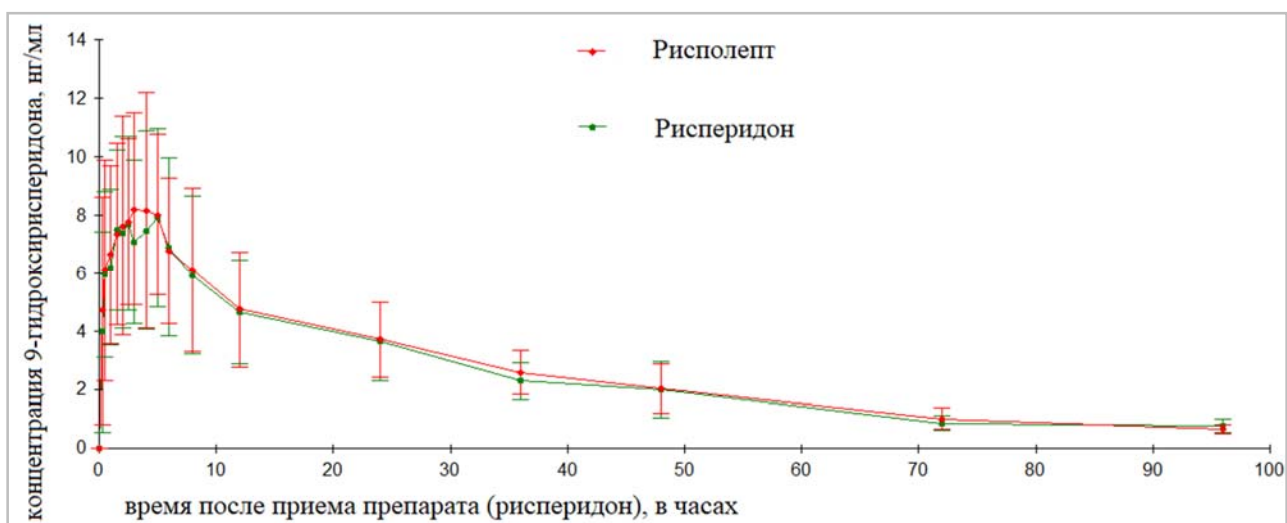


Рисунок 33 – Динамика концентрации (среднее \pm SD) 9-ОН-рисперидона после перорального приема рисперидона в дозе 2 мг одного из сравниваемых препаратов

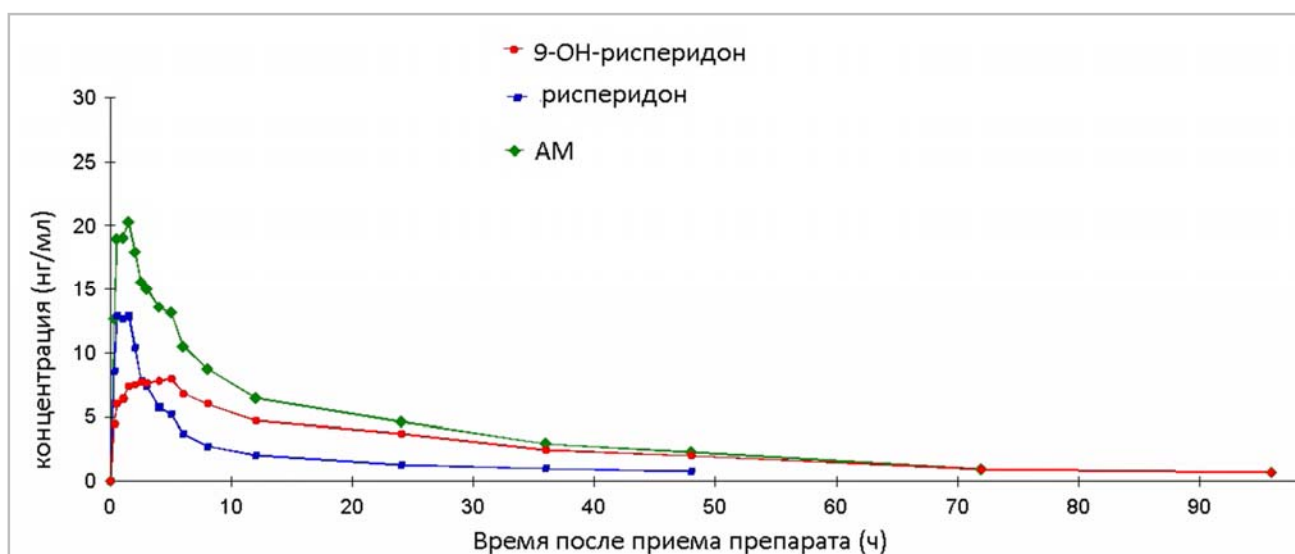


Рисунок 34 – Усредненный профиль концентрации рисперидона, 9-ОН-рисперидона, а также их суммы (AM) после однократного приема рисперидона в дозе 2 мг

После приема внутрь рисперидон быстро абсорбировался в системный кровоток и через 0,25 часа регистрировался в плазме крови (Таблица 23), достигая максимума к 1 ч ($15,8 \pm 4,9$ и $16,6 \pm 4,1$ нг/мл для тестового и референсного препарата, соответственно). Величины C_{max} (Таблица 25) согласуются с опубликованными данными: 15,9 нг/мл при приеме 2 мг [Khorana N. et al., 2011] и 30,5 нг/мл при приеме 4 мг рисперидона [Писарев В. В. и др., 2013].

Элиминация рисперидона медленная, его детектировали в плазме через 96 ч после приёма. В нашем, как и в другом отечественном исследовании [Писарев В. В. и др., 2013], период полувыведения значительно превосходил ($15,3 \pm 5,0$ и $7,78 \pm 6,9$ ч⁻¹, соответственно) эту величину в популяциях других стран (Таблица 4). В Государственном реестре лекарственных средств РФ для рисперидона указан период полувыведения 3 часа [Инструкция ... Рисполепт® П N014824/01 [Электронный ресурс] // ГРЛС [Официальный сайт]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>], в иностранной базе данных [Risperidone. Data Base: [Electronic resource] // URL: <https://www.drugs.com>]] приведены более подробные сведения: T_{1/2} рисперидона составляет 3 ч у быстрых метаболизаторов (CV = 30%) и 20 ч у медленных (CV = 40%) метаболизаторов. Линейность ФК рисперидона исключает влияние терапевтических доз на T_{1/2}, следовательно можно предполагать увеличенную долю в отечественной популяции аллелей медленного метаболизма цитохрома 2D6. Проведение генотипирования в исследованиях БЭ рисперидона позволит проверить это предположение, что может помочь подбору доз отечественным пациентам.

Концентрации активного метаболита 9-ОН-РИС сравниваемых препаратов были сопоставимы (Таблица 24). Период полувыведения, C_{max} и AUC_{inf} активного метаболита 9-ОН-РИС в нашем исследовании (Таблица 26) значительно превосходили параметры из корейской популяции: $26,6 \pm 5,9$ ч⁻¹ и $17,9 \pm 5,0$ ч⁻¹, $10,0 \pm 3,6$ нг/мл и $5,6 \pm 2,5$ нг/мл, 272 ± 81 нг*ч/мл и 138 ± 32 нг*ч/мл, соответственно [Cho H-Y., Lee Y-B, 2006].

ФК-параметры РИС и 9-ОН-РИС генерика и оригинала не имели достоверных различий (Таблица 25 и Таблица 26).

В исследовании побочных эффектов не зарегистрировано, в отличие от исследования с применением более высоких однократных доз [Писарев В. В. и др., 2013].

Таблица 23 – Концентрации рисперидона в плазме крови добровольцев (нг/мл) после однократного приема 2 мг

	параметр	Время после приема препарата																	
		0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	12,0	24,0	36,0	48,0	72,0	96,0	
Рисполепт®	Среднее	9,1	13,1	13,1	13,1	10,4	8,3	7,7	5,9	5,3	3,7	2,8	1,7	1,0	0,7	0,5	0,3	0,0	
	SD	5,1	5,3	2,8	3,9	2,6	2,4	2,0	2,2	2,1	1,8	1,1	1,0	0,8	0,5	0,5	0,4	0,0	
	SE	1,2	1,3	0,7	0,9	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	
	CV%	56,4	40,8	21,1	30,1	24,9	28,8	25,9	37,5	39,5	48,7	40,2	55,7	85,5	73,4	101,9	109,5	57,4	
	95%ДИ		6,5	10,4	11,7	11,1	9,1	7,1	6,7	4,8	4,2	2,8	2,2	1,3	0,5	0,4	0,3	0,2	0,0
		÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷
		11,7	15,7	14,5	15,1	11,7	9,5	8,7	7,0	6,3	4,6	3,4	2,2	1,4	0,9	0,8	0,5	0,1	
Рисперидон	Среднее	7,6	12,8	12,2	12,7	10,4	7,3	7,0	5,6	5,1	3,7	2,6	1,9	1,0	0,6	0,5	0,3	0,0	
	SD	3,3	5,0	4,0	5,3	4,1	2,4	2,8	2,2	1,9	1,8	1,2	1,1	1,0	0,5	0,4	0,3	0,0	
	SE	0,8	1,2	0,9	1,3	1,0	0,6	0,7	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	
	CV%	43,9	39,2	33	42	38,8	32,6	39,5	40	37,2	49,8	46,4	58,4	94,7	85,6	71,6	83,5	68,4	
	95% ДИ		6,0	10,3	10,2	10,0	8,4	6,2	5,7	4,5	4,2	2,8	2,0	1,3	0,5	0,3	0,3	0,2	0,0
÷		÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	
		9,3	15,3	14,2	15,3	12,5	8,5	8,4	6,7	6,1	4,6	3,3	2,4	1,5	0,8	0,7	0,5	0,1	

Таблица 24 – Концентрации 9-гидроксириперидона в плазме крови добровольцев (нг/мл) после однократного приема рисперидона в дозе 2 мг

	параметр	Время после приема препарата																	
		0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	12,0	24,0	36,0	48,0	72,0	96,0	
Рисполепт®	Среднее	4,7	6,1	6,6	7,3	7,6	7,8	8,2	8,2	8,0	6,7	6,1	4,7	3,7	2,6	2,0	1,0	0,6	
	SD	3,9	3,8	3,1	3,1	3,7	2,8	3,3	4,0	2,7	2,5	2,8	2,0	1,3	0,8	0,8	0,4	0,1	
	SE	0,9	0,9	0,7	0,7	0,9	0,7	0,8	1,0	0,6	0,6	0,7	0,5	0,3	0,2	0,2	0,1	0,0	
	CV%	83,0	62,3	46,1	42,6	49,0	36,6	40,2	49,6	34,3	37,1	45,9	41,5	34,7	29,4	42,0	37,5	21,5	
	95%ДИ		2,8÷	4,2÷	5,1÷	5,8÷	5,8÷	6,4÷	6,6÷	6,1÷	6,6÷	5,5÷	4,7÷	3,8÷	3,1÷	2,2÷	1,6÷	0,8÷	0,5÷
			6,7	8,0	8,2	8,9	9,5	9,2	9,8	10,2	9,4	8,0	7,5	5,7	4,4	3,0	2,4	1,2	0,7
Рисперидон	Среднее	4,0	6,0	6,2	7,5	7,4	7,7	7,1	7,5	7,9	6,9	5,9	4,6	3,6	2,3	2,0	0,8	0,7	
	SD	3,5	2,8	2,7	2,8	3,3	3,0	2,8	3,4	3,1	3,1	2,7	1,8	1,3	0,6	1,0	0,2	0,2	
	SE	0,8	0,7	0,6	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,6	0,4	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	
	CV%	87,1	47,8	43,3	36,9	44,7	38,7	39,9	45,6	38,7	44,5	45,8	38,6	37,0	27,6	48,3	29,4	29,8	
	95% ДИ		2,3÷	4,5÷	4,9÷	6,1÷	5,8÷	6,2÷	5,7÷	5,8÷	6,4÷	5,4÷	4,6÷	3,8÷	3,0÷	2,0÷	1,5÷	0,7÷	0,6÷
		5,7	7,4	7,5	8,8	9,0	9,2	8,5	9,2	9,4	8,4	7,3	5,5	4,3	2,6	2,5	1,0	0,9	

Таблица 25 – Параметры фармакокинетики РИС, рассчитанные некомпаратментным методом

Параметр (ед. измерения)	T _{1/2} (ч)		T _{max} * (ч)		λ _z (ч ⁻¹)	
	R	T	R	T	R	T
Среднее	15,3	19,0	–	–	0,048	0,050
SD	5,0	23,2	–	–	0,009	0,013
SE	1,2	5,5	–	–	0,002	0,003
95% ДИ	12,9 ÷ 17,8	7,4 ÷ 30,5	–	–	0,043 ÷ 0,052	0,043 ÷ 0,056
Медиана	14,0	12,6	1,0	1,0	0,050	0,050
Минимум – максимум	11,3 – 33,9	11,1 – 111,7	0,3 – 1,5	0,5 – 1,5	0,020 – 0,060	0,010 – 0,060

*T_{max} – непараметрическая величина, поэтому представлены только непараметрические статистики.

Продолжение Таблицы 25

Параметр (ед. измерения)	C _{max} (нг/мл)		f'' (%)	AUC _t (нг · ч/мл)		f' (%)	AUC _{inf} (нг · ч/мл)		f (%)
	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]
Среднее	16,6	15,8	96,72	111,6	109,4	97,33	112,7	110,8	98,28
SD	4,1	4,9	23,61	43,6	49,0	27,44	43,6	48,0	25,89
SE	1,0	1,2	5,57	10,3	11,5	6,47	10,3	11,3	6,10
95% ДИ	14,5 ÷ 18,6	13,4 ÷ 18,3	85,0 ÷ 108,5	90,0 ÷ 133,3	85,0 ÷ 127,6	83,7 ÷ 111,0	91,0 ÷ 134,4	86,9 ÷ 134,6	85,4 ÷ 111,2
Медиана	16,7	15,6	97,50	100,3	112,6	98,50	100,9	113,7	98,50
Минимум – максимум	7,5 – 24,8	5,5 – 24,3	35,00 – 128,00	57,1 – 211,3	29,1 – 217,9	46, – 144	58,5 – 213,8	29,9 – 218,4	46,00 – 144,00

Таблица 26 – Параметры фармакокинетики 9-ОН-РИС, рассчитанные некомпартментным методом

Параметр (ед. измерения)	T _{1/2} (ч)		T _{max} * (ч)		λ _z (ч ⁻¹)	
	R	T	R	T	R	T
Среднее	26,6	25,4	–	–	0,027	0,029
SD	5,9	6,9	–	–	0,006	0,007
SE	1,4	1,6	–	–	0,001	0,002
95% ДИ	23,7 ÷ 29,5	21,9 ÷ 28,8	–	–	0,024 ÷ 0,030	0,025 ÷ 0,033
Медиана	25,1	24,8	4,0	4,0	0,028	0,028
Минимум – максимум	18,7 – 36,1	17,0 – 43,3	1,5 – 6,0	1,5 – 8,0	0,019 – 0,037	0,016 – 0,041

*T_{max}– непараметрическая величина, поэтому представлены только непараметрические статистики.

Продолжение Таблицы 26

Параметр (ед. измерения)	C _{max} (нг/мл)		f'' (%)	AUC _t (нг · ч/мл)		f' (%)	AUC _{inf} (нг · ч/мл)		f (%)
	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]	R	T	[T/R]
Среднее	10,0	9,4	0,96	240,2	229,3	0,97	271,5	257,1	0,97
SD	3,6	2,9	0,15	81,4	80,7	0,16	81,2	78,4	0,16
SE	0,8	0,7	0,04	19,2	19,0	0,04	19,2	18,5	0,04
95% ДИ	8,2 ÷ 11,8	7,9 ÷ 10,8	0,89 ÷ 1,04	199,7 ÷ 280,7	189,1 ÷ 269,4	0,89 ÷ 1,05	231,1 ÷ 311,9	218,2 ÷ 296,1	0,88 ÷ 1,05
Медиана	9,5	9,6	0,94	254,1	226,7	0,99	288,7	241,5	1,01
Минимум – максимум	5,3 – 16,7	5,4 – 14,3	0,69 – 1,19	113,1 – 352,0	113,7 – 401,7	0,62 – 1,18	141,8 – 373,6	148,5 – 427,7	0,58 – 1,16

3.3 Фармакокинетическое моделирование на основе полного профиля «концентрация – время» после однократного приема исследуемых препаратов в популяции здоровых добровольцев

3.3.1 Анастрозол

Выбор камерности ФК-модели был остановлен на 2-камерной модели, дающей самые точные популяционные и индивидуальные предсказания (Рисунок 35) и соответствующей минимальным величинам информационных критериев (Таблица 27).

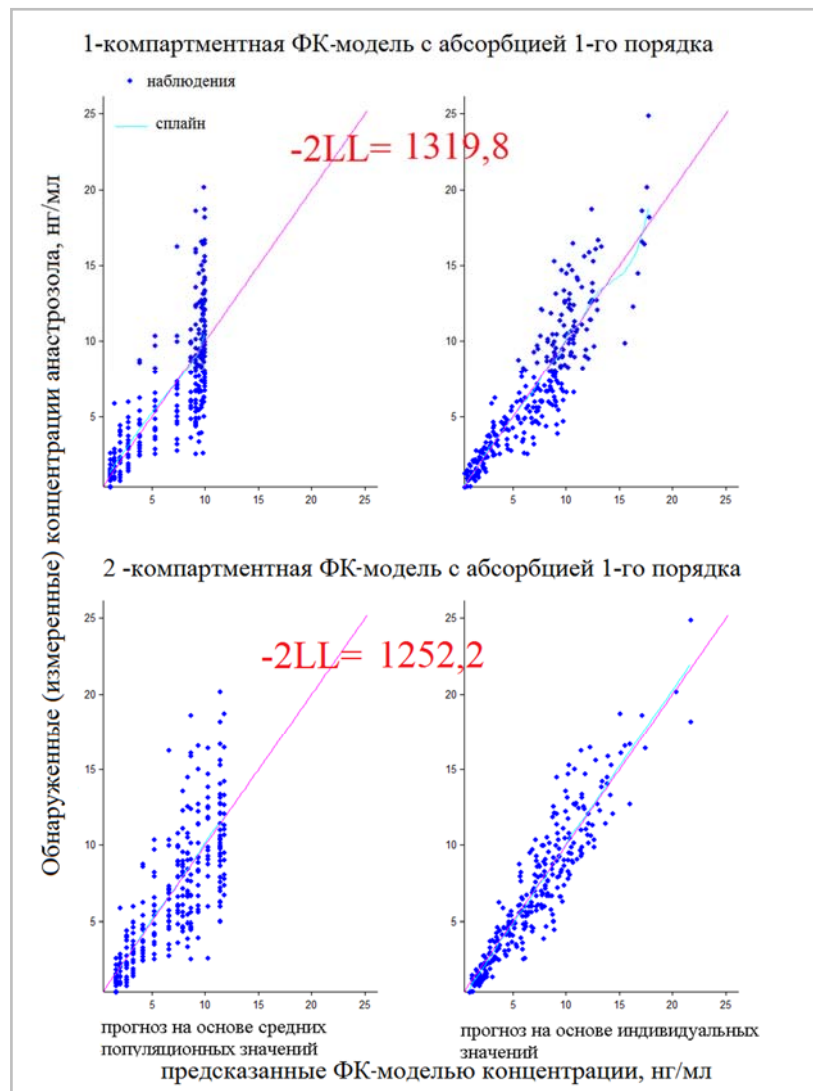


Рисунок 35 – Регрессионные соотношения измеренных и предсказанных концентраций анастрозола

Таблица 27 – Определение структурной ФК-модели для анастрозола: информационные критерии

Структурная ФК-модель	-2LL	AIC	BIC
1-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	1319,8	1333,8	1340,0
2-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	1252,2	1274,2	1283,9
3-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	1256,0	1286,0	1299,3
2-комpartmentная с абсорбцией 0-го порядка и элиминацией 1-го порядка	1251,4	1273,4	1283,2
2-комpartmentная с абсорбцией 1-го порядка и элиминацией по Михаэлису-Ментен	1321,4	1374,4	1359,0

В нашем случае абсорбция одинаково хорошо аппроксимируется кинетикой, как первого, так и нулевого порядка, как видно по близким величинам информационных критериев (Таблица 27). Известно, что поглощение препаратов из ЖКТ в основном протекает путем пассивной диффузии, что соответствует кинетике 1-го порядка [Rosenbaum S., 2011]. Липофильные свойства ($\lg P=1,58$), а также небольшие размеры молекулы анастрозола, позволяют рассматривать трансцеллюлярную пассивную диффузию как основной механизм его абсорбции из ЖКТ. Основность ($pK_b=2,01$) вещества означает, что всасывание в основном происходит в тонком кишечнике. Препарат метаболизируется CYP3A4 и является субстратом P-gp, что объясняет более низкую биодоступность 83–85%, по сравнению с летрозолом (около 99%), скорее всего – за счет пресистемной элиминации. Вместе с тем механизм активного транспорта для анастрозола не обнаружен, поэтому нет никаких оснований предполагать нулевую скорость абсорбции [База данных DrugBank, электронный ресурс, URL: www.drugbank.ca].

На Рисунке 30 заметно, что 2–3 точки участка кривой в декартовых координатах, описывающего абсорбцию, «лежат» почти на прямой линии, что соответствует постоянной скорости поглощения. При этом T_{max} для большинства участников приходился на 1 или 1,5 ч., т. е. на 2-й или 3-й ФК-забор после приема препарата (Таблица 19, Таблица 20), что говорит о малом количестве ФК-точек для описания его абсорбции. Эти наблюдения вполне объясняют «выявляемую» на основе информационных критериев близость к кинетике нулевого порядка.

Известно, что характер кинетики анастрозола не меняется после многократного приема [FDA. Agimidex. Label., 02.05.2014], что исключает механизм элиминации препарата по типу Михаэлиса-Ментен.

Таким образом, для описания кинетики анастрозола была выбрана 2-камерная модель с линейными абсорбцией и элиминацией. Такая же структурная модель была использована в 2-х популяционных ФК-исследованиях анастрозола, проведенных разработчиком этого препарата: у мальчиков 10–18 лет с гинекомастией и девочек 3–10 лет с синдромом Маккьюна – Олбрайта

[Anastrozole, NDA 20-541/S-006, FDA, электронный ресурс, URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>]. В другом исследовании у мужчин азиатской популяции также была выбрана 2-камерная модель с линейной кинетикой абсорбции и элиминации как обладающая максимальной предсказательностью [Duan G. et al., 2002; Noh Y-H. et al., 2012a]. Как видим, выбор ФК-модели в нашем примере соответствует соображениям других исследователей.

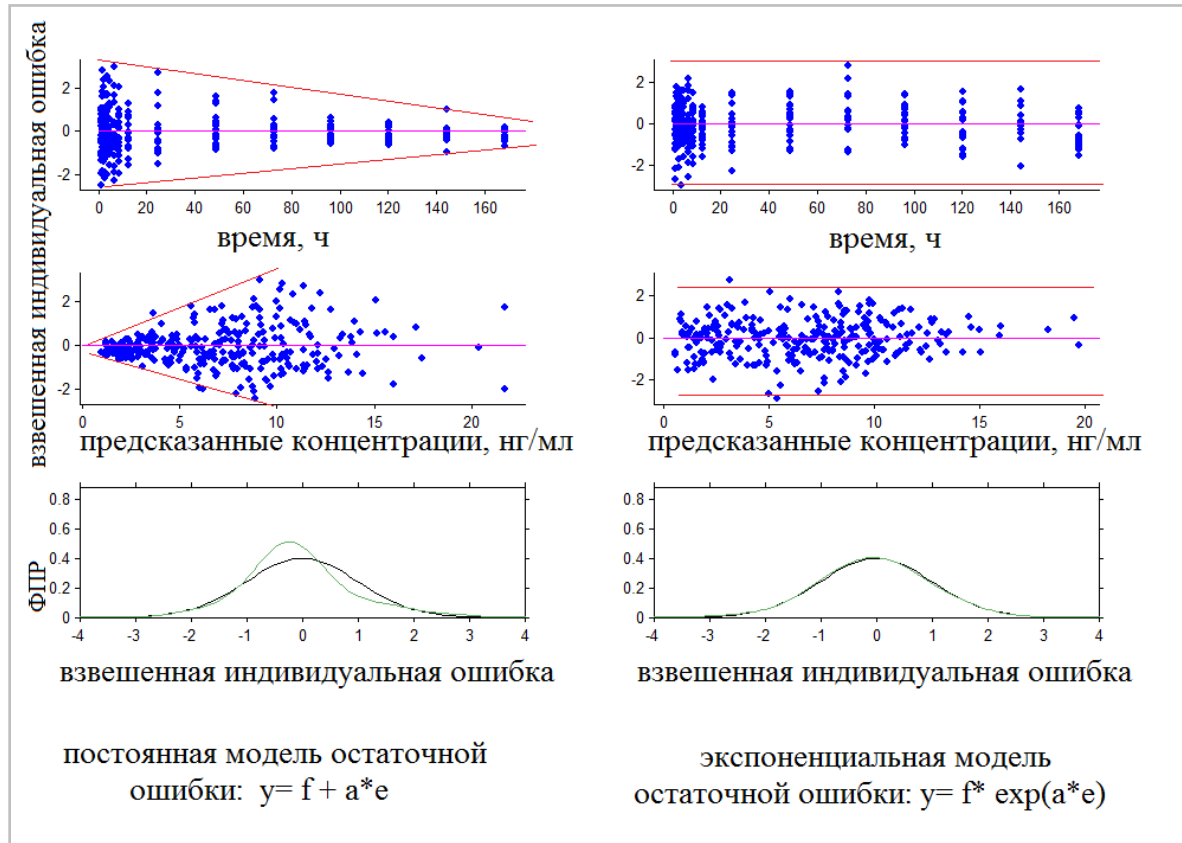
Минимальные значения информационных критериев соответствуют экспоненциальному типу распределения остатков (Таблица 28).

Таблица 28 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (анастрозол)

Шаг	Тип остаточной ошибки	AIC	BIC	-2LL	p-величина*
1	Постоянная	1273,6	1283,4	1283,9	–
2	Пропорциональная	1137,6	1147,4	1115,6	0,005
3	Экспоненциальная	1132,8	1142,6	1110,8	0,002
4	Комбинированная 1-го типа	1138,8	1149,5	1114,8	> 0,5

Примечания: за нулевую гипотезу принимали тип распределения остатков, принятый на предыдущем шаге, за альтернативную гипотезу – тип, принятый на следующем шаге; * – LRT при сравнении с типом распределения ошибки, тестируемом на предыдущем шаге.

При задании в модели экспоненциальной структуры ошибки взвешенные остатки соответствуют нормальному распределению, не зависят от времени и предсказанной концентрации, что подтверждает верность выбора модели ошибки (Рисунок 36).



Примечание: ФПР – функция предсказанного распределения

Рисунок 36 – Распределение взвешенных остатков индивидуальных предсказаний (IWRES) при применении постоянной (слева) и экспоненциальной (справа) моделей распределения

Характеристики популяционной модели анастрозола приведены в разделе 3.3.4

В исследовании ФК анастрозола был собран набор ковариат, характеристики которых приведены в Таблице 29.

Таблица 29 – Индивидуальные характеристики участников исследования БЭ препаратов анастрозола

Ковариаты	Среднее \pm SD	Разброс
Возраст, лет	50,6 \pm 4,1	45 – 55
Вес, кг	60,8 \pm 5,1	52,3 – 71,2
Индекс массы тела (ИМТ)	22,56 \pm 1,96	18,31 – 25,9
Рост, см	165 \pm 8	150 – 175
Площадь поверхности тела (BSA), м ²	1,59 \pm 0,36	1,48 – 1,86
Идеальная масса тела (IBW), кг	56,50 \pm 6,88	43,0 – 65,5
Клиренс креатинина	81,98 \pm 13,53	58,08 – 102,68

Продолжение Таблицы 29

АЛТ, Ед/л	20,2 ± 6,7	11 – 33
АСТ, Ед/л	22,0 ± 5,4	14 – 35
Билирубин общий, мкмоль/л	8,1 ± 3,2	2,9 – 14,9
ЩФ, Ед/л	207,8 ± 58,4	93 – 319
Креатинин, мкмоль/л	70,7 ± 10,8	53 – 92
ФСГ, мЕд/л	85,4 ± 28,3	49,8 – 144,4
Эстрадиол, пг/мл	19,61 ± 6,96	3 – 29
Гемоглобин, г/л	130,8 ± 10,5	112 – 148
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,49 ± 0,24	4,11 – 5,04
Гематокрит, %	39,4 ± 2,7	34,7 – 44,8

Тестировали влияние на кинетику анастрозола индивидуальных характеристик: возраст, масса, индекс массы тела, уровень креатинина, клиренс креатинина, уровни АСТ и АЛТ. Обнаружены важные зависимости «Возраст → клиренс» и «ИМТ → объем центральной камеры». Их добавление в ПФК-модель снизило коэффициент необъясненной межиндивидуальной вариации Cl с 34,2% до 27,8%, а $V1$ с 32,2% до 18,5%, повышая качество индивидуальных предсказаний, что отразилось на снижении величина BIC с 1143 до 1137 (Таблица 30).

Таблица 30 – Тестирование влияния ковариат на ФК-параметры ФК

Ковариата – ФК-параметр	-2LL	AIC	BIC	p-величина (тест Вальда)
Исходные оценки (без ковариат)	1111	1133	1143	–
Возраст → Cl	1104	1128	1139	0,0049
ИМТ → $V1$ (с учетом одновременного влияния возраста на Cl)	1089	1125	1137	0,0002

Центрирование и лог-преобразование ковариат не увеличивало предсказательную ценность модели, лишь усложняя интерпретацию финальных зависимостей, что указывает на линейность связи предикторов и ФК-параметров в лог-координатах. Влияние возраста на Cl и ИМТ на $V1$ (объем распределения в центральной камере) описывается формулами (Рисунок 37): $V1_i = 2 \cdot \exp(0,154 \cdot \text{ИМТ}) \cdot \exp(\eta_i V1)$, и $Cl_i = 14,8 \cdot \exp(-0,048 \cdot \text{возраст}) \cdot \exp(\eta_i Cl)$,

где $V1_i$ и Cl_i – индивидуальные ФК-параметры субъекта i ; $\eta_i V1$ и $\eta_i Cl$ – векторы их остаточной ошибки, необъясненной ковариатами. Эти нормально распределенные остатки центрированы в нуле с дисперсией ω^2 :

$\eta Cl \sim N(0; 0,278^2) \equiv \eta Cl \sim N(0; 0,078)$, и $\eta V1 \sim N(0; 0,185^2) \equiv \eta V1 \sim N(0; 0,034)$.

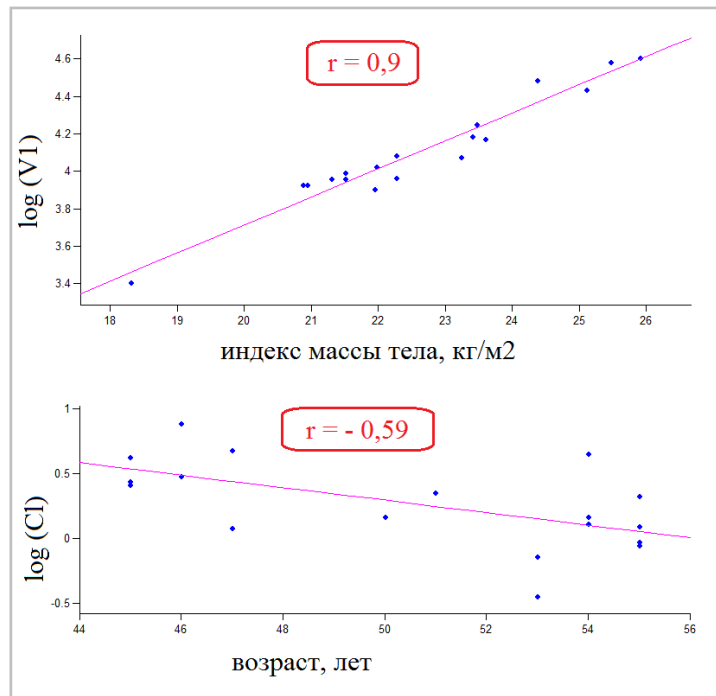


Рисунок 37 – Зависимость Cl от возраста и V1 от ИМТ (анастрозол)

Анастрозол как липофильное вещество проявляет тропность к жиросодержащим тканям. Поэтому с повышением ИМТ увеличивается доля препарата, проникающего в периферическую камеру, снижая его содержание в центральной камере, что отражается увеличением центрального объема распределения (V1).

ИМТ – очень важный для эффективности терапии предиктор. Установлен более высокий исходный уровень эстрогенов у пациенток с ГПРМЖ при повышенном ИМТ ($n = 54$) [Folkerd E. J. et al., 2012]. В крупном проспективном исследовании изучали связь смертности от РМЖ с ИМТ на протяжении около 7,8 лет после терапии. Среди 14948 пациенток с РМЖ I–III степени, диагностированным с 1990 по 2006 гг., было задокументировано 2140 смертей и 2065 рецидивов. Женщины с ожирением ($ИМТ > 30,0 \text{ кг/м}^2$) имели более высокий риск смерти (18,5–24,9) ИМТ (ОШ = 1,81; 95% ДИ: 1,42 ÷ 2,32) [Kwan M. L. et al., 2012]. Другие исследования [Sestak I. E. et al., 2010; Pfeiler G. et al., 2013] также показали, что повышенный ИМТ и ожирение ухудшают прогноз лечения анастрозолом ГПРМЖ. Еще в одном исследовании продление срока терапии анастрозолом в течение 3-х лет (после адьювантной терапии) при ГПРМЖ в два раза увеличивало

безрецидивную выживаемость у женщин с нормальным ИМТ и отсутствие улучшения прогноза у женщин с повышенным ИМТ [Gnant M. et al., 2013].

В ткани опухоли содержание эстрогенов в 10–20 раз выше, чем в крови, что объясняется как повышенной экспрессией их рецепторов, так и собственным синтезом эстрогенов в ткани опухоли. Повышенный синтез эстрогенов в ткани опухоли молочной железы и в непосредственной близости от нее был установлен А. Brodie и соавт. [Brodie A. et al, 1997]. Поэтому ухудшение прогноза лечения ГПРМЖ анастрозолом при повышенном ИМТ можно объяснить 2-мя причинами: увеличением в организме содержания жировой ткани как фонового гормонального источника и снижением концентрации препарата в целевой опухолевой ткани.

Возрастание ИМТ в основном происходит за счет накопления жировой ткани, что прямо наращивает объем периферической камеры. Таким образом, с одной стороны при увеличении ИМТ возрастает объем периферической камеры, а с другой – возрастает доля поступившего туда анастрозола. От соотношения объема камеры и количества проникающего туда вещества будет зависеть концентрация препарата в камере. Меньшие концентрации будут означать меньшую степень ингибирования ароматазы в жировой ткани, и, соответственно, более высокий уровень поступления эстрогенов в кровь, что снизит эффективность лечения.

С другой стороны, опухолевая ткань сильно васкуляризована и с точки зрения ФК относится к центральной камере. Так как уровень эстрогенов в опухоли в большей степени определен их локальным синтезом непосредственно в самой ткани опухоли [Brodie A. et al, 1997], эффективность подавления этого процесса напрямую будет зависеть от концентрации анастрозола в центральной камере. В этом свете выявленная зависимость V1 от ИМТ означает снижение уровня препарата в ткани самой опухоли с возрастанием ИМТ, что снижает эффективность терапии.

Таким образом, предикторы, влияющие на объемы распределения ИА, будут иметь отношение к эффективности терапии, а верификация их влияния – важная задача будущих исследований.

Анастрозол хорошо переносится в диапазоне доз от 1 до 10 мг/сут, что дает возможность решить проблему недостаточной эффективности лечения ГПРМЖ у пациенток с большим ИМТ увеличением дозировок препарата. Такие же выводы отмечаются рядом авторов [Plourde P. V. et al., 1995; Kelly C. M., Buzdar A.U., 2010].

Зависимость V2 от ИМТ не была выявлена, по-видимому, из-за малого разброса величины предиктора (18,31–25,9).

Зависимость клиренса анастрозола от возраста в целом согласуется с общей тенденцией, характерной для большинства препаратов: почечный и печеночный клиренс с возрастом обычно уменьшаются.

Препарат в основном элиминируется путем печеночного метаболизма (на 85%), однако даже сильное снижение функции печени не способно повлиять на его плазменный уровень. Такая же картина наблюдается и при почечной недостаточности, что отражает перенаправление элиминации при выключении одного пути на другой. Ранее в более масштабных исследованиях не было обнаружено зависимости кинетики анастрозола от возраста [FDA. Arimidex. Label., 02.05.2014].

В нашем примере не было обнаружено сколь-нибудь заметной связи клиренса и уровня креатинина, что, по-видимому, связано с небольшим разбросом уровня креатинина в выборке как основного предиктора снижения функции выделительных систем. Так как даже значимое снижение элиминации анастрозола не требует коррекции дозировок, обнаруженную зависимость его клиренса от возраста можно рассматривать как не имеющую практической ценности.

Параметрическое моделирование равновесных концентраций анастрозола на фоне многократного приема провели на основе установленных популяционных ФК-параметров для рекомендованного режима применения 1 мг в сутки (

Рисунок 38). Было установлено, что по прошествии 2 недель после начала приема препарата концентрации достигают равновесных значений, которые были сопоставимы с величинами, смоделированными нами ранее в программе rCalc на основе параметров 1-камерной модели определенных в софте WinNonLin (C_{ss_max} : $41,0 \pm 16,2$ нг/мл; C_{ss_min} : $31,2 \pm 13,5$ нг/мл; средняя равновесная концентрация (C_{ss_avg}): $35,8 \pm 14,8$ нг/мл) [Платова А. И., Мирошниченко И. И., 2013], а также с измеренными у пациентов концентрациями (FDA, Arimidex, электронная база данных), что означает отсутствие зависимости кинетики препарата от времени и подтверждает возможность применения нашей модели в ТЛМ.

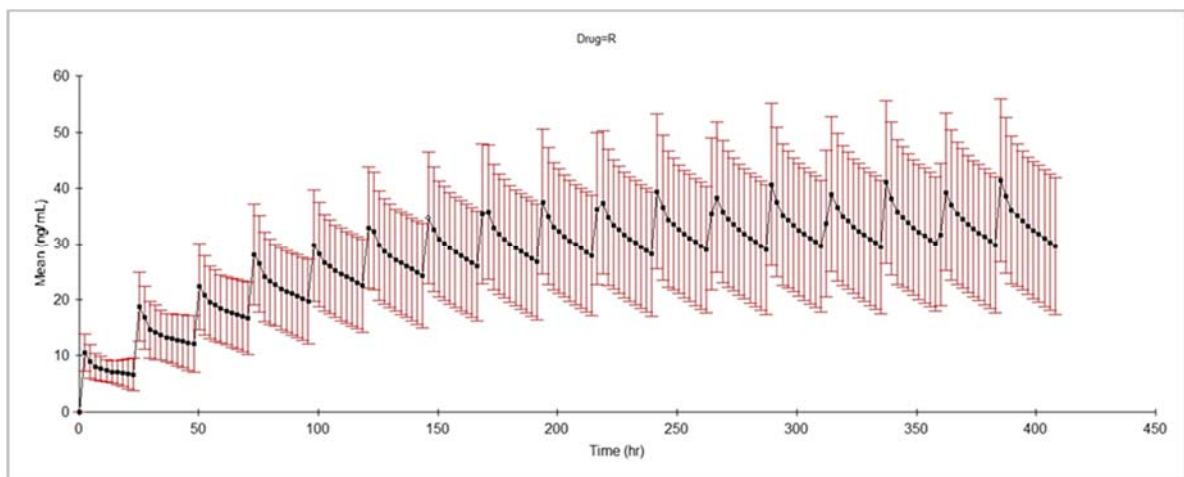


Рисунок 38 – Смоделированные концентрации для анастрозола в режиме 1 мг/сутки (по оси абсцисс – время в часах, по оси ординат – концентрация в нг/мл)

3.3.2 Летрозол

При тестировании разных моделей наилучшее соответствие предсказанных и измеренных концентраций получено с помощью 2-камерной модели с абсорбцией и элиминацией первого порядка (Таблица 31). Рисунок 39 демонстрирует более качественную регрессию для индивидуальных и популяционных предсказаний по отношению к измеренным концентрациям при моделировании 2-камерной кинетикой по сравнению с 1-камерной.

Таблица 31 – Выбор структурной ФК-модели на основе информационных критериев (летрозол)

Структурная (фармакокинетическая) модель	-2LL	AIC	BIC
1-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	3941,5	3955,5	3965,7
2-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	3679,1	3701,9	3718,0
3-комpartmentная с абсорбцией и элиминацией 1-го порядка	3680,1	3709,1	3731,1
2-комpartmentная с абсорбцией 0-го порядка и элиминацией 1-го порядка	3686,8	3738,8	3754,9
2-комpartmentная с абсорбцией 1-го порядка и элиминацией Михаэлиса-Ментен	3801,1	3827,1	3846,1

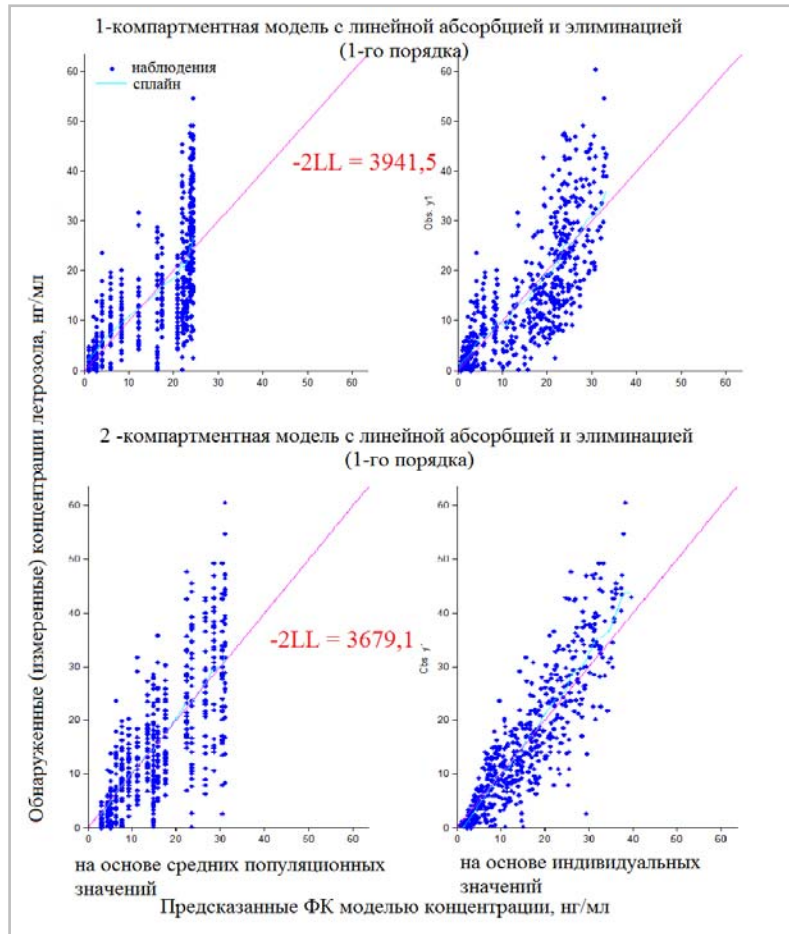


Рисунок 39 – Регрессионные соотношения эмпирических и предсказанных концентраций летрозола

Двухкамерная модель кинетики летрозола была выбрана для популяции корейских мужчин [Jin S. J. et al., 2012]. В другой работе для сравнения однократного и многократного приема применяли однокамерную модель (у здоровых японок в постклимактерическом состоянии, $n=25$), возможно для простоты интерпретации [Tanii H. et al., 2011].

В одном случае [Tanii H. et al., 2011] абсорбцию летрозола описывали кинетикой первого порядка, как и в нашем исследовании, а в другом исследовании [Jin S. J. et al., 2012] – нулевым порядком. Абсорбция может осуществляться посредством разных механизмов: например, пассивной диффузией, насыщаемой кинетикой активного транспорта или эндоцитозом. Однако, последние типы достаточно редки. Физико-химические свойства летрозола ($pK_b = 2,17$; $\lg(P) = 1,86-2,94$) подобны анастрозолу [База данных DrugBank, электронный ресурс, URL: www.drugbank.ca]. Предпосылки для активного транспорта летрозола при поглощении из ЖКТ отсутствуют. Поэтому, руководствуясь рассуждениями, аналогичными представленным в Разделе 3.3.1, а также, основываясь на предсказательной ценности разных моделей, для описания кинетики летрозола была выбрана модель абсорбции 1-го порядка. В обоих приведенных

публикациях элиминация летрозола после однократного приема рассматривалась как линейный процесс и описывалась кинетикой 1 порядка.

Комбинированный тип распределения остатков сводил к минимуму величину информационных критериев (Таблица 32) и обеспечил нормальность распределения стандартизованных остатков (Рисунок 40).

Таблица 32 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (летрозол)

Шаг	Тип остаточной ошибки	AIC	BIC	-2LL	P-величина *
1	Постоянная	3707,8	3723,9	3685,8	
2	Пропорциональная	3619,8	3636,0	3597,8	< 0,0001
3	Экспоненциальная	4860,2	4877,8	4836,2	> 0,5
4	Комбинированная 1-го типа	3599,5	3617,1	3575,5	< 0,0001

Примечания: за нулевую гипотезу принимали тип распределения остатков, принятый на предыдущем шаге, за альтернативную гипотезу – тип, принятый на следующем шаге; * – LRT при сравнении с типом распределения ошибки, тестируемом на предыдущем шаге.

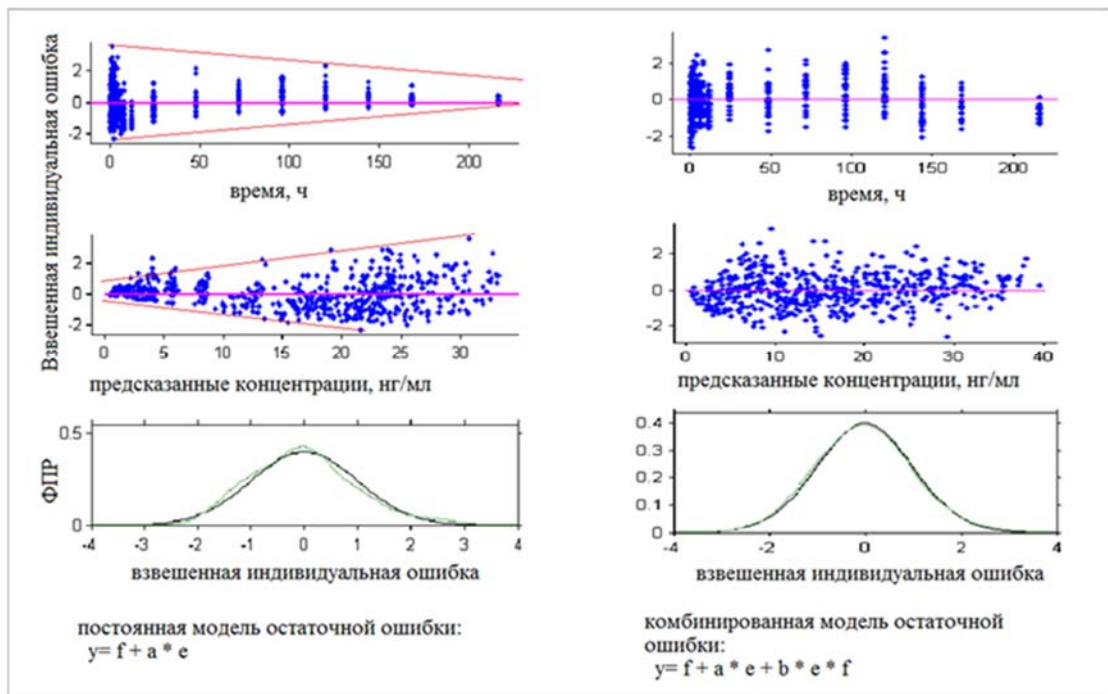


Рисунок 40 – Сравнение распределений остатков при постоянной (слева) комбинированной (справа) моделях

Характеристики популяционной модели летрозола приведены в разделе 3.3.4

Для каждого участника исследования был собран набор индивидуальных характеристик, описательные статистики которых приведены в Таблице 33.

Таблица 33 – Индивидуальные характеристики, собранные в ходе исследования БЭ препаратов летрозола

Ковариаты	Среднее \pm SD	Разброс
Возраст, лет	50,5 \pm 3,4	45 – 55
Вес, кг	78,1 \pm 10,5	48,0 – 91,0
Индекс Кетле (ИМТ)	27,4 \pm 2,9	20,0 – 34,0
Рост, см	167,5 \pm 6,9	156 – 182
Площадь поверхности тела (BSA), м ²	1,9 \pm 0,2	1,4 – 2,1
Идеальная масса тела (IBW), кг	58,8 \pm 6,2	48,4 – 71,8
Клиренс креатинина	93,8 \pm 16,4	59,6 – 120,2
АЛТ, Ед/л	21,4 \pm 6,2	7,0 – 37,0
АСТ, Ед/л	23,3 \pm 4,7	11,0 – 35,0
Билирубин общий, мкмоль/л	10,8 \pm 1,8	8,0 – 14,0
ЩФ, Ед/л	221,8 \pm 58,0	130,0 – 430,0
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), Ед/л	368,4 \pm 64,7	256,0 – 539,0
Креатинин, мкмоль/л	78,7 \pm 9,4	62,0 – 100,0
Альбумин, г/л	44,3 \pm 3,7	39,0 – 54,0
Общий белок, г/л	73,0 \pm 2,6	67,0 – 78,0
Гемоглобин, г/л	130,2 \pm 8,1	119,0 – 156,0
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,4 \pm 0,3	3,9 – 5,2
Гематокрит, %	40,4 \pm 2,9	35,4 – 47,2

В первую очередь интерес представляло тестирование возможного влияния: (1) показателей печеночной функции – АЛТ, АСТ, ЩФ, билирубина на системный (C1) и пресистемный клиренс (как предиктор Ка) летрозола: с учетом основной роли печеночного метаболизма в его элиминации; (2) возраста – на клиренс (C1); (3) общего белка и альбумина – на межкамерный клиренс (летрозол в значительной степени – на 80%, связывается с белками плазмы, что может влиять на его распределение между камерами); (4) ИМТ, IBW, BSA на объемы распределения в центральной (V1) и периферической камерах (V2), что могло-бы прояснить снижение эффективности летрозола при повышенном ИМТ.

В ходе анализа изначально включенные в модель предикторы для V2, гемоглобин и креатинин, были исключены при дальнейшем их пошаговом удалении, в так называемом «обратном» порядке. Кроме того, эти связи представлялись физиологически необоснованными. В результате были приняты следующие корреляции: АЛТ и Ка, ИМТ и V1, а также Q (межкамерный клиренс) с общим уровнем белка крови (Рисунок 41).

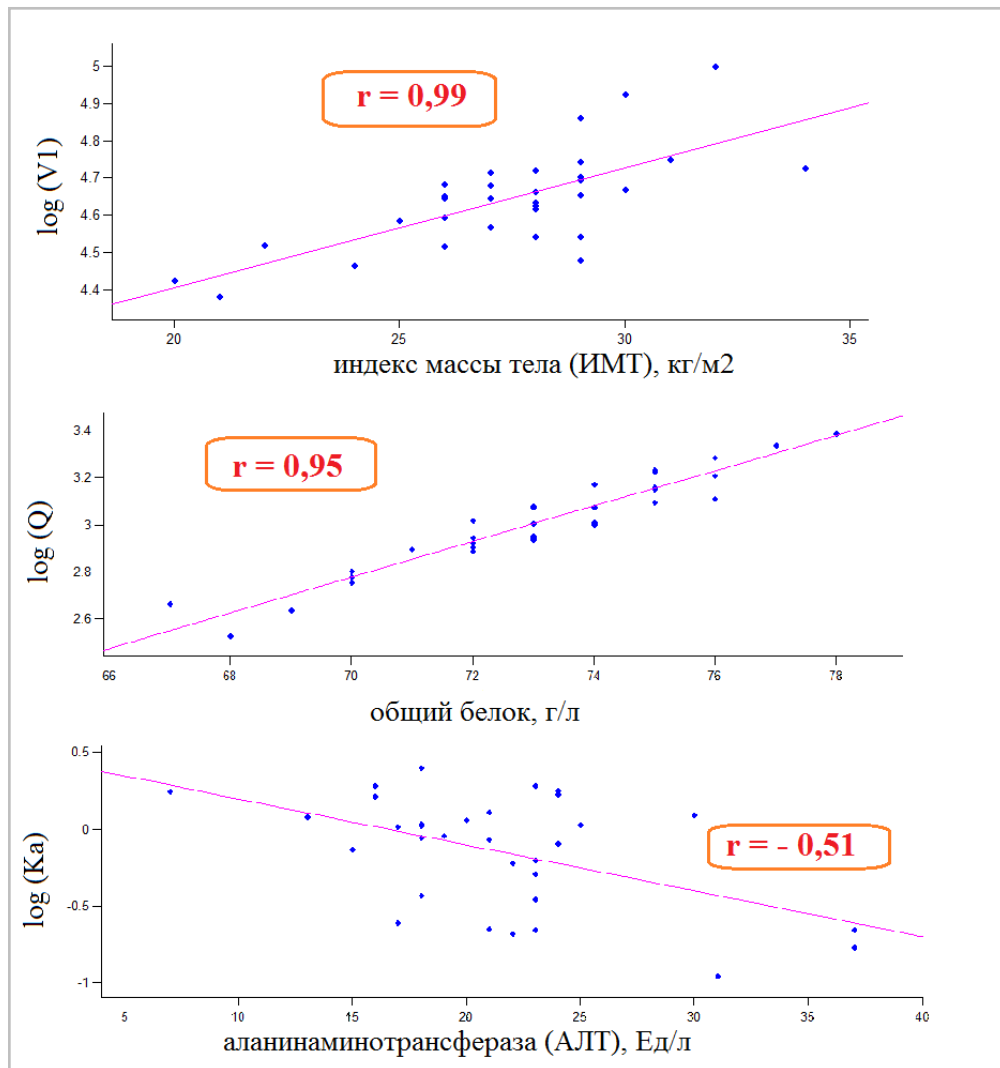


Рисунок 41 – Графики корреляционных зависимостей для летрозола

Добавление этих предикторов в популяционную модель увеличило степень правдоподобия популяционных оценок (Таблица 34).

Таблица 34 – Влияние различных ковариат на ФК-параметры летрозола

С учетом влияния ковариат на ФК-параметр	-2LL	AIC	BIC	p-величина (тест Вальда)
Исходные оценки (без ковариат)	3576,0	3600,0	3617,6	–
АЛТ на Ка	3552,18	3584,18	3607,6	0,034
ИМТ на V1*	3542,8	3570,8	3509,3	0,014
Общий белок на Q*	3527,3	3557,3	3479,3	0,038

Примечание: * с учетом одновременного влияния предварительно включенных в модель ковариат

Таким образом, результирующую популяционную модель описывали формулами:

$$Ka_i = 1,67 \cdot \exp(-0,03 \cdot \text{АЛТ}) \cdot \exp(\eta_i Ka);$$

$$Q_i = 0,086 \cdot \exp(0,075 \cdot \text{общ. белок}) \cdot \exp(\eta_i Q);$$

$$V1_i = 9,8 \cdot \exp(0,05 \cdot \text{ИМТ}) \cdot \exp(\eta_i V1);$$

где Ka_i , $V1_i$ и Q_i – ФК-параметры субъекта i , а $\eta_i Ka$, $\eta_i V1$ и $\eta_i Q$ – векторы необъясненной остаточной ошибки этих величин. Эти нормально распределенные остатки центрированы в нуле с дисперсией ω^2 :

$$\eta Ka \sim N(0; 0,39^2) \equiv \eta Ka \sim N(0; 0,15),$$

$$\eta Q \sim N(0; 0,16^2) \equiv \eta Q \sim N(0; 0,03),$$

$$\eta V1 \sim N(0; 0,06^2) \equiv \eta V2 \sim N(0; 0,0036).$$

Включение предикторов в финальную популяционную модель снизило межиндивидуальную вариацию (CV%) для Ка с 49,5% до 38,6%, Q с 26,8% до 16,3% и V1 с 11,2% до 5,7%, улучшив качество предсказаний: величина -2LL упала с 3576,0 до 3527,3.

Выявленная зависимость V1 от ИМТ согласуется с результатами масштабного исследования у пациенток с ГПРМЖ (n=284) с применением устоявшихся статистических тестов (критерии Хи-квадрат и Крускала-Уоллиса с поправкой Даннета для множественных сравнений), где была показана отрицательная корреляция плазменных концентраций летрозола и ИМТ [Desta Z. et al., 2011].

В нашей работе и в исследовании Pfister C. U. и соавт. не обнаружено влияния возраста на клиренс, видимо из-за малого разброса величины возраста (45 – 55 лет), в отличие от исследования Desta Z. и соавторов (от 18 лет и старше) [Pfister C. U. et al., 2001; Desta Z. et al., 2011].

Корреляция V1 и ИМТ может иметь важное практическое значение. Летрозол является сильно липофильным веществом, и очевидно, что чем больше массовая доля жиросодержащих тканей (как компартамента) присутствует в организме, тем более низкие концентрации летрозола

будут обнаруживаться в крови и межтканевой плазме (центральная камера). При этом прогностическое значение имеет количество ароматазы, образуемой в прилегающей к опухоли жировой ткани, которая относится к периферической камере. Снижение плазменных концентраций летрозола уменьшает его доступность для этой целевой ткани, поэтому возможно, что увеличение ИМТ может быть неблагоприятным фактором для эффективности летрозола. При этом важно дальнейшее выявление других предикторов, связанных с объемом периферической камеры – V2.

Общий белок крови показал очень тесную связь ($r = 0,95$) с межкамерным клиренсом Q. Межкамерный клиренс (Q) и условные объемы камер характеризуются отношениями:

$Q = V1 \cdot K_{12} = V2 \cdot K_{21}$. Доля летрозола, связанного с плазменными белками (в основном альбумином) составляет 60%. Прямая зависимость Q от уровня белка означает, что чем больше уровень плазменного белка, тем большее количество препарата удерживается в центральной камере, и тем больше V1 и Q, соответственно. Однако, взаимосвязь V1 и уровня белка крови не прослеживается. Кроме того, высокая достоверность этой корреляции не позволяет ее оценивать как случайную [Owen J. S., Fiedler-Kelly J., 2014]. Поэтому другим объяснением может быть предположение переноса летрозола в периферическую камеру с белками (по аналогии с межкамерным транспортом стероидных гормонов).

Высокоспецифичное блокирование летрозолом ферментативной активности аминотрансфераз [Chumsri S., 2015] могло бы стать объяснением Отрицательная корреляция АЛТ и Ка.

Так как лабораторное определение уровня этих ферментов основано на измерении их активности, отрицательная связь Ка и АЛТ могла бы объясняться снижением активности фермента при повышении уровня летрозола в крови. В нашем исследовании содержание АЛТ и АСТ определяли до приема препарата, поэтому блокировкой аминотрансфераз объяснить полученную зависимость не удастся.

Так как абсолютная биодоступность (степень всасывания) летрозола при приеме внутрь практически полная (99,9%), очевидно, что пресистемный метаболизм у препарата отсутствует. Однако константа абсорбции характеризует не только степень, но и скорость поглощения вещества из ЖКТ, которая у многих препаратов напрямую зависит от величины кровотока в печени. Уровень печеночных ферментов в крови косвенно отражает работу этого органа и возможно также связан с его перфузией. Другими словами, взаимосвязь Ка и АЛТ может быть опосредована скоростью печеночного кровотока. Так или иначе связь Ка летрозола и АЛТ крови представляется интересной, перекликаясь с зависимостью кинетики летрозола от другого печеночного фермента АСТ, выявленной в японской популяции [Tani H. et al., 2011].

Параметрическое моделирование равновесных концентраций (C_{ss}) при многократном приеме было основано на популяционных оценках после однократного приема. Рассчитанный для приема 2,5 мг/сут диапазон равновесных концентраций C_{ss} 75 – 110 нг/мл был ниже уровня, заявленного разработчиком препарата 100 – 143 нг/мл [FDA. NDA 20–726, Femara]. Также, смоделированный диапазон был меньше измеренного в исследовании 2 фазы у пациенток с РМЖ: 100–133 нг/мл. Причем в этом же исследовании уровень C_{max} после однократного приема (около 30,5 нг/мл) был ниже, а $T_{1/2}$ выше, нежели в нашем исследовании БЭ ($C_{max} = 41,3 \pm 8,5$ нг/мл; $T_{1/2} = 35,1 \pm 18,7$ ч). Такая нелинейность ФК при многократном приеме может объясняться насыщением или аутоингибированием опосредованного CYP2A6 метаболизма с дальнейшим восстановлением линейности процесса из-за перераспределения элиминации на CYP3A4 [Pfister C.U. et al., 2001].

В 2-х исследованиях 1 фазы у здоровых женщин в постклимактерическом периоде в Японии после однократного приема летрозола наблюдали огромную межиндивидуальную вариацию параметров $T_{1/2}$ (19,3–149,3 ч) и CL/F (0,482–3,26 л/ч). При многократном приеме $T_{1/2}$ удлинялся при одновременном снижении CL/F . Уровень C_{max} в равновесном состоянии составлял $186,1 \pm 59,1$ и $151,9 \pm 52,8$ нг/мл, что превышает смоделированные величины, что подтверждает насыщаемый характер элиминации летрозола [Tani H. et al., 2011].

Результаты получены совместно с д. м. н. Мирошниченко И. И. [Платова А. И., Мирошниченко И. И., 2014].

3.3.3 Рисперидон, 9-ОН-рисперидон и активная антипсихотическая фракция рисперидона

Выбор наиболее предсказательных ФК-моделей. Для начала кинетику рисперидона (РИС) и его метаболита – 9-ОН-рисперидона (9-ОН-РИС) моделировали по отдельности. Для моделирования кинетики метаболита дозы и концентрации выражали в молярных единицах. Для РИС оптимальное качество предсказаний получено с помощью 2-камерной модели с линейными абсорбцией и элиминацией (Рисунок 42), минимизирующей информационный критерий ВИС (Таблица 35). Такая же модель была выбрана в большом популяционном исследовании кинетики рисперидона, включающем 5 232 измерения концентрации [Laffont C. M. et al., 2014]. Результаты ПФК-анализа рисперидона получены совместно с д. м. н. А. Г. Соколовичем [Платова А. И., Соколович А.Г., 2014].

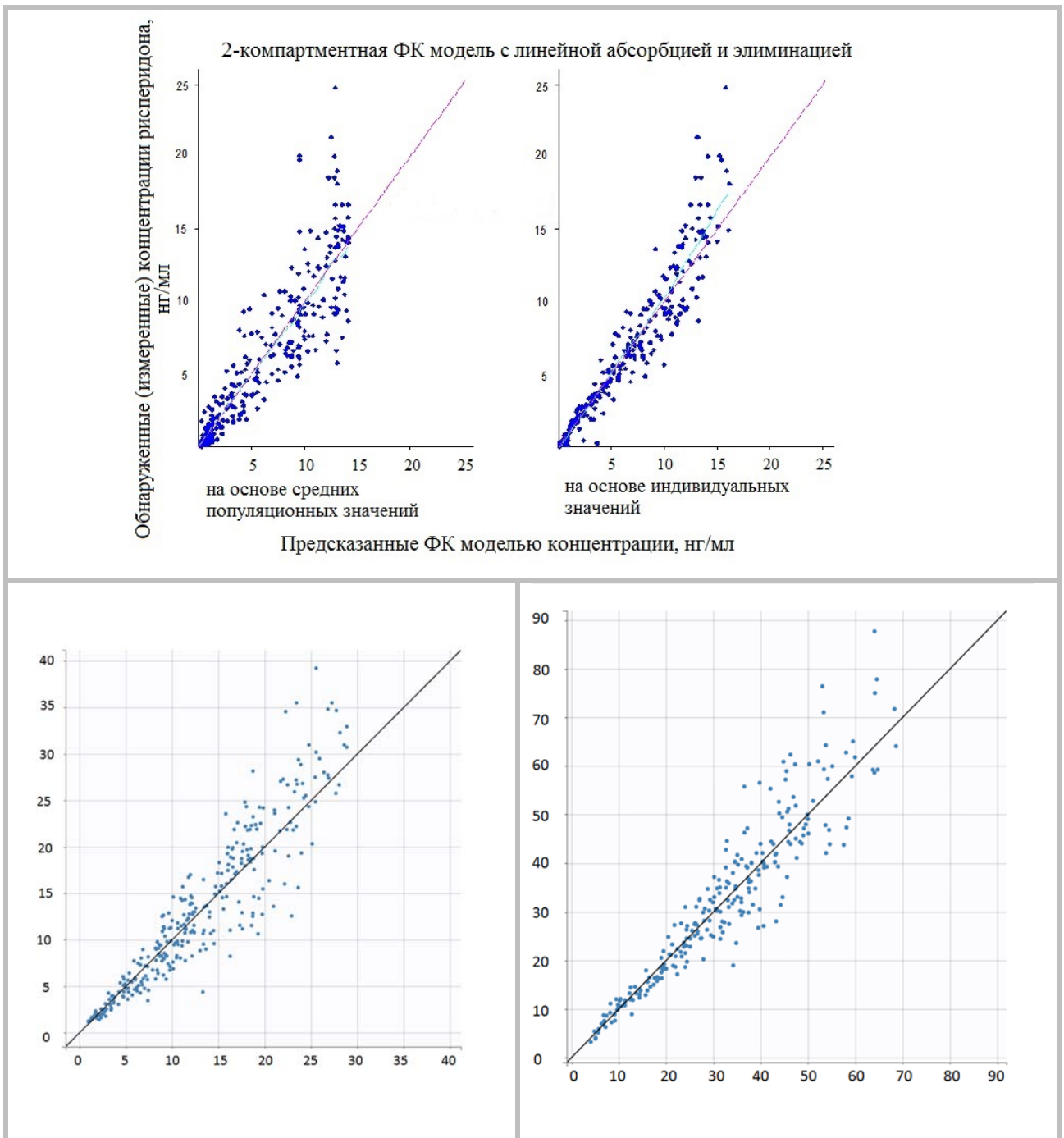
Оптимальное описание кинетики 9-ОН-РИС формализуется 1-камерной моделью с линейными константами абсорбции и элиминации.

Так как практическое значение имеет именно сумма концентраций РИС и его активного метаболита 9-ОН-РИС, называемая активной антипсихотической фракцией (АМ, от англ. «active moiety») было важно изучить ее кинетику в терминах компартментного анализа, которая была

хорошо формализована 2-камерной моделью с нулевой константой «поступления» АМ РИС и константой элиминации 1-го порядка. Очевидно, что для нулевой абсорбции каждого компонента по-отдельности, а значит и для их суммы, нет объективных причин, поэтому вопрос, почему абсорбция АМ имитирует картину постоянной скорости поступления в центральную камеру, остается открытым. К тому же модель с нулевой скоростью абсорбции не прошла проверку по графику рс-VPC, поэтому за основу была принята модель с кинетическими процессами 1-го порядка (Таблица 35, Рисунок 42).

Таблица 35 – Определение структурных моделей для описания кинетики рисперидона и 9-ОН-рисперидона по-отдельности, а также их суммы

Рисперидон		9-ОН-рисперидон		АМ рисперидона	
ФК-модель	ВКС	ФК-модель	ВКС	ФК-модель	ВКС
1-камерная с кинетикой 1-го порядка	1162,04	1-камерная с кинетикой 1-го порядка	1732,31	1-камерная с кинетикой 1-го порядка	1741,62
2-камерная с кинетикой 1-го порядка	1134,07	2-камерная с кинетикой 1-го порядка	1743,53	2-камерная с кинетикой 1-го порядка	1704,69
3-камерная с кинетикой 1-го порядка	1141,02	3-камерная с кинетикой 1-го порядка	1753,24	3-камерная с кинетикой 1-го порядка	1715,90
2-камерная с абсорбцией 0-го порядка	1137,13	1-камерная с абсорбцией 0-го порядка	1763,10	2-камерная с абсорбцией 0-го порядка	1692,02
2-камерная с абсорбцией 1-го порядка и элиминацией по Михаэлису-Ментен	1141,06	1-камерная с абсорбцией 1-го порядка и элиминацией по Михаэлису-Ментен	1749,67	2-камерная с абсорбцией 0-го порядка и элиминацией по Михаэлису-Ментен	1697,79



Примечания: Вверху – РИС (2х-камерная модель с линейной кинетикой); внизу – индивидуальные предсказания для 9-ОН-РИС, 1- камерная модель с линейной кинетикой (слева) и АМ РИС: 2х- камерная модель с линейной кинетикой (справа). Концентрации РИС выражены в нг/мл, 9-ОН-РИС и АМ – в пМ/мл.

Рисунок 42 – Регрессионные соотношения эмпирических (по оси абсцисс) и предсказанных концентраций (по оси ординат) для ризперидона, его метаболита и АМ РИС

Установлено, кинетика РИС лучше всего описывалась при комбинированном типе распределения остатков, а кинетика 9-ОН-РИС и АМ РИС – при пропорциональном типе их распределения (Таблица 36).

Таблица 36 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (рисперидон, 9-ОН-РИС, АМ РИС)

Шаг	Тип остаточной ошибки	Величина информационного критерия ВИС		
		Рисперидон	9-ОН-РИС	АМ РИС
1	постоянная	1134,07	1732,31	1704,69
2	пропорциональная	1109,53 (p < 0,05)	1491,43 (p < 0,01)	1596,40 (p < 0,01)
3	комбинированная 1 типа	913,84 (p < 0,01)	1491,18 (p > 0,05)	1599,75 (p > 0,05)

Примечания: за нулевую гипотезу принимали тип распределения остатков, принятый на предыдущем шаге, за альтернативную гипотезу – тип, принятый на следующем шаге; p-величина LRT при сравнении с типом распределения ошибки, тестируемом на предыдущем шаге.

Комбинированный тип остаточной ошибки в моделировании кинетики РИС обеспечил их равномерное выстраивание по времени и величине концентрации, соответствие свойствам нормального распределения с центром в нуле, что подтверждает верность моделирования типа распределения остатков (

Рисунок 43).

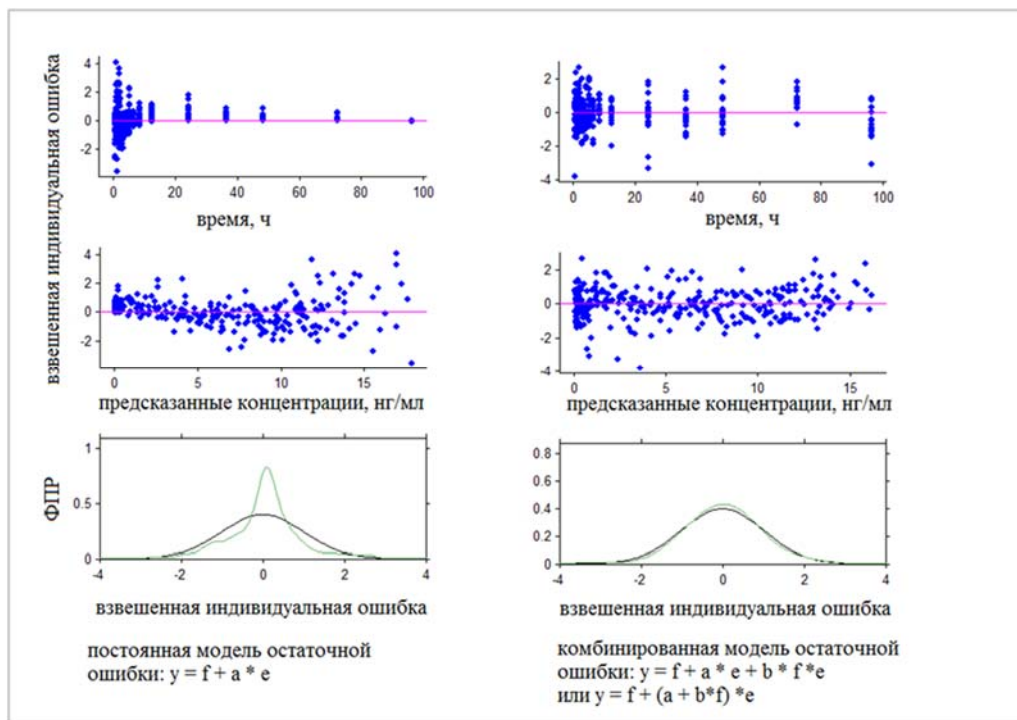


Рисунок 43 – Плотность распределения стандартизованных остатков с учетом постоянного (слева) и комбинированного (справа) ее типов (рисперидон)

Модель кинетики АМ РИС после однократного приема имеет гораздо большую точность, если ее представлять как одно абстрактное вещество, нежели сумму 2-х компонентов.

Кинетические модели работают с количествами веществ, поэтому входы (дозы) и выходы модели (концентрации) были переведены в молярные, а не массовые величины.

Кинетика АМ РИС обладает большей предсказательной ценностью по сравнению с моделью суммы 2-х компонентов с метаболизмом (ВС составляла 1704,69 и 2286,14, соответственно). Действительно, дисперсия остатков суммы 2-х величин не бывает меньше суммы их дисперсий, что сильно снижает предсказательную ценность. Кроме того, из-за полиморфизма генов метаболизирующих РИС цитохромов на практике трудно добиться хорошего соответствия для моделей с метаболитом. Представление кинетики АМ РИС как отдельного «вещества», избавляет от необходимости генотипирования, что значительно улучшает индивидуальные предсказания. Причем качество этих предсказаний даже лучше модели кинетики только одного метаболита 9-ОН-РИС (Таблица 35, Рисунок 42).

Популяционные характеристики для АМ приведены в таблице 37.

Таблица 37 – Популяционные характеристики кинетики АМ после однократного приема рисперидона

ФК-параметры модели	Фиксированные эффекты			Случайные эффекты		
	Θ	s.e.	RSE (%)	ω	s.e.	RSE (%)
Ка, ч ⁻¹	0,278	0,032	11,5	0,07	0,136	194
С1, л/ч	4,92	0,495	10,1	0,312	0,070	22,3
V1, л*	7,44	1,84	24,7	0,805	0,154	19,1
Q, л/ч	16,4	1,65	10,1	0,169	0,058	34,4
V2, л	167	17,6	10,5	0,2	0,086	43,2
Параметры модели остаточной ошибки						
b	0,174	0,009	5,3	–	–	–

Примечания: данные представлены как оценка соответствующей величины \pm стандартная ошибка этой оценки, вычисленная по линеаризованной форме (s.e.); Θ – популяционное среднее ФК-параметра, ω – выражает выборочную вариацию ФК-параметра (в долях от единицы), RSE – относительное отклонение стандартной ошибки s.e.; a и b – коэффициенты модели ошибок предсказания концентрации.

* – для однокамерной модели под параметром V1 понимают V.

Параметры популяционных моделей кинетики РИС и 9-ОН-РИС приведены в разделе 3.3.4.

Тестирование ковариат. Выборочные характеристики изучаемых ковариат приведены в Таблице 38.

Таблица 38 – Характеристики участников исследования биоэквивалентности препаратов рисперидона

Ковариаты	Среднее \pm SD	Разброс
Возраст, лет	29,8 \pm 8,9	19 – 44
Вес, кг	65,6 \pm 7,5	53,0 – 80,0
Индекс Кетле (ИМТ)	22,4 \pm 1,3	20,7 – 24,7
Рост, см	170,8 \pm 6,9	160,0 – 180,0
Площадь поверхности тела (BSA), м ²	1,8 \pm 0,1	1,5 – 2,0
Идеальная масса тела (IBW), кг	61,7 \pm 6,2	52,0 – 70,0
Клиренс креатинина	115,9 \pm 27,8	63,4 – 165,6
АЛТ, Ед/л	16,2 \pm 6,1	8,0 – 30,0
АСТ, Ед/л	20,4 \pm 6,1	13,0 – 32,0
Билирубин общий, мкмоль/л	10,3 \pm 4,2	4,4 – 18,2
ЩФ, Ед/л	184,4 \pm 51,4	40,0 – 258,0
Креатинин, мкмоль/л	75,7 \pm 16,1	47,0 – 101,0
Гемоглобин, г/л	143,3 \pm 18,2	109,0 – 172,0
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,0 \pm 0,5	4,1 – 5,8

Изучение межиндивидуальной вариации не выявило значимых ковариат для кинетики РИС. Подобный результат был получен при анализе (в программе NONMEM) объединенной базы данных по концентрации рисперидона в детской ($n = 304$) и взрослой ($n = 476$) популяциях [Thyssen A. et al., 2010]. Влияния пола на клиренс 9-ОН-РИС или АМ РИС также не обнаружено ($p=0,077$ и $p=0,24$, критерий Пирсона).

Моделирование АМ РИС при многократном приеме выполняли для интервала доз $\tau=24$ ч. При этом нормированная на дозу минимальная концентрация ($C_{ss_min}/\text{доза}$) составила 5,79 (1,12–16,91) нМоль/мл/мкМоль (медиана и разброс). Медиана этой величины по данным большого исследования с ТЛМ ($n= 3255$ пациентов) снижалась с ростом дозировок, составляя 15,2 и 7,1 пМоль/мл/мкМоль при приеме 0,5 и 8 мг, соответственно [Jönsson A. K. et al, 2019]. В другой работе с лекарственным мониторингом у детей и подростков, получавших рисперидон в дозе $2,0 \pm 1,5$ мг/сут, отношение « $C_{ss_min} / \text{доза}$ » для АМ составило около 22 ± 20 пМоль/мл/мкМоль [Sherwin C. M. et al, 2012]. У пациентов ($n=82$) еще одного исследования, получавших рисперидон в дозе $4,3 \pm 0,9$ мг, средний уровень величины « $C_{ss_min} / \text{доза}$ » составил $41,6 \pm 26,6$ нг/мл, что в молярных концентрациях приблизительно составляет 23 ± 15 пМоль/мл/мкМоль [Riedel, M. et al., 2005].

Таким образом, смоделированные для многократного приема минимальные равновесные концентрации АМ РИС были меньше величин, измеренных при лекарственном мониторинге у пациентов. Это может быть следствием насыщенности процессов элиминации АМ РИС, например секреции РИС [Alamo C., López-Muñoz F., 2013], наблюдаемом при многократном дозировании у пациентов. Достоверное снижение медианы величины C_{ss_min} /доза при увеличении дозировок (0,5–8 мг/сут) по данным крупного исследования с лекарственным мониторингом (n=3255 пациентов) также свидетельствует о насыщенности элиминации АМ РИС [Jönsson A. K. et al, 2019].

Кроме того, сопоставление величины C_{ss_min} /доза из данных разных исследований проблематично из-за разного интервал дозирования, стратификация по которому в публикациях обычно отсутствует: величина C_{ss_min} /доза возрастает с уменьшением интервала дозирования.

3.3.4 Популяционные характеристики и оценка их стабильности

Популяционные характеристики всех изучаемых веществ показывают большую вариацию индивидуальных ФК-параметров, выражаемую как относительное стандартное отклонение от популяционного среднего ω , которое для объема распределения 9-ОН-РИС превысило единицу. Сравнение популяционных характеристик, установленных независимой симуляцией по данным после приема оригинального (R) и тестируемого (T) препаратов, показало стабильность разработанных моделей (Таблица 39).

Таблица 39 - Популяционные ФК-параметры

ФК-параметр	Анастрозол		Летрозол		Рисперидон		9-ОН-рисперидон	
	(R)	(T)	(R)	(T)	(R)	(T)	(R)	(T)
Фиксированные эффекты								
$K_a, \text{ч}^{-1}$	2,03± 0,52	1,69± 0,55	0,82± 0,27	0,77± 0,32	3,03± 0,60	3,31± 0,41	0,029± 0,000	0,029± 0,001
Cl, л/ч	1,30± 0,11	1,19± 0,12	1,20± 0,12	1,36± 0,11	18,5 ± 1,7	20,4 ± 2,8	7,5± 0,6	7,9 ± 0,6
V1*, л	71,0± 11,0	82,3± 18,0	36,5± 11,0	33,5± 14,0	108,0± 4,8	120,0± 12,0	2,3 ± 0,9	2,7 ± 0,8
Q, л/ч	13,4± 6,2	13,9± 12,0	20,3 ± 2,8	18,8 ± 3,1	17,0 ± 2,3	16,5 ± 1,9	–	–
V2, л	44,9± 9,8	38,8± 17,0	110,0± 14,0	91,1± 14,0	270,0± 34,0	286,0± 42,0	–	–
Случайные эффекты (относительные стандартные отклонения фиксированных эффектов)								
ωK_a	0,486± 0,16	0,521± 0,17	0,495± 0,12	0,453± 0,12	0,718± 0,15	0,276± 0,15	0,072± 0,029	0,18± 0,039

Продолжение Таблицы 39

ω Cl	0,342± 0,06	0,405± 0,074	0,523± 0,079	0,414± 0,059	0,391± 0,068	0,567± 0,097	0,312± 0,055	0,29± 0,053
ω V1*	0,322± 0,07	0,288± 0,068	0,112± 0,35	0,144± 0,25	0,050±0,0 96	0,333± 0,066	1,34± 0,34	1,02± 0,266
ω Q	0,375± 0,52	0,235± 1,9	0,268± 0,13	0,131± 0,28	0,524± 0,1	0,388± 0,099		
ω V2	0,299± 0,15	0,203± 0,39	0,366± 0,074	0,245± 0,072	0,45± 0,1	0,476± 0,12		
Параметры модели остаточной ошибки								
a	0,25± 0,012	0,33± 0,02	1,22 ± 0,22	0,37± 0,13	0,05± 0,01	0,06 ± 0,01	–	–
b	–	–	0,31 ± 0,02	0,38± 0,02	0,23± 0,01	0,25 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,24± 0,01

Примечания: данные представлены как оценка соответствующей величины ± стандартная ошибка этой оценки, вычисленная по линеаризованной форме (s.e.); Θ – популяционное среднее ФК-параметра, ω – выражает выборочную вариацию ФК-параметра (в долях от единицы), RSE – относительное отклонение стандартной ошибки s.e.; a и b – коэффициенты модели ошибок предсказания концентрации.

* – для однокамерной модели под параметром V1 понимают V.

Эти популяционные характеристики могут быть использованы в моделировании ФК изучаемых веществ в качестве априорно задаваемой информации.

3.4 Сравнение фармакокинетики оригинальных и воспроизведенных препаратов

Сравнение по величинам C_{max} и AUC_t , полученным общепринятым НКА. 90%-ные доверительные интервалы для отношения геометрических средних [T/R] находились в приемлемых для БЭ пределах (80–125%) для всех сравниваемых препаратов. Т-критерий Уилкоксона для связанных выборок не выявил различий между оригинальными и воспроизведенными препаратами по T_{max} ($p > 0,05$ для асимптотической значимости). ANOVA не выявил влияния факторов «препарат», «последовательность» и «период» на параметры AUC_t и C_{max} . Поэтому следующие препараты были признаны фармакокинетически эквивалентными:

– Анастрозол (таблетки, покрытые пленочной оболочкой 1 мг, производства ООО «Озон», Россия) и Аримидекс® (таблетки, покрытые пленочной оболочкой 1 мг, производства «АстраЗенека Фармасьютикалс ЛП», США)

– Летрозол® Акри (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 2,5 мг, производства М. Дж. Биофарм Пвт. Лтд, Индия) и Фемара® (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 2,5 мг, производства Новартис Фарма Штейн АГ, Штейн, Швейцария)

– Рисполепт® (таблетки, покрытые пленочной оболочкой 2,0 мг, производства Янссен-Силаг С.п.А., Италия) и Рисперидон (таблетки, покрытые пленочной оболочкой 2,0 мг, производства ООО «Озон», Россия).

Тестирование БЭ на основе параметров AUCt, Cmax и Ka, полученных с помощью камерного моделирования с МСМС.

Сравнение результатов теста Шуирманна для параметров AUCt и Cmax, полученных некамерным и камерным подходом с МСМС, показало сопоставимые результаты. ДИ константы абсорбции Ka как более вариабельной величины, по сравнению с AUCt или Cmax, пересекает нижнюю границу диапазона БЭ у анастрозола и рисперидона (Таблица 40).

Таблица 40 – Результаты теста Шуирманна для ФК-параметров, оцененных НКА и КА с МСМС

Препарат/ вещество	ФК- параметр	Отношения геометрических средних [T/R] и их 90% ДИ	
		Результаты теста БЭ (метод КА с МСМС)	Результаты стандартного теста БЭ (метод НКА)
Анастрозол	Ka	85,98 % (79,88 ÷ 92,54%)	–
	Cmax	95,89 % (93,26 ÷ 98,59%)	96,34 % (90,27 ÷ 102,82 %)
	AUCt	100,50 % (99,09 ÷ 101,93%)	105,42 % (95,44 ÷ 116,45 %)
Летрозол	Ka	101,75 % (97,60 ÷ 106,08 %)	–
	Cmax	102,35 % (99,33 ÷ 105,45 %)	112,99 % (104,11 % ÷ 122,62 %)
	AUCt	99,29 % (96,19 ÷ 102,49 %)	100,01 % (89,52 % ÷ 111,72 %)
Рисперидон	Ka	92,65 % (74,91 ÷ 114,60 %)	–
	Cmax	97,67 % (93,64 ÷ 101,88 %)	93,05% (81,75% ÷ 105,82%)
	AUCt	99,64 % (96,78 ÷ 102,59 %)	93,32% (81,58% ÷ 106,74%)
9-ОН-рисперидон	Ka	100,49 % (96,58 ÷ 104,55%)	–
	Cmax	97,20 % (91,87 ÷ 102,84%)	95,07 % (88,97% ÷ 101,6 %)
	AUCt	97,05 % (92,21 ÷ 102,14%)	95,2% (88,50% ÷ 103,08 %)

3.5 Популяционный фармакокинетический анализ в терапевтическом мониторинге

3.5.1 Результаты терапевтического мониторинга рисперидона и его метаболита

Терапевтический эффект рисперидона зависит от суммарного вклада родительского вещества и его активного метаболита. Поэтому принципиально важно отслеживать нахождение их суммарной концентрации, АМ РИС, в терапевтическом диапазоне 20–60 нг/мл [Hiemke et al., 2018].

В исследовании ФГБНУ НЦПЗ при приеме РИС в суточных дозах 2–8 мг остаточные концентрации АМ РИС в 44,1% исследованных образцов находились в пределах терапевтического диапазона, 29,4% соответствовали субтерапевтическому уровню (<20 нг/мл) и 26,5% – условно-токсическому (>60 нг/мл) диапазону. Исследование было выполнено совместно с к.б.н. Баймеевой Н.В., д.м.н. Мирошниченко И.И. и д.м.н. Каледой В.Г. [Баймеева Н.В. и др., 2019].

В исследовании на базе ПКБ №1 ДЗМ концентрации РИС и 9-ОН-РИС на 1-м визите составили $23,1 \pm 35,9$ нг/мл и $36,4 \pm 34,7$ нг/мл, на 2-м визите $20,9 \pm 23,5$ и $45,8 \pm 41,8$ нг/мл, соответственно [Потанин С. С. и др., 2017]. Уровень АМ РИС в среднем составлял $64,1 \pm 49,5$ нг/мл, причем его отклонения от терапевтического диапазона на разных визитах наблюдались у 12 из 14 пациентов (Рисунок 44).

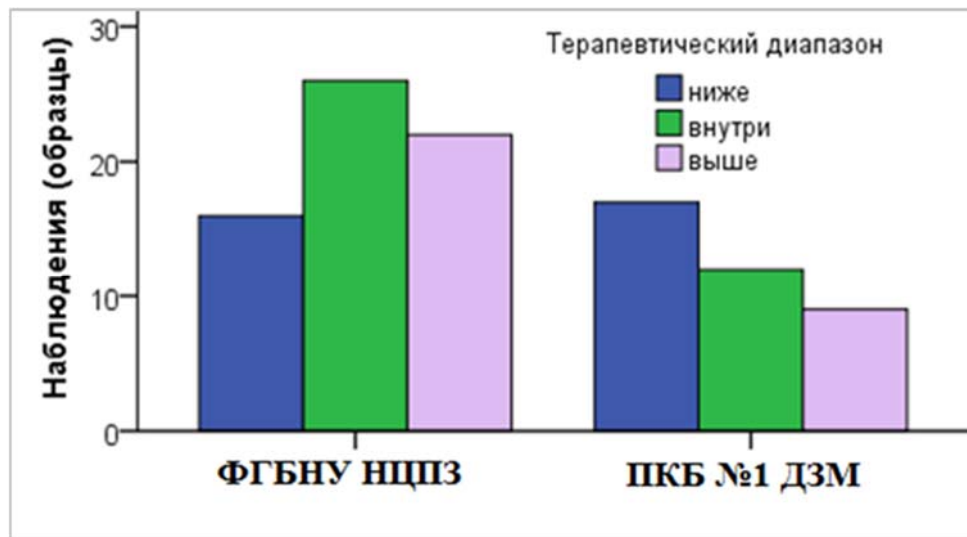


Рисунок 44 – Отношение к терапевтическому диапазону концентраций АМ РИС, измеренных при лекарственном мониторинге

Уровень АМ РИС в исследовании ФГБНУ НЦПЗ в среднем составил $55,2 \pm 44,1$ нг/мл. Нормированные на дозу остаточные концентрации значительно различались между наблюдениями, лежащими выше (условно-токсический уровень, УТ), ниже (субтерапевтический уровень, СТ) или в пределах терапевтического диапазона (Т), что подтверждает существенные межиндивидуальные различия клиренса АМ РИС (Таблица 41).

Таблица 41 – Связь индивидуальных характеристик пациентов и отношения уровня концентрации к терапевтическому диапазону (ТЛМ на базе ФГБНУ НЦПЗ)

Тер. диапазон	УТ	Т	СТ
Возраст, лет	26,6±7,5	27,2±8,3	27,9±12,2
Вес, кг	78,4±13,4	82,6±16,1	83,5±13,3
Css_min/доза, нг/мл/мг	15,4±5,6	6,3±2,6	2,0±1,4
Комедикация*	1(0–2)	1(0–3)	1(0–2)
Монотерапия	10	9	7
АРИ	–	–	2
КЛО	3	8	3
ГАЛ	–	1	–
ЗУКЛО	–	–	1
КВЕ	–	–	2
ХПЗ	2	2	–
ХПЗ+АРИ+ГАЛ	–	1	–
ХПЗ+ЗУКЛО	1	2	1
ХПЗ+КЛО	4	3	2
ХПЗ+ОЛА	1	1	–
ГАЛ+КЛО	1	–	–
ЗУКЛО+КЛО	–	1	–
УКУ	20,1±9,4	18,5±7,1	19,3±7,6
PANSS	99,2±21,6	101,7±19,2	102,1±12,0

Примечания: *число дополнительно принимаемых антипсихотиков – медиана (минимум–максимум); ЗУКЛО – зуклопентиксол, АРИ – арипипразол, КВЕ – кветиапин, ХПЗ – хлорпромазин, КЛО – клозапин, ГАЛ – галоперидол, ОЛА – оланзапин

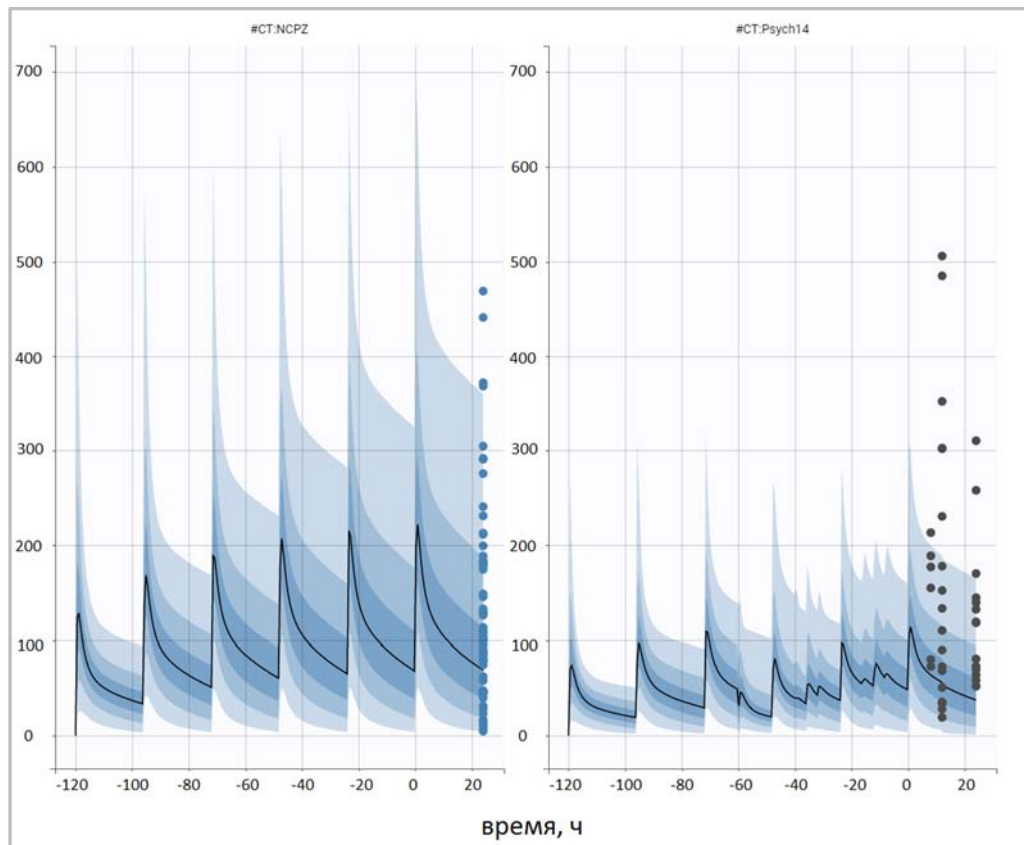
Css_min/доза АМ РИС у пациентов НЦПЗ и ПКБ № 1 ДЗМ составили 6,34 (0,25–32,07) и 15,00 (3,95–103,82) пМоль/мл/мкМоль (медиана и разброс), соответственно. Медиана Css_min/доза из обоих клиник составила 7,69, с 95%-ным ДИ 5,78–9,96 и разбросом (минимум–максимум) 0,25–32,07 пМоль/мл/мкМоль. При сопоставимости с данными других исследований наблюдается большой разброс этого показателя между ними: 15,2 и 7,1 пМоль/мл/мкМоль при приеме 0,5 и 8 мг РИС, соответственно [Jönsson A. K. et al, 2019]; 22 ± 20 пМоль/мл/мкМоль у детей и подростков, получавших РИС в дозе 2,0±1,5 мг/сут [Sherwin C. M. et al, 2012]; 23 ± 15 пМоль/мл/мкМоль при получении доз 4,3 ± 0,9 мг [Riedel, M. et al., 2005]. Интересна закономерность – при возрастании доз РИС остаточные концентрации его АМ снижаются. Не исключено, что имеет место самоиндукция какого-то цитохрома,

метаболизирующего РИС и/или 9-ОН-РИС в неактивные вещества, что нуждается в дополнительном изучении.

Большая доля наблюдений с остаточной концентраций АМ РИС за пределами терапевтического диапазона подчеркивает важность лекарственного мониторинга как необходимого условия индивидуализации лечения и повышения эффективности фармакотерапии.

3.5.2 Сравнение измеренных у пациентов величин активной антипсихотической фракции рисперидона и смоделированных величин по данным однократного приема здоровыми добровольцами

Величина C_{ss_min} зависит от интервала дозирования (τ), поэтому в Monolix для симулирования уровня АМ РИС использовали те же интервалы дозирования, что и в ТЛМ (ФГБНУ НЦПЗ : 1 р/сут, ПКБ № 1 ДЗМ: 1р/сут, 2р/сут и 3р/сут при τ равном 24, 12 и 8 ч, соответственно). Моделирование многократного дозирования выполнялось на основе популяционных оценок после однократного приема. Смоделированные профили «концентрация–время» в целом перекрывали измеренные в мониторинге остаточные концентрации АМ РИС. При этом у ряда пациентов измеренные в ТЛМ уровни превышали смоделированные (Рисунок 45).



Примечание: слева – ТЛМ на базе ФГБНУ НЦПЗ, справа – ТЛМ на базе ПКБ № 1 ДЗМ

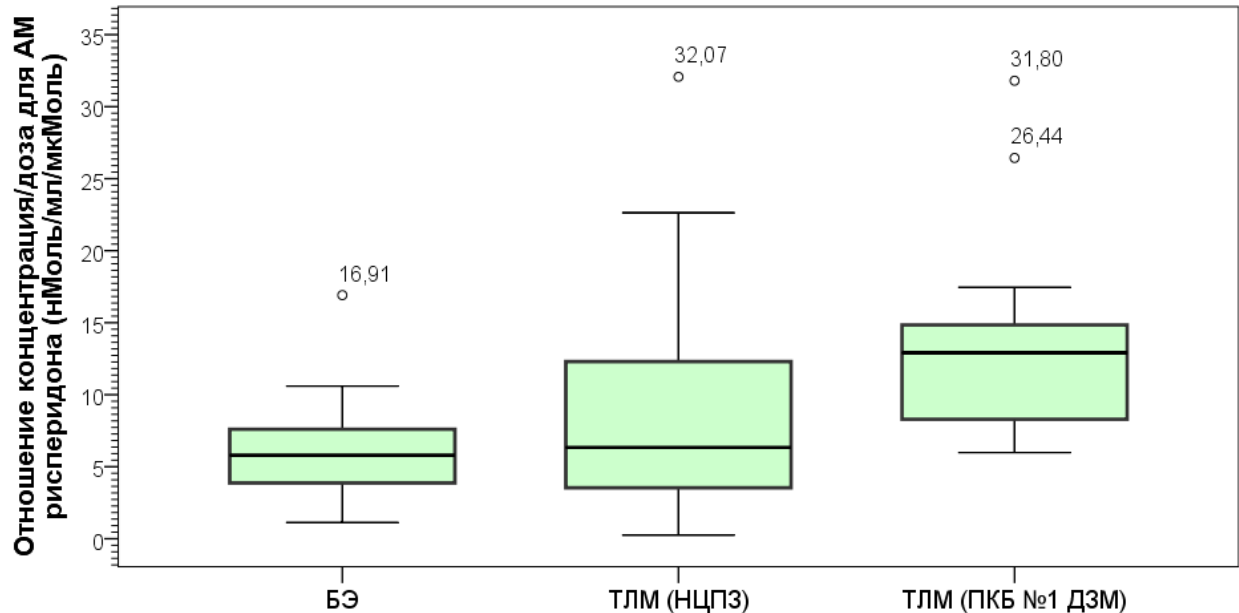
Рисунок 45 – Смоделированные (выделенные заливкой области) по данным однократного приема и измеренные в ТЛМ (точки) концентрации АМ РИС (в пмоль/мл)

C_{ss_min} определяется дозой, а также нелинейно зависит от интервала дозирования (τ) поэтому для адекватного сравнения можно использовать лишь результаты, полученные при одинаковом интервале дозирования и после нормирования этой величины на дозу. Поэтому для сравнения были отобраны наблюдения из ТЛМ, соответствующие самому распространенному интервалу дозирования ($\tau=24$ ч), в этом же режиме моделировали многократное введение на основе данных однократного приема рисперидона. После чего, полученные остаточные концентрации нормировали на дозу.

Величины $C_{ss_min}/\text{доза}$ для АМ РИС у пациентов ФГБНУ НЦПЗ и ПКБ № 1 ДЗМ составили 6,34 (0,25–32,07) и 15,00 (3,95–103,82) пМоль/мл/мкМоль (медиана и разброс), соответственно. Сравнимые группы (симуляция по данным кинетики однократного приема, мониторинг в НЦПЗ и ПКБ № 1 ДЗМ) существенно различались ($p=0,003$, критерий Краскела-Уоллиса). Выраженная правосторонняя скошенность (коэффициент асимметрии больше 1 для всех групп) соответствует логнормальному распределению величины $C_{ss_min}/\text{доза}$.

Результаты однофакторного дисперсионного анализа ANOVA для лог-преобразованной величины $C_{ss_min}/\text{доза}$ показали отсутствие различий между смоделированными по данным однократного приема и измеренными в НЦПЗ концентрациями ($p=0,656$).

При этом концентрации АМ РИС из ПКБ № 1 ДЗМ имели явные различия с 2-мя другими группами: смоделированными по данным однократного приема ($p=0,002$) и измеренными в НЦПЗ ($p=0,006$). Возможно, это объясняется малой выборкой (интервал дозирования 24 ч был назначен только 6 пациентам), представленной только женщинами (Рисунок 46).



Примечание: границы ящика показывают 25-й и 75-й процентиля, линия в середине – медиана, концы усов – 5-й и 95-й процентиля.

Рисунок 46 – Сравнение смоделированных по данным БЭ и фактически измеренных в исследованиях ТЛМ концентраций (при $\tau = 24$ ч)

Известно, что элиминация АМ РИС происходит через образование неактивных метаболитов посредством CYP 2D6 и CYP 3A4-7, а также почками путем канальцевой секреции [Alamo C., López-Muñoz F., 2013], т. е. насыщаемыми процессами. Ингибирование этих цитохромов респеридоном (Таблица 10) может приводить к дозозависимости кинетики АМ РИС, что выражается в возрастании величины $C_{ss_min}/\text{доза}$ при многократном приеме по сравнению с однократным. Кроме того, на элиминацию АМ РИС может влиять комедикация другими антипсихотиками [The Transformer database: electronic resource]: оланзапин (ингибитор CYP 2D6 и CYP 3A4-7), хлорпромазин (ингибитор CYP 2D6 и индуктор CYP 3A4-7), клозапин (ингибитор CYP 2D6 и ингибитор-индуктор CYP 3A4-7), кветиапин (ингибитор CYP 2D6), арипипразол (ингибитор-индуктор CYP 2D6), галоперидол (ингибитор-индуктор CYP 2D6 и ингибитор CYP 3A4-7).

Широкий разброс величины C_{ss_min} /доза АМ РИС, как между исследованиями, так и между пациентами, предопределяет важность изучения возможности ее связи с индивидуальными характеристиками.

3.5.3 Кинетика активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов

Кинетику активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов представляли 2- камерной моделью линейной кинетики с пропорциональным типом остатков, разработанной после однократного приема здоровыми добровольцами.

Перекрытие диапазонов нормированных на дозу концентраций АМ РИС, смоделированных на основе однократного приема и измеренных в ТЛМ, позволяет применять популяционные оценки, полученные из исследования БЭ, в качестве априорно закладываемой информации. При этом предполагалось, что популяция пациентов может отличаться от популяции здоровых добровольцев величинами клиренса и константы абсорбции (комедикация может влиять на пресистемный метаболизм АМ РИС). Поэтому для этих параметров с помощью коэффициентов перерасчета задавали больший диапазон для поиска популяционных значений. Сами же эти коэффициенты подбирали пошагово, до достижения сходимости алгоритма SAEM и приемлемых величин ковариационной матрицы Фишера. Тем не менее достижение этих условий стало возможным лишь при дополнительном увеличении границ поиска для популяционной оценки объема распределения V_1 (Таблица 42).

Таблица 42 – Начальные условия моделирования кинетики АМ РИС у пациентов

Параметры модели	Фиксированные эффекты (метод максимальной апостериорной оценки – MAP)			Случайные эффекты (метод максимального правдоподобия – ММП)		
	Θ (задано)	SD (задано)	s. e. (предварительно полученное) *	ω (задано)	ω (предварительно полученное)	γ (задано)
Ка, ч ⁻¹	0,278	0,12 (=4*0,032)	0,032	0,28 (=4*0,07)	0,07	0,28
Cl, л/ч	4,92	1,98 (=4*0,495)	0,495	1,24 (=4*0,312)	0,312	1,2
V1, л	7,44	3,68 (=2*1,84)	1,84	3,22 (=4*0,81)	0,805	-
Q, л/ч	16,4	1,65	1,65	0,17	0,169	-
V2, л	167	17,6	17,6	0,2	0,2	-

Примечания: * – стандартная ошибка популяционных оценок при моделировании однократного приема; ω – межиндивидуальное стандартное отклонение; γ – внутрииндивидуальное стандартное отклонение. Параметр «а» модели остаточной ошибки оценивали ММП.

Распределение стандартизованных остатков предполагали пропорциональным, как и в исходной модели у добровольцев, но при этом наблюдалась стойкая зависимость IWRES от

величины концентрации. При постоянной модели остаточной ошибки удалось добиться некоторой нормальности их распределения.

Выпадающие наблюдения (outliers) определяли как лежащие за пределами 95%-ного предсказательного ДИ. Установили 5 таких наблюдений, которые исключили из дальнейшего анализа. Таким образом, популяционное моделирование кинетики может быть полезным инструментом для выявления отклоняющихся значений при проведении лекарственного мониторинга.

Индивидуальные характеристики пациентов из 2-х исследований с лекарственным мониторингом не были сбалансированными (Таблица 43).

Таблица 43 – Сводные характеристики пациентов, получавших рисперидон

Учреждение	ФГБНУ НЦПЗ	ПКБ №1 ДЗМ
Число пациентов	n = 56	n = 14
Пол (муж/жен)	муж: n = 56; жен: n = 0	муж: n = 3; жен: n = 11
Возраст, лет	27,3 ± 9,0	46,6 ± 8,3 (30 – 57)
Рост, см	–	169,6 ± 7,3 (159 – 190)
Вес, кг	81,2 ± 14,4 (55,5 – 115,1)	70,6 ± 14,1 (50 – 92)
ИМТ	–	24,6 ± 5,2 (17,3 – 35,1)
Билирубин, мкмоль/л	13,0 ± 11,2 (2,9 – 77,2)	–

Примечание: данные представлены как среднее ± SD (минимум – максимум)

В структуру интраиндивидуальной вариации (IOV) включали оценку параметров K_a и Cl . Объемы распределения и константу межкамерного клиренса признавали постоянными у одного индивида. Так как вес и возраст пациентов при повторных наблюдениях практически не варьировал, оценивалось их влияние только на межиндивидуальный разброс кинетических параметров. Комедикация различалась между визитами и пациентами, поэтому ее влияние учитывали как на межиндивидуальном, так и внутрииндивидуальном уровне. Фактор «суточная доза» варьировал между визитами и пациентами, что также относило его к обоим типам вариации.

Рисперидон подвергается выраженному пресистемному метаболизму, элиминация РИС и 9-ОН-РИС протекает почечным (активной канальцевой секрецией), и метаболическим путями, поэтому в качестве возможных предикторов, влияющих на поступление и выведение АМ РИС, рассматривали пол, возраст, MPR, комедикацию и суточную дозу.

Было обнаружено, что комедикация значимо влияла на Cl и K_a ($p < 10^{-15}$ для обоих параметров, критерий Пирсона), однако установить, какая именно лекарственная комбинация

выделяется, не удалось из-за большого набора категорий и недостаточности наблюдений для каждой из них (Таблица 41).

По результатам исследования Thyssen A. и соавт. присутствие индукторов P-гр и СУРЗА4 повышает биодоступность АМ РИС на 46,7% [Thyssen A. et al., 2010]. В нашем исследовании среди препаратов сочетанной терапии индукторами СУРЗА4 были хлорпромазин и клозапин (индуктор-ингибитор), а галоперидол и оланзапин – ингибиторами.

Интересно наблюдение Riedel, M. и соавт., обнаружившее более низкий уровень АМ РИС в крови пациентов с хорошим ответом на терапию [Riedel, M. et al., 2005], что возможно связано с меньшей активностью P-гр, обеспечивающего обратный транспорт лекарств из ЦНС в центральную камеру (кровь). Это подтверждает важность изучения влияния на кинетику АМ РИС комедикации антипсихотиками, субстратами P-гр, в частности арипипразола и оланзапина (Таблица 10). Очевидно, что для моделирования этого влияния необходимо располагать большим количеством наблюдений.

Установлено влияние пола на клиренс ($p=0,006$ при тесте Вальда, и $p=0,0008$ по тесту Пирсона), выражаемого формулами:

$$Cl_i = 2,55 \cdot \exp(\eta_{Cl}) \cdot \exp(\eta_{\text{Визит} \cdot Cl}), \text{ если пол женский,}$$

и $Cl_i = 2,55 \cdot \exp(0,497) \cdot \exp(\eta_{Cl}) \cdot \exp(\eta_{\text{Визит} \cdot Cl})$, если пол мужской, где Cl_i – индивидуальный клиренс субъекта i , а η_{Cl} и $\eta_{\text{Визит} \cdot Cl}$ – векторы его межиндивидуальных и внутрииндивидуальных остатков, центрированных в нуле с дисперсиями ω^2 и γ^2 , соответственно:
 $\eta_{Cl} \sim N(0; 0,094^2) \equiv \eta_{Cl} \sim N(0; 0,0088)$; $\eta_{\text{Визит} \cdot Cl} \sim N(0; 0,630^2) \equiv \eta_{Cl} \sim N(0; 0,3969)$.

Обнаруженная зависимость клиренса АМ РИС от пола согласуется с результатами большого ($n=3255$) исследования с лекарственным мониторингом, где у женщин наблюдали более высокие нормированные на дозу концентрации [Jönsson A. K. et al, 2019].

При добавлении влияния пола на клиренс была существенно снижалась его вариация, и была достигнута оптимальная предсказательная ценность модели ($BIC=1183,50$). Соотношение индивидуальных предсказаний с учетом влияния пола на клиренс и измеренных в мониторинге концентраций АМ РИС приведено на рисунке 47.

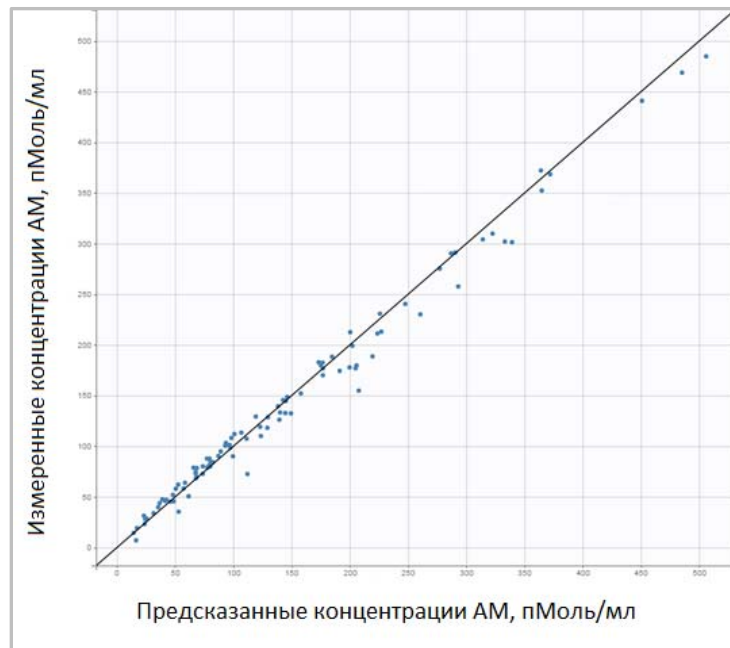


Рисунок 47 – Регрессионные соотношения индивидуальных измеренных и предсказанных молярных концентраций активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов

Влияния факторов «суточная доза», MPR, возраст и вес на кинетику выявлено не было.

Популяционные характеристики кинетики АМ РИС у пациентов демонстрируют широкий разброс, особенно для K_a и V_1 (Таблица 44).

Таблица 44 – Популяционные характеристики кинетики АМ РИС у пациентов

ФК-параметры модели	Фиксированные эффекты		Случайные эффекты		
	Θ (s. e.)	RSE (%)	ω (s. e.)	RSE (%)	γ (s. e.)
K_a , ч ⁻¹	0,288 (1,28)	444	1,73 (10,6)	616	0,817 (26,1)
Cl, л/ч	2,55 (0,809)	31,7	0,094 (0,801)	853	0,630 (0,141)
BetaCl(m)	0,497 (0,182)	36,6	–	–	
V_1 , л	37,2 (89,6)	241	2,06 (1,86)	90,2	–
Q, л/ч	18,2 (40,2)	221	0,547 (4,99)	912	–
V_2 , л	151 (93,5)	62,1	0,364 (1,3)	358	–
Параметры модели остаточной ошибки					
a (s. e.)	3,34 (25,5)	762	–		

Примечания: ω и γ – отражают меж- и внутрииндивидуальную вариацию ФК-параметра и выражаются в долях от единицы; a – величина остатков при их равномерном распределении; BetaCl(m) – дополнительный коэффициент, включаемый в популяционную модель для клиренса с учетом мужского пола.

Широкий разброс величины V_1 может быть связан с сильной разреженностью данных: всего одно измерение концентрации на один кинетический профиль. Что касается K_a , у АМ РИС она располагается между соответствующими константами РИС и 9-ОН-РИС: $3,03 \pm 0,6$ и $0,029 \pm 0,00$, соответственно (Таблица 39). Очевидно, на абсорбцию АМ РИС влияет скорость пресистемной биотрансформации РИС, склоняя этот параметр к величине метаболита. Популяционная оценка константы абсорбции АМ РИС в наших исследованиях меньше и вариабельнее ($0,288$ ($1,28$)) по сравнению с пациентами из работы Thyssen A. и соавт. – $2,39$ ($0,243$) [Thyssen A. et al., 2010], что означает более высокую скорость пресистемного метаболизма и может объясняться преобладанием быстрых метаболизаторов по цитохромам 2D6 и 3A4 в средне-русской популяции (или, по крайней мере, в полученных выборках).

Оценка индивидуальных параметров кинетики АМ РИС у пациентов выполнялась без каких-либо предположений о распределении индивидуальных параметров (режим «conditional mode»), что особенно важно при малой выборке или наличии выбросов. В индивидуальных оценках параметров кинетики АМ РИС у пациентов также наблюдался значительный разброс параметров K_a , Cl и V_1 , что подтверждает важность дальнейшего изучения их вариации и связи с индивидуальными характеристиками (Рисунок 48, Таблица 45).

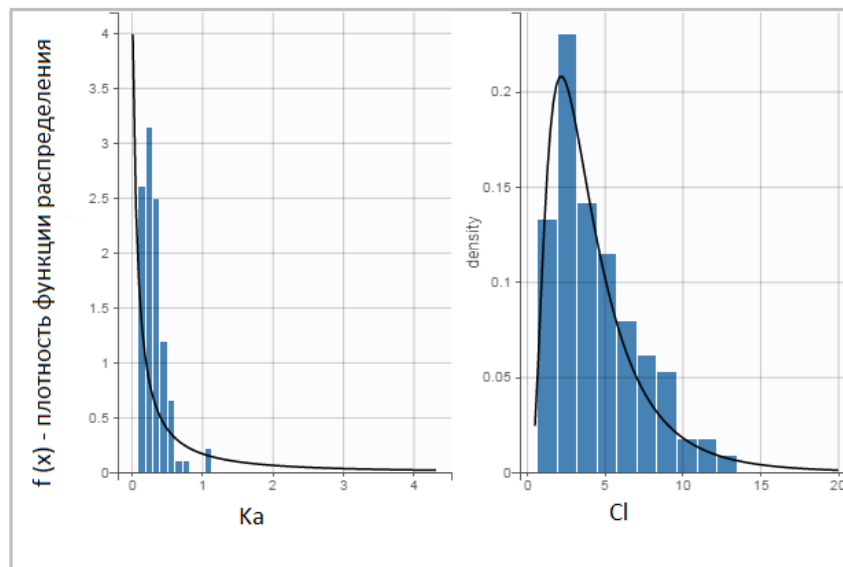


Рисунок 48 – Гистограммы распределения индивидуальных оценок константы абсорбции и клиренса для активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов

Таблица 45 – Индивидуальные оценки параметров кинетики АМ рисперидона у пациентов из 2-х исследований с ТЛМ

ФК-параметр	Минимум	1-й квартиль	Медиана	3-й квартиль	Максимум
Ка, ч-1	0,12	0,24	0,30	0,38	0,72
Cl, л/ч	0,96	2,44	3,82	5,76	14
V1, л	11,0	24,7	30,8	41,5	194
Q, л/ч	12,9	17,4	18,1	18,8	19,7
V2, л	91,9	146	149	151	165

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФК помогает обосновать выбор путей введения препарата, выявить ткани и органы его накопления, определить пути элиминации, а также установить оптимальные режимы дозирования для достижения и поддержания эффективных концентраций в целевой ткани. Моделирование ФК позволяет лучше понимать протекающие в организме процессы. Практическая ценность популяционных ФК-моделей в первую очередь заключается в возможности получения индивидуальных предсказаний равновесных концентраций, что улучшает управление терапевтическим эффектом.

Исследования БЭ помимо полного профиля «концентрация-время» предоставляют индивидуальные характеристики участников. Этот материал может быть важным источником информации для моделирования кинетики изучаемого препарата в популяции страны, проводящей исследование. В настоящее время эти данные в таком ключе не анализируют, а заключенная в них информация по-прежнему остается невостребованной.

Реализация таких математических подходов нелинейного моделирования смешанных эффектов, как SAEM, ММП, байесовский функционал, методы MCMC, реализованных в программе Lixoft Monolix, позволяет работать при наличии повторных наблюдений, в условиях несбалансированного эксперимента и сильно разреженных данных, что особенно актуально при лекарственном мониторинге.

Целью настоящей работы являлось выполнение популяционного ФК-моделирования по данным исследований биоэквивалентности и терапевтического лекарственного мониторинга. Особенно важно моделировать кинетику препаратов с отсроченной оценкой терапевтического эффекта – антипсихотических и противоопухолевых средств. Поэтому в качестве примера были выбраны препараты из проведенных исследований БЭ: анастрозол, летрозол и рисперидон.

В главе «Обзор литературы» описаны современные представления о кинетике изучаемых препаратов, рассмотрены методы их количественного определения, пригодные для исследований фармакокинетики. Особое внимание уделено алгоритму ПФК-моделирования, а также сравнению камерного и немодельного анализа. Приведены математические методы, применяющиеся в изучении ФК, а также программы, в которых они реализованы. Описана проблематика типового тестирования БЭ, а также важность ТЛМ в индивидуализации терапии.

Глава «Материалы и методы» включает три части, соответствующие основным этапам ФК-исследований:

- 1) клиническая (дизайн исследования, схемы ФК-заборов, исследуемые популяции, сбор индивидуальных характеристик);

2) аналитическая (методы пробоподготовки, условия масс-спектрометрического и хроматографического анализа);

3) ФК-анализ (НКА, популяционное моделирование, тестирование БЭ).

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из пяти частей:

1) Разработка и оптимизация методов количественного определения изучаемых веществ;

2) Стандартный ФК-анализ;

3) Популяционное моделирование кинетики АМ рисперидона (РИС + 9-ОН-рисперидон) по данным из исследования БЭ;

4) Сравнение результатов тестирования БЭ общепринятым стандартным методом – на основе НКА, ANOVA и построения ДИ методом Шуирманна, а также тестирования БЭ на основе популяционного подхода с кинетикой в камерных терминах;

5) Результаты 2-х исследований с лекарственным мониторингом с популяционным моделированием кинетики АМ РИС и получением индивидуальных оценок.

Методики количественного определения. Для решения задач исследования были разработаны, оптимизированы и валидированы ВЭЖХ-МС/МС методики количественного определения ИА: анастрозола и летрозолола [Мирошниченко И. И. и др. 2013б; Мирошниченко И. И. и др. 2013в; Платова А. И. и др., 2014а]. Для измерения концентрации рисперидона была реализована более общая задача: разработан метод одновременного количественного анализа 5-ти АП с 3-мя метаболитами, позволяющий ускорить выполнение лекарственного мониторинга в условиях политерапии [Платова А. И. и др., 2014б].

Низкий НПКО предложенных методик позволяет проводить исследования БЭ в минимальных терапевтических дозах: 2,5 мг для летрозолола, 1 мг для анастрозола и 2 мг для рисперидона. Такой подход снижает риск нежелательных реакций. К примеру, в исследовании БЭ при приеме большей дозы рисперидона [Писарев В. В. и др., 2013], в отличие от нашего исследования, наблюдались побочные реакции.

Разработанные методики продемонстрировали пригодность и продуктивность в исследованиях БЭ препаратов анастрозола, летрозолола и рисперидона. Оптимизированная и экономичная ВЭЖХ-МС/МС методика одновременного количественного определения 5 антипсихотических препаратов и их 3-х метаболитов показала хорошую эффективность в ТЛМ антипсихотических препаратов [Мирошниченко И. И. и др., 2020б].

Параметры фармакокинетики после однократного приема здоровыми добровольцами демонстрируют некоторые отличия среднерусской популяции от других стран. Период полувыведения $T_{1/2}$ анастрозола у женщин в постклимактерическом периоде в нашем исследовании был больше и вариабельнее, чем в других странах [IPAR. CRN 2145478, 2014; PAR.MHRA. UK/H/911/001/DC, 2007; PAR.NL/H/836/01/DC, 2011]. $T_{1/2}$ летрозолола был в 1,6 раза

больше в японской популяции, по сравнению с европейцами [Tanii H. et al., 2011]. В нашем исследовании $T_{1/2}$ летрозола $35,1 \pm 18,5$ ч⁻¹ был значительно меньше $T_{1/2}$ в Канаде $62,8 \pm 29,7$ ч⁻¹ [Final report, Cinfa, 2008] и Китае ($62,0 \pm 25,8$ ч⁻¹) [Liu Y. et al., 2013 b], что может объясняться различиями в частотном распределении аллелей, ответственных за активность цитохромов 2A6 и 3A4 [Tanii H. et al. 2011; Oscarson M., 2001].

Величины $T_{1/2}$ РИС в нашем и другом российском исследовании [Писарев В. В. и др., 2013] больше по сравнению с другими странами (Таблица 4), что возможно отражает большую частоту медленных метаболизаторов по цитохрому 2D6 в среднерусской популяции. Величины $T_{1/2}$, C_{max} и AUC_{inf} для метаболита рисперидона – 9-ОН-РИС в нашем исследовании значимо превосходили параметры корейской популяции: $26,6 \pm 5,9$ ч⁻¹ и $17,9 \pm 5,0$ ч⁻¹, $10,0 \pm 3,6$ нг/мл и $5,6 \pm 2,5$ нг/мл, 272 ± 81 нг*ч/мл и 138 ± 32 нг*ч/мл, соответственно [Cho H-Y., Lee Y-B, 2006].

На расчет C_{max} и $T_{1/2}$ в некамерном анализе может влиять график забора биообразцов, в районе T_{max} и терминальной фазе элиминации, соответственно, что отчасти может объяснять вариацию этих параметров между исследованиями. Имеющиеся отличия среднерусской популяции в кинетике изучаемых препаратов подтверждают важность изучения их ПФК по данным отечественных исследований БЭ.

Популяционное фармакокинетическое моделирование с использованием данных исследований биоэквивалентности

В настоящей работе по данным 3-х исследований БЭ наряду с общепринятым некамерным анализом проведено популяционное фармакокинетическое моделирование. Кинетика всех изучаемых препаратов (анастрозол, летрозол и рисперидон) хорошо описывалась 2-камерным принципом. Выбор структурных моделей основывался на следующих положениях: формализация моделью кинетики препарата должна отражать реально происходящие в организме процессы, отвечать целям моделирования и обладать соответствующей этим целям простотой применения. К примеру, для тестирования БЭ рисперидона кинетику родительского вещества и активного метаболита моделировали по-отдельности, а в ТЛМ рассматривали активную антипсихотическую фракцию.

Популяционное моделирование кинетики летрозола и анастрозола выполнено для целевой популяции, составляющей группу риска заболеванием ГПРМЖ, у женщин постклимактерического периода. Для обоих препаратов выявлена корреляция V_1 (объема распределения в центральной камере) с ИМТ [Платова А. И. и др., 2014в; Платова А. И., Мирошниченко И. И., 2014].

ИМТ – важный для эффективности терапии ингибиторами ароматазы предиктор. Известно, что пациентки с ГПРМЖ и повышенным ИМТ имеют более высокий исходный уровень эстрогенов [Folkerd E. J. et al., 2012] и как следствие худший прогноз [Kwan M. L. et al.,

2012]. Плохой прогноз лечения анастрозолом таких пациенток отмечен в нескольких исследованиях [Sestak I. E. et al., 2010; Pfeiler G. et al., 2013. Gnant M. et al., 2013], что по мнению ряда авторов требует увеличения дозировок препарата при повышенном ИМТ [Plourde P. V. et al., 1995; Kelly C. M., Vuzdar A.U., 2010]. Выявленная зависимость от ИМТ центрального объема распределения, отражающего концентрацию анастрозола в эффекторной камере, также говорит о сниженной эффективности терапии этим препаратом ГПРМЖ при повышенном ИМТ [Платова А. И. и др., 2014в].

Обнаруженная связь объема распределения V1 летрозолола с весом также наблюдалась в популяции корейских мужчин [Jin S. J. et al., 2012] и согласуется с результатами масштабного исследования у пациенток с ГПРМЖ [Desta Z. et al., 2011]. Однако летрозол одинаково эффективно снижает плазменные эстрогены в достаточно широком интервале доз 0,5–2,5 мг/сут и, соответственно, равновесных концентраций (12–143 нг/мл) [FDA. NDA 20–726, Femara]. Поэтому выбор летрозолола как ингибитора ароматазы вместо анастрозолола может быть возможным решением в случае большого ИМТ.

Отрицательная корреляция возраста с клиренсом у анастрозолола, а также отрицательная связь константы абсорбции с уровнем аланинаминотрансферазы крови и прямая корреляция межкамерного клиренса с общим белком крови у летрозолола, могут иметь теоретическое значение для понимания кинетики ИА после валидации этих взаимосвязей.

По данным исследования БЭ рисперидона в терминах камерной модели выполнено моделирование кинетики рисперидона, его активного метаболита 9-ОН-рисперидона, а также их суммы – активной антипсихотической фракции. Представление кинетики АМ РИС как абстрактного вещества в молярных концентрациях позволяет значительно упростить параметризацию модели: модель кинетики АМ РИС позволяет не учитывать скорость метаболизма, освобождая от необходимости генотипирования для получения точных предсказаний.

Таким образом, ПФК-анализ данных исследований БЭ позволил выявить предварительные зависимости, имеющие важное теоретическое и практическое значение, позволяющее их рассматривать как гипотезы-кандидаты в дальнейших исследованиях. Необходимость дополнительной валидации обнаруженных закономерностей на внешнем наборе данных обусловлена тем, что формирование гипотез выполнялось уже после сбора данных, а значит не исключен эффект скрытой множественности сравнений. Безусловно, выявление ФК-предикторов в формате исследований БЭ ограничено малым разбросом их величины из-за того, что эти исследования в основном проводят у здоровых добровольцев. В этом плане ПФК-анализ данных из исследования БЭ, выполненном у пациентов, будет более информативен. Тем не менее, полученные популяционные оценки могут быть использованы как априорно

закладываемая информация для последующего моделирования у пациентов. При этом следует учесть, что кинетика анастрозола не меняется при многократном приеме, и параметры нашей модели можно фиксировать и вводить в модель без изменений. Прием летрозолола пациентами стоит моделировать с учетом кинетики по Михаэлису-Ментен, которая становится выразительной при возрастании экспозиции препарата. Для моделирования кинетики АМ РИС у пациентов стоит учитывать увеличение вариабельности ее параметров, а также возможность насыщения процессов элиминации.

Тестирование биоэквивалентности на основе стандартного и популяционного фармакокинетического анализа. Стандартным «усредненным» методом была установлена БЭ для препаратов: Анастрозола и Аримидекса® (анастрозол), Летрозолола® Акри и Фемары® (летрозол), Рисперидона и Рисполепта® (рисперидон), в результате чего указанные генерики получили разрешение МЗ РФ для клинического применения. При этом у большинства добровольцев индивидуальное отношение $[T/R]$ как минимум одного из параметров биодоступности, C_{max} или AUC_{0-t} , пересекало границы интервала биоэквивалентности $[0,8; 1,25]$ (Таблицы 20, 22, 25, 26). В исследовании анастрозола эта картина наблюдалась у 12-ти человек из 18-ти, летрозолола – у 18-ти добровольцев из 32-х, рисперидона и 9-ОН-РИС – у 10-ти и 2-х добровольцев, соответственно, из 18-ти (Приложение Е). Это говорит о наличии скрытых причин такой вариации, которые нуждаются в изучении. При этом, очевидно, что «усредненная» БЭ не означает эквивалентность на индивидуальном уровне. Эту индивидуальную эквивалентность стоит оценивать при смене терапии между генериками, что можно выполнить в рамках лекарственного мониторинга (до и после переключения терапии) с помощью инструментов ПФК.

Типовой тест «усредненной биоэквивалентности», Шуирманна, выполненный для параметров AUC_{0-t} и C_{max} , рассчитанных на основе камерного подхода при популяционном моделировании, показал биоэквивалентность сравниваемых препаратов. Соответствие тестов БЭ по параметрам кинетики, полученным некамерным и модельным методами, определяет возможность применения последнего для проверки взаимозаменяемости препаратов в условиях разреженных данных. Это важно при нелинейной кинетике или узким терапевтическим индексом лекарства, в ТЛМ или при применении у детей. Кроме того, популяционное моделирование позволяет объединять и анализировать данные разных исследований, что позволяет расширить саму интерпретацию эквивалентности.

ПФК-анализ данных ТЛМ активной антипсихотической фракции рисперидона. Уровень АМ РИС наряду с данными по безопасности и эффективности лечения этим препаратом является ведущим фактором в принятии решения о дальнейшей тактике ведения пациента – коррективке доз или переключении на другой антипсихотик. Это обосновывает важность мониторинга этой величины. В наших исследованиях остаточные концентрации АМ РИС

характеризовались большой вариабельностью, и у большинства пациентов выходили за пределы терапевтического диапазона [Мирошниченко И. И. и др., 2017]. Это подчеркивает важность выявления возможных предикторов, влияющих на кинетику этой величины, в рамках ПФК-анализа. Моделирование кинетики на основе разреженных данных при мониторинге требует наличия априорной информации о популяционных характеристиках. Так как большую долю пациентов, нуждающихся в антипсихотической терапии, составляют люди, неотягощенные соматической патологией, представляется разумным моделировать кинетику АМ РИС с учетом априорных данных, полученных у здоровых волонтеров. Поэтому в симуляции АМ РИС у пациентов как априорную информацию принимали параметры кинетики, полученные в среднерусской популяции у здоровых добровольцев.

В целом адекватному сравнению данных кинетики рисперидона из разных исследований препятствует различный интервал дозирования – в публикациях обычно отсутствует стратификация по этому параметру, существенно влияющему на $C_{ss_min}/\text{доза}$. Диапазоны молярных концентраций АМ РИС, смоделированные после однократного приема и измеренные в ТЛМ, в целом перекрывались. Тем не менее величина $C_{ss_min}/\text{доза}$ у пациентов в ТЛМ на базе ПБК №1 ДЗМ заметно превосходила смоделированную по данным однократного приема, что, возможно связано с женским составом, а также малым размером выборки.

Обнаруженные расхождения в кинетике АМ РИС при курсовом приеме пациентами и однократным приемом здоровыми волонтерами, нуждаются в дальнейшем изучении и по большей части могут объясняться насыщением метаболических и элиминационных процессов, а также комедикацией другими препаратами. Наблюдаемый широкий разброс величины $C_{ss_min}/\text{доза}$ АМ РИС, как между исследованиями, так и между пациентами, предопределяет важность изучения ее связи с индивидуальными характеристиками.

Теоретическая значимость моделирования заключается в изучении межиндивидуальной вариации кинетики АМ РИС и вклада, вносимого в нее ковариатами. Выявленная зависимость кинетики АМ РИС от пола согласуется с данными Jönsson A. K. и соавт. [Jönsson A. K. et al, 2019]. Многие АП являются субстратами Р-gp, а также ингибиторами/индукторами СYP3A4, что не исключает возможности влияния их комедикации на кинетику АМ РИС [Moons T. et al, 2011]. Зависимость клиренса АМ РИС от пола и комедикации имеет важное практическое значение, требующее учета при проведении лекарственного мониторинга.

При моделировании кинетики АМ РИС были оценены ее индивидуальные параметры, отражающие отечественную популяцию пациентов. Их практическая ценность заключается в возможности предсказывать средние C_{ss_avg} и максимальные равновесные C_{ss_max} концентрации, не подлежащие прямому измерению в ТЛМ. Для большинства препаратов эти величины гораздо более тесно связаны с эффективностью и безопасностью лечения, нежели

Css_min. Для коррекции дозирования индивидуальные ФК-параметры применяют редко, так как обычно дозу корректируют по формуле: $C_{\text{оис}}_{\text{измеренная}}/C_{\text{оис}}_{\text{целевая}} = \text{Доза}_{\text{текущая}}/\text{Доза}_{\text{искомая}}$. Моделирование кинетики АМ РИС дает возможность предсказывать ее уровень в разных режимах дозирования с учетом индивидуальных характеристик, что позволяет гораздо эффективнее и быстрее персонализировать лечение.

В настоящей работе популяционное моделирование проводилось уже после сбора данных. Для проспективных исследований популяционной фармакокинетики предварительно необходимо рассчитывать размер выборки, достаточный для обнаружения требуемых корреляций.¹⁷

Нелинейное моделирование смешанных эффектов с использованием SAEM, реализованное в программе Monolix, обладает целым рядом преимуществ: возможность изучения ФК на ненормированных выборках и разреженных данных, отсутствие необходимости ФК-заборов в строгие временные интервалы, свобода от наличия полного ФК-профиля. Такие особенности дизайна дают возможность его проведения в обычной клинической практике. Наличие бесплатной академической лицензии у данной программы практически нивелируют стоимость ПФК-исследования.

В заключение стоит отметить, что любая модель представляет собой некую формулу – этот универсальный инструмент в познании окружающих человека явлений. При этом важно помнить известный постулат, что «все модели ошибочны, но некоторые из них могут быть полезны» [Box G. E. and Draper, N. R, 1987].

Подводя итоги работы, можно сделать вывод, что применение популяционного фармакокинетического анализа данных исследований биоэквивалентности может углубить понимание кинетики изучаемых препаратов, а применение этого подхода в ТЛМ может способствовать индивидуализации терапии.

¹⁷ Задача расчета объема выборки для многомерного корреляционного анализа в области ФК/ФД всегда была сложно выполнимой на практике и актуальна уже несколько десятилетий [Gatsonis C., 1989]. При планировании исследований с NLMEM на основе SAEM оценка размера выборки может выполняться как для непрерывных, так и категориальных предикторов [Kang D. Et al., 2004; Samson A. et al., 2007; Retout S. et al., 2007; Bertrand J. et al., 2009; Combes F.P. et al., 2014].

ВЫВОДЫ

1) Популяционный фармакокинетический анализ на основе данных исследований биоэквивалентности позволяет более детально изучать кинетику препарата и ее межиндивидуальную вариацию.

2) Разработаны и валидированы высокочувствительные ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения анастрозола и летрозолола в плазме крови, которые применялись в исследованиях биоэквивалентности. Разработана и валидирована высокочувствительная ВЭЖХ-МС/МС-методика для одновременного количественного определения 5 антипсихотических препаратов и их 3-х метаболитов, показавшая эффективность в ТЛМ и исследовании БЭ препаратов рисперидона.

3) Некамерным методом для анастрозола, летрозолола, рисперидона и 9-ОН-рисперидона рассчитаны ФК-параметры: AUC_{0-t} , C_{max} , T_{max} , λ_z , $T_{1/2}$. Стандартное тестирование «усредненной» биоэквивалентности (с применением ANOVA и теста Шуирманна) для параметров AUC_{0-t} и C_{max} , полученных модель-независимым расчетом, установило ФК-эквивалентность для препаратов: Анастрозол и Аримидекс® (анастрозол), Летрозол® Акри и Фемара® (летрозол), Рисперидон и Рисполепт® (по уровню как рисперидона, так и его активного метаболита). В проведенных исследованиях у большинства добровольцев как минимум один из параметров относительной биодоступности f' или f находился за пределами интервала 80–125%.

4) Выполнено моделирование ФК ингибиторов ароматазы (анастрозолола и летрозолола) в среднерусской популяции женщин в постменопаузе. Для обоих препаратов выявлена зависимость объема распределения в центральной камере от индекса массы тела. Обратные корреляции обнаружены для клиренса анастрозолола с возрастом и константы абсорбции летрозолола с уровнем аланинаминотрансферазы крови, выявлена прямая корреляция межкамерного клиренса летрозолола с общим белком крови.

5) Тест Шуирманна для параметров AUC_{0-t} и C_{max} , рассчитанных методами Монте-Карло с цепями Маркова на основе камерных популяционных моделей, показал биоэквивалентность сравниваемых препаратов.

6) В среднерусской популяции здоровых добровольцев после однократного приема рисперидона выполнено моделирование кинетики активной антипсихотической фракции рисперидона. Эта модель успешно применена для анализа данных пациентов из ТЛМ: были получены популяционные и индивидуальные оценки кинетики АМ рисперидона; обнаружено влияние комедикации на абсорбцию и клиренс, а также пола на клиренс АМ рисперидона.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ε_{ij} («эпсилон») – Ошибка предсказанной концентрации у i -го индивидуума в j -том наблюдении (точке времени) по отношению к фактически определенной концентрации. Случайная величина ε характеризуется нормальным распределением с математическим ожиданием в нуле и дисперсией σ^2 , т. е. $\varepsilon \in N(0; \sigma^2)$
- η_i («эта») – Остаточная (например, неучтенную в модели с ковариатами) межиндивидуальная вариация ФК-параметра для субъекта i . Это вектор нормально распределенных случайных эффектов с математическим ожиданием в нуле и дисперсией ω^2 , т. е. $\eta_i \in N(0; \omega^2)$.
- λ_z – Константа терминальной (лог-линейной) фазы элиминации
- ω – Относительное стандартное отклонение индивидуальных оценок ФК-параметров η от популяционного среднего, в Monolix выражается в долях от единицы
- AIC – Информационный критерий Акаике
- AM – Активная антипсихотическая фракция
- APCI – Химическая ионизация при атмосферном давлении (от англ. «Atmospheric pressure chemical ionization»)
- APPI – Фотоионизация при атмосферном давлении (от англ. «Atmospheric Pressure Photoionization»)
- AUC – Площадь под фармакокинетической кривой «концентрация ЛС-время» (от англ. «the total area under the drug level-time curve»)
- AUCinf – Площадь под фармакокинетической кривой «концентрация действующего вещества – время», начиная с нулевого значения времени (момент приема препарата) до бесконечности.
- AUCt – Площадь под фармакокинетической кривой «концентрация действующего вещества – время», начиная с нулевого значения времени (момент приема препарата) до времени отбора последнего образца крови с определяемой концентрацией действующего вещества (t).
- BIC – Информационный критерий Байеса
- BSA – Площадь поверхности тела (от англ. «body square area»)
- Cl – Клиренс лекарственного средства
- Clz – Клиренс, рассчитываемый в НКА (в настоящей работе)
- Cmax – Максимальная концентрация ЛС

C _{ss}	– Средняя концентрация ЛС в стационарном состоянии – когда количество поступающего ЛС равно количеству элиминируемого вещества за интервал дозирования (τ).
C _{ss_min}	Минимальная (остаточная) концентрация ЛС в стационарном состоянии
C _{ss_max}	Максимальная (пиковая) концентрация ЛС в стационарном состоянии
CV (%)	– Коэффициент вариации
CYP	– Цитохром
ESI	– Ионизация электрораспылением (от англ. «electrospray ionization»)
F	– Биодоступность - часть полученной дозы ЛС, достигающая системного кровотока (в %).
f	– Относительная степень всасывания (относительная биодоступность) ЛС, определяемая отношением AUC _{inf} (T)/AUC _{inf} (R)
f'	– Относительная степень всасывания (относительная биодоступность) ЛС, определяемая отношением AUC _t (T)/AUC _t (R)
f''	– Отношение C _{max} (T)/C _{max} (R)
IBW	– Идеальная масса тела (от англ. «ideal body weight»)
IC ₅₀	– Концентрация полумаксимального ингибирования, является показателем концентрации ЛС, необходимого для 50 % ингибирования тестовой реакции <i>in vitro</i> .
IWRES	Взвешенные остатки индивидуального прогноза
K _a	– Константа скорости абсорбции
K _{el}	– Константа скорости элиминации
K _m	– Константа Михаэлиса-Ментен
LRT	– Тест отношения вероятностей (от англ. «likelihood ratio test»)
MALDI	– Матричная лазерная десорбционная ионизация (от англ. «matrix-assisted laser desorption ionization»)
MeCN	– Ацетонитрил
MeOH	– Метанол
MCMC	– Методы Монте-Карло с цепями Маркова
Monolix [®]	– Программное обеспечение, предназначенное для популяционного фармакокинетического анализа (название происходит от франц. «MOdèles NON Linéaires à effets miXtes» - моделирование нелинейных смешанных эффектов)
MRM	– Мониторинг заданных (выбранных) реакций (от англ. «multiple reactions monitoring»)

n или N	– Количество элементов в выборке
NLMEM	– Нелинейное моделирование смешанных эффектов (от англ. «nonlinear mixed-effects modelling»)
P-gp	– Р-гликопротеин
pc-VPC	– График проверки предсказательности модели с откорректированным прогнозом (от англ. «prediction-corrected visual predictive checks»)
Q	– Межкамерный клиренс
R	– Препарат сравнения (оригинальный препарат)
RSD	– Относительное стандартное отклонение (от англ. «relative standard deviation»)
RSE	– Относительное отклонение стандартной ошибки точечной оценки
s.e.	– Стандартная ошибка оценки
S/N	– Отношение сигнал/шум
SAEM	– Стохастическая аппроксимация для алгоритма максимизации ожидания (от англ. «stochastic approximation expectation maximization»).
SD	– Стандартное/среднеквадратичное отклонение (от англ. «standard deviation»)
SE	– Стандартная ошибка (от англ. «standard error») оценки среднего
T	– Исследуемый (воспроизведенный) препарат-генерик
T _{1/2}	– Период полувыведения
T _{max}	– Время достижения максимальной концентрации ЛС
TOF	– Времяпролетный масс-анализатор (от англ. «time of flight»)
UGT	– Уридиндифосфат-глюкоронилтрансфераза
UM	– ультрабыстрые метаболиты
V	– Объем распределения (от англ. «volume of distribution»)
V ₁	– Объем распределения в центральной камере
V ₂	– Объем распределения в периферической камере
V _{max}	– Максимальная скорость ферментативной реакции (метаболизма), характеризующая кинетику Михаэлиса-Ментен
V _z	– Объем распределения, рассчитываемый некомпартментным подходом на основе величины λ_z
АЛТ	– Аланинаминотрансфераза
АП	– Антипсихотические препараты (нейролептики)
АСТ	– Аспаратаминотрансфераза
БЭ	– Биоэквивалентность
ВС	– Внутренний стандарт (от англ. «internal standard»)

ВЭЖХ-МС/МС	– Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией
ГПРМЖ	– Гормон-положительный рак молочной железы
ГХ	– Газовая хроматография
ДИ	– Доверительный интервал
ИА	– Ингибиторы ароматазы
ИМТ	– Индекс массы тела
КК	– контроль качества
ЛС	– Лекарственное средство
ММП	– Метод максимального правдоподобия (от англ. «maximum likelihood estimation, MLE»)
МНН	– Международное непатентованное наименование
МС	– Масс-спектрометрия
МС/МС	– Тандемная масс-спектрометрия
МФ	– Матричный фактор
НКА	– Некомпаратментный анализ (от англ. «noncompartmental analysis»)
НПКО	– Нижний предел количественного определения
НЯ	– Нежелательное явление
ПФ	– Подвижная фаза
ПФК	– Популяционная фармакокинетика
РИС	– Рисперидон
РМЖ	– Рак молочной железы
ТЛМ	– Терапевтический лекарственный мониторинг
ТФЭ	– Твердофазная экстракция
ФК	– Фармакокинетика
ФПИА	– Флуоресцентный поляризационный иммуноанализ
ФПР	– Функция предсказанного распределения
ФСГ	– Фолликулостимулирующий гормон
ЭКГ	– Электрокардиография

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях / И. И. Мирошниченко, А. Н. Симонов, И. И. Кузьмин, А. И. Платова // Фармакокинетика и Фармакодинамика. – 2020. – №. 2. – С. 28–33 (2020а).
2. Аримидекс®. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата П N013285/01. Государственный реестр лекарственных средств. Минздрав РФ: офиц. сайт. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (дата обращения: 13.10. 2020).
3. Белоусов, Д. Ю. Сравнительный фармакоэкономический анализ применения анастрозола, летрозолола и экземестана при адъювантной терапии рака молочной железы / Д. Ю. Белоусов, Е. В. Афанасьева, С. К. Зырянов // Качественная клиническая практика. - 2012. - № 2. - С. 45-55.
4. Белоусов, Ю. Б. Дженерики: мифы и реалии / Ю. Б. Белоусов // Ремедиум. - 2003. - № 7-8. - С. 4-9.
5. Бологов, П. В. Инвега как средство купирования обострения эндогенных психозов / П. В. Бологов, В. В. Бондарь, В. В. Артюх [и др.] // Психиатрия. - 2010. - № 2. - С. 48-58.
6. Быстрый и чувствительный хроматомасс-спектрометрический метод количественного определения летрозолола с использованием твердофазной экстракции из плазмы крови человека и его применение в фармакокинетических исследованиях / А. И. Платова, И. И. Мирошниченко, С. Н. Птицина, Н. И. Юрченко // Хим.-фарм. журнал. – 2014. - № 4 (48). - С. 47–52 (2014а).
7. Горьков, В. А. Введение в фармакокинетику / В. А. Горьков, Е. И Карамышева // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2004. – №. 1. – С. 2-4.
8. ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика: нац. стандарт Российской Федерации: утвержден и введен в действие Приказом Ростехрегулирования от 27.09.2005 N 232-ст): введен впервые: дата введения 01.04.2006. Москва: Стандартинформ, 34 с. (Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу). URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/2925> (дата обращения: 12.06.2022). Доступна на: Интернет и право: электрон, база юрид. фирм.
9. Драницына, М. А. Свойства процедуры двух односторонних тестов для признания биоэквивалентности лекарственных препаратов / М. А. Драницына, Т. В. Захарова, Р. Р. Ниязов // Ремедиум. –2019. – № 3. – С. 40–47.
10. Дубенко, А. Е. Эпилептические психозы: систематика, диагностика, лечение / А. Е. Дубенко, В. И. Коростий // Психіатрія - Огляд. - 2013. - Т. 2, № 25. - С. 48-50.

11. Захарова, Т. В. Оценка уровня значимости критерия Шуирманна для проверки гипотезы биоэквивалентности при наличии пропущенных данных / Т. В. Захарова, А. А. Тархов // Информ. и её примен. – 2019, Т. 13, № 3. – С. 58–62.
12. Исследования биоэквивалентности таблетированных форм рисперидона, оланзапина и кветиапина у здоровых добровольцев / В. В. Писарев, М. М. Уляшова, К. А. Вдовина [и др.] // Фармакокинетика фармакодинамика. – 2013. - №1 – С.14-22.
13. Клиническая фармакокинетика летрозолола / И. И. Мирошниченко, А. И. Платова, А. Н. Симонов, Н. И. Юрченко // XX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: Тез. докл. - Москва, 2013. - С. 386 (2013а).
14. Клинические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению больных раком молочной железы / Л. В. Болотина, А. Д. Закирходжаев, С. Е. Малыгин [и др.]; Ассоциация онкологов России. - М.: ООО «Печатный центр “Удача”, 2014. – 47 с.
15. Количественные методы в масс-спектрометрии / И. Лаваньини, Ф. Маньо, Р. Сералья, П. Тральди. – Москва: Техносфера, 2008. -176 с. – ISBN 978-5-94836-190-1. -Текст: непосредственный.
16. Кукес, В. Г. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / В. Г. Кукес, Д. А. Сычев (Ред.) // Москва: Изд-во Гэотар-Медиа. – 2009. - 432 с. - ISBN 978-5-9704-0972-5.- Текст: непосредственный.
17. Кукес, В. Г. Клиническая фармакология / В. Г. Кукес // 3-е изд. ГЭОТАР-Медицина, 2006 г. - 994 с. - ISBN 978-5-9704-1839-0. – Текст: непосредственный.
18. Лебедев, А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. – М.: Техносфера, 2015. - 704 с. – ISBN 978-5-94836-409-4. – Текст: непосредственный.
19. Методики моделирования фармакокинетики некоторых лекарственных средств по динамике их распределения в слюне / С. Н. Кондратенко, А. К. Стародубцев, И. В. Ковачевич [и др.] // Биомед. химия. - 2014. - Т. 60, № 2. - С. 221-222.
20. Мирошниченко И. И. Проблемы персонализации психофармакотерапии / И. И. Мирошниченко, А. И. Платова // Психиатрия. – 2015. – № 3 (67). - С. 85–94.
21. Мирошниченко, И. И. Количественное определение анастрозола методом тандемной хроматомасс-спектрометрии / И. И. Мирошниченко, Н. И. Юрченко, А. И. Платова // Хим.-фарм. журнал. - 2013. - № 2 (47). - С. 122–125 (2013б).
22. Мирошниченко, И. И. Основы фармакокинетики / И. И. Мирошниченко. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. - 192 с. - ISBN 5-9231-0211-0. – Текст: непосредственный.
23. Мирошниченко, И. И. Рациональное дозирование и мониторинг лекарственных средств / И. И. Мирошниченко. - М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2011. - С. 353–371. – ISBN 978-5-9986-0042-5. – Текст: непосредственный.

24. Мирошниченко, И. И. Роль и место фармакокинетики при разработке новых лекарственных средств / И. И. Мирошниченко // Разработка и регистрация лек. средств. – 2014. - № 2. - С. 108–112.
25. Мониторинг антипсихотических средств при шизофрении / И. И. Мирошниченко, Н. В. Баймеева, А. И. Платова, В. Г. Каледа, Д. В. Тихонов // XXIII Российский Национальный Конгресс «Человек и лекарство»: Сб. тезисов и докладов – Москва, 2017. – С. 13–14.
26. Определение анастрозола и летрозолола в биологических образцах с использованием хроматомасс-спектрометрии / И. И. Мирошниченко, Л. М. Красных, А. И. Платова, А. Н. Симонов, Н. И. Юрченко // XX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: Тез. докл. - Москва, 2013. - С. 386 (2013в).
27. Основы масс-спектрометрии органических соединений / В. Г. Заикин, А. В. Варламов, А. И. Микая, Н. С. Простаков. - М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 286 с.
28. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы / И. И. Дедов, А. Н. Тюльпаков, В. П. Чехонин [и др.] // Вестник РАМН. – 2012. - № 12. - С. 4-12.
29. Платова, А. И. Моделирование фармакокинетики анастрозола на целевой популяции женщин в постменопаузе / А. И. Платова, И. И. Мирошниченко // I Международный Форум «Молекулярная медицина - новая модель здравоохранения XXI века: экономика, технология, образование»: Тез. докл. - Санкт-Петербург, 2013. – С. 153–155.
30. Платова, А. И. Одновременное определение содержания нейролептиков в крови / А. И. Платова, Е. В. Бондаренко, И. И. Мирошниченко // XXI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: Тез. докл. - Москва, 2014. - С. 308 (2014б).
31. Платова, А. И. Популяционная фармакокинетика: состояние и перспективы / А. И. Платова, С. А. Сергеева, И. И. Мирошниченко // Ремедиум. – 2014. – № 1–2. – С. 18–20 (2014в).
32. Платова, А. И. Популяционный анализ фармакокинетики летрозолола / А. И. Платова, И. И. Мирошниченко // Интер-медикал. -2014. - № 4. – С. 32–37.
33. Платова, А. И. Популяционный подход к изучению фармакокинетики рисперидона / А. И. Платова, А. Г. Соколович // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). – 2014. - № 7 (часть 3 С). – С. 114–118.
34. Платова А. И. Популяционный фармакокинетический анализ в программе Lixoft Monolix //Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – №. 3. – С. 36-51.
35. Популяционная фармакокинетика пиперациллина/тазобактама у новорожденных и детей раннего возраста / Ж. Ли, Й. Чен, К. Ли [и др.] // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2014. – Т. 4, № 2. – С. 24-37.
36. Потанин, С. С. Роль терапевтического лекарственного мониторинга антипсихотиков в индивидуализации терапии обострения приступообразно-прогредиентной шизофрении:

- специальность 14.01.06 «Психиатрия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Потанин Сергей Сергеевич; ФБГНУ «Научный центр психического здоровья» - Москва, 2015. -209 с.
37. Регуляция активности ферментов метаболизма лекарственных препаратов-цитохромов P450 3A4 и 2C9-биологически активными соединениями / А. А. Махова, В. В. Шумянцева, Е. В. Ших [и др.] // Молекулярная медицина. – 2013. – № 5. – С. 49-53.
38. Рисполепт®. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата П N014824/01. Государственный реестр лекарственных средств. Минздрав РФ: офиц. сайт. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (дата обращения: 13.10. 2020).
39. Российская Федерация. Законы. О порядке определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения: [утвержден постановлением Правительства РФ от 28 сентября 2020 г. № 1360]. URL: <https://base.garant.ru/74614808/> (дата обращения: 20.06.2022).
40. Российская Федерация. Законы. Об обращении лекарственных средств: Федеральный закон № 61-ФЗ : [принят Государственной Думой 24 марта 2010 года : одобрен Советом Федерации 31 марта 2010 года]. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&nd=102137440> (дата обращения: 27.12. 2022).
41. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Под ред. Миронова А. Н. Том I. - М.: Гриф и К, 2013. - 328 с. ISBN 978-5-8125-1858-5. Текст: непосредственный.
42. Сергиенко, В. И. Прикладная Фармакокинетика: основные положения и клиническое применение / В. И. Сергиенко, Р. Джеллифф, И. Б. Бондарева. - М.: Издательство РАМН, 2003. - 208 с. ISBN 5-7901-0031-7. Текст: непосредственный.
43. Середа, Е. Е. Ферменты метаболизма эстрогенов и рецепторы как факторы риска развития и прогноза при раке молочной железы / Е. Е. Середа, И. В. Кондакова, Е. М. Слонимская // Сибирский онкологический журнал. – 2004. – №. 1.
44. Современные критерии исследований биоэквивалентности лекарственных средств: гармонизация национальных стандартов / А. С. Смирнов, А. Шнайдер, М. Ю. Фролов, В. И. Петров // Хим.-фарм. журнал. - 2014. - Т. 48, № 5. - С. 3-10.
45. Современные подходы к лечению больных с карциномой in situ молочной железы / Д. Д. Пак, Ф. Н. Усов, Е. Ю. Фетисова [и др.] // Онкология. – 2013. – № 4. – С. 34–39.
46. Современный взгляд на основные патогенетические гипотезы шизофрении / Т. П. Ключник, О. С. Брусов, Г. Ш. Бурбаева [и др.] // Редколлегия журнала «Психиатрия». – 2010.
47. Соколов А. В. Применение фармакокинетических подходов в клинической практике: специальность 14.010.25 «Фармакология. Клиническая фармакология»: диссертация на

- соискание ученой степени доктора биологических наук / Соколов Андрей Владимирович; Московский государственный медицинский университет - Москва, 2002. – 304 с.
48. Соловьев, В. Н. Фармакокинетика / В. Н. Соловьев, А. А. Фирсов, В. А. Филов. - М.: Медицина, 1980. - 494 с. – Текст: непосредственный.
49. Сычев, К. С. Практическое руководство по жидкостной хроматографии / К. С. Сычев. - Москва: Техносфера, 2010. - 272 с. ISBN 978-5-94836-238-0. – Текст: непосредственный.
50. Терапевтический лекарственный мониторинг антипсихотических средств (методические рекомендации) / И. И. Мирошниченко, Н. В. Баймеева, А. И. Платова, Д. В. Тихонов, И. И. Кузьмин, А. Н. Симонов, В. Г. Каледя – М.: Типография «Копирка», 2020. – 23 с (2020б).
51. Терапевтический лекарственный мониторинг рисперидона и его метаболита 9-оксирисперидона при терапии шизофрении / Н. В. Баймеева, А. И. Платова, В. Г. Каледя, И. И. Мирошниченко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119. - С.12-16.
52. Терапевтический лекарственный мониторинг: инструмент персонализированной медицины (методические рекомендации) / Под ред. акад. РАМН В. Г. Кукеса (Россия) и проф. Д. Берри (Великобритания). - М.: Изд-во Автономной некоммерческой организации «Международная ассоциация клинических фармакологов и фармацевтов», 2013. - 48 с.
53. Фармакокинетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С. А. Сергеева, В.Н. Каркищенко. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. - 384 с. – ISBN 5-222-01504-1. – Текст: непосредственный.
54. Фемара®. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата П N015738/01. Государственный реестр лекарственных средств. Минздрав РФ: офиц. сайт. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (дата обращения: 13.10. 2020).
55. Холодов, Л. Е. Клиническая фармакокинетика / Л. Е. Холодов, В. П. Яковлев. – М.: Медицина, 1985. - 464 с. – Текст: непосредственный.
56. Чернецова, Е. С. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией для исследования новых лекарственных веществ / Е. С. Чернецова, А. С. Корякова // Масс-спектрометрия. - Т. 7, № 2. - 2010. - С. 101-112.
57. Чистяков, В. В. Некоторые особенности биоаналитической части изучения биоэквивалентности лекарственных препаратов / В. В. Чистяков // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013. – № 3. – С. 24-28.
58. Шагиахметов, Ф. Ш. Атипичные антипсихотики: больше сходств или различий? Теоретические предпосылки (часть 1) / Ф. Ш. Шагиахметов // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – № 1. – 2014. – С. 14-22.
59. Широкая индивидуальная вариабельность концентрации антипсихотиков у пациентов с обострением шизофрении в условиях рутинной практики / С. С. Потанин, Д. С. Бурминский,

- М. А. Морозова, А. И. Платова, Н. В. Баймеева, И. И. Мирошниченко // Социальная и клиническая психиатрия. – 2017. – Т. 27. – №. 3.- С. 73-80.
60. Ших, Е. В. Связь фармакокинетики с фармакодинамикой / Е. В. Ших, Г. В. Раменская, Д. А. Сычев //Справочник поликлинического врача. – 2005. – Т. 4. – №. 4.
61. Ярошенко, Д. В. Нивелирование влияния биологической матрицы при определении лекарственных препаратов в плазме крови методом хромато-масс-спектрометрии»: специальность 02.00.02 «Аналитическая химия»: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Ярошенко Дмитрий Вадимович; ФГБОУ ВПО "Санкт-Петербургский государственный университет"- Санкт-Петербург, 2014. -153 с.
62. A model-based meta-analysis of monoclonal antibody pharmacokinetics to guide optimal first-in-human study design / J. P. Davda, M. G. Dodds, M. A. Gibbs [et. al.] // MAbs. – 2014. - Vol. 6, N 4. - P. 1094-1102.
63. A novel approach to quantitative LC-MS/MS: therapeutic drug monitoring of clozapine and norclozapine using isotopic internal calibration / L. Couchman, S. L. Belsey, S. A. Handley and R. J. Flanagan //Analytical and bioanalytical chemistry. – 2013. – Т. 405. – №. 29. – С. 9455-9466.
64. Abuasal, B. Non-Linear Absorption Kinetics of Drugs: Role of Intestinal Transporters and Metabolism Paperback / B. Abuasal, A. Kaddoumi. – LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co.KG: Saarbrücken, 2011. – 210 p.- ISBN 9783848442294. - Текст: непосредственный.
65. Abubakar, M. B. A review of chromatographic methods used in the determination of anastrozole levels / M. B. Abubakar and S. H. Gan // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – Т. 78. – №. 2. – С. 173-181.
66. Abubakar, M. B. The influence of genetic polymorphisms on the efficacy and side effects of anastrozole in postmenopausal breast cancer patients / M. B. Abubakar, K. Wei, S. H. Gan // Pharmacogenet. Genomics. – 2014. - Vol. 24, N 12. – P. 575-81.
67. Advantage of population pharmacokinetic method for evaluating the bioequivalence and accuracy of parameter estimation of pidotimod / J. Huang, M. Li, Y. Lv [et al.] // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 2016. – Vol. 54. – P. 682 – 692.
68. Alamo, C. The pharmacological role and clinical applications of antipsychotics' active metabolites: paliperidone versus risperidone / C. Álamo, F. López-Muñoz // Clin. Exp. Pharmacol. - 2013. - Vol. 3, N 1. -P. 1-12.
69. Anakinra pharmacokinetics in children and adolescents with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis and autoinflammatory syndromes / C. Urien, C. Bardin, B. Bader-Meunier [et al.] // BMC Pharmacol. & Toxicology. - 2013. - Vol. 14. - P.40-45.

70. Anastrozol Ratiopharm 1 mg, film-coated tablets. PAR. Ratiopharm GmbH, Germany. NL/H/836/01/DC, 2011. Medicines Evaluation Board (MEB), Нидерланды: офиц. сайт. URL: <http://db.cbg-meb.nl/mri/par/nlh-0836-001.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
71. Anastrozole 1 mg Film-coated Tablets. PL 18727/0014. UKPAR, 2011. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con093709.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
72. Anastrozole 1mg Film-coated Tablets. PAR. Decentralised Procedure. UK/H/3974/01/DC, 2011. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con111676.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
73. Anastrozole 1mg. Tablets. PAR. Decentralised Procedure. UK/H/911/001/DC. Teva UK Ltd, 2007. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con014114.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
74. Anastrozole Bluefish 1 mg film-coated tablets (anastrozole). PAR. Scientific discussion. SE/H/781/01/DC, 2010. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. URL: <https://docetp.mpa.se/LMF/Anastrozole%20Bluefish%20film-coated%20tablet%20ENG%20PAR.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
75. Anastrozole, a potent and selective aromatase inhibitor, versus megestrol acetate in postmenopausal women with advanced breast cancer: results of overview analysis of two-phase III trials. Arimidex Study Group / A. U. Buzdar, W. Jonat, A. Howell [et al.] // J. Clin. Oncol. – 1996. – Vol. 14, N 7. – P. 2000 - 2011.
76. Anastrozole. IPAR. Scientific discussion. CRN 2145478, 2014. Irish Medicines Board: офиц. сайт. URL: http://www.hpra.ie/img/uploaded/swedocuments/LicenseSPC_PA0074-068-001_12052014102103.pdf (дата обращения: 13.12.2020).
77. Anderson, S. The transitivity of bioequivalence testing: potential for drift / S. Anderson, W. W. Hauck // International journal of clinical pharmacology and therapeutics. – 1996. – Т. 34. – №. 9. – С. 369-374.
78. Andrade, C. Antipsychotic drugs in schizophrenia: relative effects in patients with and without treatment resistance / C. Andrade // J. Clin. Psychiatry. - 2016. -Vol. 77, N12. - P. 1656-1660.
79. Antipsychotic and anticholinergic drug prescribing pattern in psychiatry: extent of evidence-based practice in Bahrain / K. A. J. Al Khaja, M. K. Al-Haddad, R. P. Sequeira1, A. R. Al-Offi // Pharmacology & Pharmacy. - 2012. - Vol. 3. - P. 409-416.

80. Antipsychotic combinations vs. monotherapy in schizophrenia: a meta-analysis of randomized controlled trials / C. U. Correll [et al.] // *Schizophrenia Bulletin*. - 2009. - Vol. 35, N 2. - P. 443–457.
81. Application and challenges in using LC-MS assays for absolute quantitative analysis of therapeutic proteins in drug discovery / J. Zheng, J. Mehl, Y. Zhu [et al.] // *Bioanalysis*. - 2014. - Vol. 6, N 6. - P. 859-79.
82. Applications of stable isotopes in clinical pharmacology / R. C. A. Schellekens, F. Stellaard, H. J. Woerdenbag [et al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2011. - Vol. 72, N 6. – P. 879–897.
83. Arimidex. Label. 02.05.2014 [Electronic resource] // FDA Approved Drug Products Database: сайт. URL: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/020541s029lbl.pdf (дата обращения: 13.12. 2020).
84. Arimidex. NDA 20-541/S-006. Clinical pharmacology and biopharmaceutics review(s) / FDA. CDER. 1997 [Electronic resource] // Drugs @ FDA: FDA Approved Drug Products Database: сайт. URL: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2000/20-541S006_Arimidex_biopharmr.pdf (дата обращения: 13.12. 2020).
85. Arimidex: a new oral, once-a-day aromatase inhibitor / P. V. Plourde, M. Dyroff, M. Dowsett [et al.] // *Steroid Biochem. Molec. Biol.* – 1995. – Vol. 53, N 1-6. - P. 175-179.
86. Aromatase activity in primary and metastatic human breast cancer / A. Lipton, S. J. Santner, R. J. Santen [et al.] // *Cancer*. - 1987. - Vol. 59, N 4. - P. 779-82.
87. Bardal, S. *Applied pharmacology* / S. Bardal, J. Waechter, D. Martin. – St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences, 2010. – 480 p. - ISBN 9781437703108. – Текст: непосредственный.
88. Bauer, R. J. A survey of population analysis methods and software for complex pharmacokinetic and pharmacodynamic models with examples / R. J. Bauer, S. Guzy, Chee Ng // *AAPS J.* - 2007. - Vol. 9, N 1. - P. E60-E83.
89. Beal, S. L. *NONMEM users guides, version IV* / S. L. Beal, L. B. Sheiner (eds) // NONMEM Project Group. San Francisco: University of California, 1992. - (CD-ROM).
90. Bhatnagar, A. S. The discovery and mechanism of action of letrozole / A. S. Bhatnagar // *Breast Cancer Res Treat.* – 2007. – Vol. 105 (Suppl. 1). – P. 7–17.
91. Bioanalytical chromatographic method validation according to current regulations, with a special focus on the non-well defined parameters limit of quantification, robustness and matrix effect / O. González, M. E. Blanco, G. Iriartec [et al.] // *J. Chromatogr. A.* - 2014.- Vol. 1353. - P. 10-27.
92. Bioanalytical method validation and its pharmaceutical application- a review / L. V. Sonawane, B. N. Poul, S. V. Usnale [et al.] // *Pharm. Anal. Acta.* - 2014. - Vol. 5, N 3. - P. 1-7.

93. Bioequivalence and pharmacokinetic evaluation of two formulations of risperidone 2 mg: an open-label, single-dose, fasting, randomized-sequence, two-way crossover study in healthy male Chinese volunteers / Y. Liu, M. Q. Zhang, J. Y. Jia [et al.] // *Drugs R. D.* - 2013. - Vol.13. - P. 29-36 (2013a).
94. Bioequivalence and safety study of letrozole tablet in healthy Chinese postmenopausal women volunteers / Y. Liu, Y. Zhang, Q. Wang [et al.] // *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences.* - 2013. - Vol. 22. - P. 190–196 (2013b).
95. Bioequivalence evaluation of two strengths of risperidone tablet formulations in healthy volunteers / M. Cánovas, J. Delgadillo, F. Torres [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* - 2009. - Vol. 47, N 2. - P. 124-131.
96. Blakemore, J. Aromatase: Contributions to Physiology and Disease in Women and Men / J. Blakemore, F. Naftolin // *Physiology.* – 2016. - Vol. 31, N 4. – P. 258-269.
97. Bonate, P. L. Compartmental models in pharmacokinetics in drug development: clinical study design and analysis / P. L. Bonate, D. R. Howard // *AAPS.* - 2004. - Vol.1. - P. 291-362.
98. Bonate, P. L. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation / P. L. Bonate // Springer Science & Business Media, 2011. -ISBN 978-1-4419-9485-1. – Текст: непосредственный.
99. Bonate, P. L. Pharmacokinetics in drug development: Clinical study design and analysis / P. L. Bonate, D. R. Howard // – Springer Science & Business Media, 2005. – Vol. 1. – ISBN 978-0971176744. – Текст: непосредственный.
100. Borgherini, G. The bioequivalence and therapeutic efficacy of generic versus brand-name psychoactive drugs / G. Borgherini // *Clinical Therapeutics.* - 2003. - Vol. 25, N 6. - P. 1578 - 1592.
101. Box, G. E. Empirical model-building and response surfaces / G. E. Box and N. R. Draper // New York: Wiley, 1987. – Vol. 424.
102. Brodie, A. Aromatase in the normal breast and breast cancer / A. Brodie, Q. Lu and J. Nakamura // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* – 1997. – Т. 61. – №. 3-6. – С. 281-286.
103. Brown, H. Applied mixed models in medicine / H. Brown, R. Prescott // John Wiley & Sons. - 2014. – ISBN 9780470023563. – Текст: непосредственный.
104. Bryant, J. Letrozole after Tamoxifen for breast cancer - What's the price of success? / J. Bryant, N. Wolmark // *N. Engl. J. Med.* - 2003. - Vol. 349, N 19. - P. 1855-1857.
105. Budeprion XL. 300 mg Not Therapeutically Equivalent to Wellbutrin XL 300 mg (FDA Update), 2012. FDA, США: офиц. сайт. URL: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm322161.htm> (дата обращения: 13.12. 2020).

106. Burton, M. E. Applied pharmacokinetics & pharmacodynamics: principles of therapeutic drug monitoring / M. E. Burton (ed.) // Lippincott Williams & Wilkins. – 2006. - ISBN 978-0781744317. – Текст: непосредственный.
107. Butnariu, M. Bioequivalence and bioavailability of receptors dopamine (D2) and serotonin in the action of antipsychotic drugs / M. Butnariu // J. Bioequiv. Availab. -2017. -Vol. 9, N 2. - e76.
108. Caccia, S. Safety and pharmacokinetics of atypical antipsychotics in children and adolescents / S. Caccia // Paediatr. Drugs. - 2013. - Vol. 15, N 3.- P. 217-233.
109. Carbon, M. Rational use of generic psychotropic drugs / M. Carbon, C. U. Correll // CNS Drugs. – 2013. - Vol. 27, N 5. - P. 353-365.
110. Chang, H. M. Antimüllerian hormone inhibits follicle-stimulating hormone-induced adenylyl cyclase activation, aromatase expression, and estradiol production in human granulosa-lutein cells / H. M. Chang, C. Klausen, P. C. Leung // Fertil. Steril. – 2013. – Vol. 100, N 2. – P. 585-592.
111. Cho, H-Y. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of risperidone in healthy male subjects with different CYP2D6 genotypes / H-Y. Cho, Y-B. Lee // Arch. Pharm. Res. - 2006. - Vol. 29, N 6. - P. 525-533.
112. Chow, S. C. Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies / S. C. Chow, J. P. Liu. – CRC press, 2008. - ISBN 978-1584886686. – Текст: непосредственный.
113. Chumsri, S. Clinical utilities of aromatase inhibitors in breast cancer / S. Chumsri // Int. J. Womens Health. – 2015. – Vol. 7. – P. 493-499.
114. Clifford, A. J. Mathematical modeling in experimental nutrition / A. J. Clifford, H-G. Müller. - New York: Plenum Press, 1998. - 426 p. – ISBN 978-1-4899-1959-5. – Текст: непосредственный.
115. Clinical applications of LC-MS sex steroid assays: evolution of methodologies in the 21st century / H. Ketha, S. Kaur, S. Grebe, R. J. Singh // Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity. - 2014. - Vol. 21, N 3. - P. 217-226.
116. Clinical pharmacology of atypical antipsychotics: an update / M. C. Mauri, S. Paletta, C. Di Pace [et al.] // EXCLI J.- 2018. -Vol. 57, N 12. – P. 1493-1528.
117. Colussi, D. M. Plasma protein binding of letrozole, a new nonsteroidal aromatase enzyme inhibitor / D. M. Colussi, C. Y. Parisot, G. Y. Lefèvre // The Journal of Clinical Pharmacology. – 1998. – T. 38. – №. 8. – C. 727-735.
118. Comparative pharmacokinetics and bioequivalence of two tablet formulations of 2 mg risperidone in healthy Thai male volunteers / N. Khorana, S. Maphanta, O. Lohitnavy [et al.] // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. - 2011. - Vol. 49, N 6. – P. 409-414.
119. Comparison of pharmacokinetics and safety of two formulations of Letrozole (2.5 mg) in healthy male volunteers. Y-H. Noh, K-S. Bae, S-H. Cho [et al.] // J. Korean Soc. Clin. Pharmacol. Ther. - 2012. - Vol. 20, N 2. - P. 135-144 (2012b).

120. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: update 2017 / C. Hiemke, N. Bergemann, H. W. Clement [et al.] // *Pharmacopsychiatry*. – 2018. – T. 51. – №. 01/02. – С. 9-62.
121. Corena-McLeod, M. Comparative pharmacology of risperidone and paliperidone / M. Corena-McLeod // *Drugs in R&D*. – 2015. – T. 15. – №. 2. – С. 163-174.
122. CYP2A6 activity in a healthy Spanish population: effect of age, sex, smoking, and oral contraceptives / B. Sinues, A. Fanlo, E. Mayayo [et al.] // *Human & experimental toxicology*. – 2008. – Vol. 27, N 5. – P. 367-372.
123. Deb, N. A study on probable correlation of AST/ALT (De Ritis) ratio with the advancement of underlying severity of alcoholic liver disease in the North East Indian population / N. Deb, D. Lahon and P. Sharma // *Asian Pac J Health Sci*. – 2016. – Vol. 3. – P. 5-10.
124. Design in nonlinear mixed effects models: optimization using the Fedorov–Wynn algorithm and power of the Wald test for binary covariates / S. Retout, E. Comets, A. Samson, F. Mentr'e // *Statist. Med.* - 2007. - Vol. 26. - P. 5162–5179.
125. Design optimization for pharmacokinetic modeling of a cocktail of phenotyping drugs / T. T. Nguyen, H. Bénech, M. Delaforg, N. Lenuzza // *Pharm. Stat.* – 2016. – Vol. 15, N 2. – P. 165-177.
126. Design, implementation and multisite evaluation of a system suitability protocol for the quantitative assessment of instrument performance in liquid chromatography-multiple reaction monitoring-MS (LC-MRM-MS) / S. E. Abbatiello, D. R. Mani, B. Schilling [et al.] // *Mol. Cell. Proteomics*. - 2013. - Vol. 12, N 9. - P. 2623-2639.
127. Desmarais, J. E. Switching from brand-name to generic psychotropic medications: a literature review / J. E. Desmarais, L. Beauclair, H. C. Margolese // *CNS Neurosci. Ther.* – 2011. – Vol. 17, N 6. - P. 750 - 760.
128. Development and Validation of a HPLC Method for Determination of Anastrozole in Tablet Dosage Form / D. S. Kumar, A. Harani, D. Sridhar [et al.] // *Journal of Chemistry*. – 2011. – T. 8. – №. 2. – С. 794-797.
129. Dold, M. Pharmacotherapy of treatment-resistant schizophrenia: a clinical perspective / M. Dold, S. Leucht // *Evidence Based Mental Health*. – 2014. – Vol. 17, N 2. – P. 33-37.
130. Dose equivalents for second-generation antipsychotics: the minimum effective dose method / S. Leucht, M. Samara, S. Heres [et al.] // *Schizophr. Bull.* - 2014. - Vol. 40, N 2. - P. 314-326.
131. DrugBank: база данных. Данные в коммуникативных форматах iso-2709. URL: www.drugbank.ca. (дата обращения: 13.10. 2020).
132. Duan, G. Rapid determination of anastrozole in plasma by gas chromatography with electron capture detection and its application to an oral pharmacokinetic study in healthy volunteers / G. Duan, J. Liang, M. Zuo // *Biomed. Chromatogr.* - 2002. - Vol. 16. - P. 400–403.

133. Dudley, E. MALDI profiling and applications in medicine / E. Dudley // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2014. - Vol. 806. - P. 33-58.
134. Effect of age and single versus multiple dose pharmacokinetics of letrozole (Femara) in breast cancer patients / C. U. Pfister, A. Martoni, C. Zamagni [et al.] // *Biopharm. Drug Dispos.* -2001. - Vol. 22, N 5. - P. 191-197.
135. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial / J. Cuzick, I. Sestak, M. Baum [et al.] // *Lancet Oncol.* - 2010. - Vol. 11, N 12. - P. 1135-1141.
136. Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial / I. Sestak, W. Distler, J. F. Forbes [et al.] // *J. Clin. Oncol.* - 2010. - Vol. 28. – P. 3411–3415.
137. Efficacy of tamoxifen ± aminoglutethimide in normal weight and overweight postmenopausal patients with hormone-receptor positive breast cancer - an analysis of 1509 patients of the ABCSG-06 trial / G. Pfeiler, H. Stöger, P. Dubsky [et al.] // *Br. J. Cancer.* - 2013. - Vol. 108. - P. 1408–1414.
138. Elzawawy A. M., Kerr D. J. Variation in the availability of cancer drug generics in the United States of America / A. M. Elzawawy, D. J. Kerr // *Annals of oncology.* – 2013. – Vol. 24. – №. suppl 5. – P. v17-v22.
139. Estrogens and their precursors in postmenopausal women with early breast cancer receiving anastrozole / J.N. Ingle, K. R. Kalari, A. U. Buzdar [et al.] // *Steroids.* -2015. – Vol. 99 (Pt A). – P. 32-38.
140. Evaluation of electrospray ionisation liquid chromatography-tandem mass spectrometry for rational determination of a number of neuroleptics and their major metabolites in human body fluids and tissues / M. Josefsson, R. Kronstrand, J. Andersson, M. Roman // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* - 2003. - Vol. 789, N1. - P.151-67.
141. Evaluation of matrix microsampling methods for therapeutic drug candidate quantification in discovery-stage rodent pharmacokinetic studies / M. Soto, R. Pham, V. Almon [et al.] // *Bioanalysis.* – 2014. – Vol. 6, N 16. – P. 2135-2146.
142. Fadiran, E. O. Effects of sex differences in the pharmacokinetics of drugs and their impact on the safety of medicines in women / E. O. Fadiran and L. Zhang // *Medicines For Women.* – Springer International Publishing, 2015. – C. 41-68
143. Femara. NDA 20-726. Clinical pharmacology biopharmaceutics review(s), 1997. FDA, США: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/97/20726_FEMARA%202.5MG_BIOPHARMR.PDF (дата обращения: 13.12. 2020).

144. French, D. Advances in bioanalytical techniques to measure steroid hormones in serum / D. French // *Bioanalysis*. – 2016. – Vol. 8, N 11. – P. 1203-1219.
145. Frommer, A. H-Splittings and two-stage iterative methods / A. Frommer, D. B. Szyld // *Numerische Mathematik*. - 1992. - Vol. 63, N 1. - P. 345-356.
146. Fujikura, K. Genetic variation in the human cytochrome P450 supergene family / K. Fujikura, M. Ingelman-Sundberg, V. M. Lauschke // *Pharmacogenet. Genomics*. – 2015. – Vol.25, N 12. – P. 584-94.
147. Gabrielsson, J. Non-compartmental analysis / J. Gabrielsson, D. Weiner // *Methods Mol. Biol.* - 2012. - Vol. 929. - P. 377-389.
148. Gabrielsson, J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis: concepts and applications / J. Gabrielsson, D. Weiner. - Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press, 2000 (third edition). - 925 p. – ISBN 9789186274696. – Текст: непосредственный.
149. Gatsonis, C. Multiple correlation: exact power and sample size calculations / C. Gatsonis, A. R. Sampson // *Psychological bulletin*. – 1989. – Т. 106. – №. 3. – С. 516.
150. Gavhane, Y. N. Loss of orally administered drugs in GI tract / Y. N. Gavhane and A. V. Yadav // *Saudi Pharmaceutical Journal*. – 2012. – Т. 20. – №. 4. – С. 331-344.
151. Geisler, J. Differences between the non-steroidal aromatase inhibitors anastrozole and letrozole – of clinical importance? / J. Geisler // *British Journal of Cancer*. - 2011. - Vol. 104. - P. 1059 – 1066.
152. Generic switching and non-persistence among medicine users: a combined population-based questionnaire and register study / J. Rathe, M. Andersen, D. E. Jarbol [et al.] // *PLoS One*. - 2015. - Vol. 10, N 3. - P. 1-13.
153. Ghareeb, M. Alternative matrices for therapeutic drug monitoring of immunosuppressive agents using LC-MS/MS / M. Ghareeb, F. Akhlaghi // *Bioanalysis*. – 2015. Vol. 7, N 8. – P. 1037-1058.
154. Gibaldi, M. Pharmacokinetics / M. Gibaldi, D. Perrier. - New York: Marcell Decker, 1982. - 494 p. – ISBN 9780824710422. – Текст: непосредственный.
155. Grimm, S. W. Inhibition of human drug metabolizing cytochromes P450 by anastrozole, a potent and selective inhibitor of aromatase / S. W. Grimm, M. C. Dyroff // *Drug metabolism and disposition*. – 1997. – Vol. 25, N 5. – P. 598-602.
156. Guidance for Industry. Population Pharmacokinetics, 1999. FDA, США: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM072137.pdf> (дата обращения: 13.12.2020).
157. Guidance for Industry. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, 2001. FDA, США: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <https://www.fda.gov/media/70958/download> (дата обращения: 13.12.2020).

158. Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation / H. Y. Vander, A. Nijhuis, J. Smeyers-Verbeke [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* - 2001. - Vol.- 24, N 5-6. - P. 723-753.
159. Guidance on the Selection of Comparator Pharmaceutical Products for Equivalence Assessment of Interchangeable Multisource (Generic) Products. WHO Technical Report Series, No. 902, Annex 11, 2002. World Health Organization: офиц. сайт. URL: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19641en/s19641en.pdf> (дата обращения: 13.12.2020).
160. Guidance on the selection of comparator Pharmaceutical products for equivalence Assessment of interchangeable multisource (generic) products. Working document QAS/14.596. Draft, 2014. World Health Organization: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/guidanceontheselectionofcomparatorpharmproducts-etc_qas14-596_18072014.pdf (дата обращения: 13.12.2020).
161. Guideline on reporting the results of population pharmacokinetic analyses, 2007. European Medicines Agency, ЕС: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003067.pdf (дата обращения: 13.12.2020).
162. Hendeles, L. Generic and alternative brand-name pharmaceutical equivalents: Select with caution / L. Hendeles, G. Hochhaus, S. Kazerounian // *Am. J. Hosp. Pharm.* – 1993. – Vol. 50, N 20. – P. 323–329.
163. Hiriyanna, S. G. Isolation and characterization of process related impurities in anastrozole active pharmaceutical ingredient / S. G. Hiriyanna, K. Basavaiah // *Braz. Chem. Soc.* - 2008. - Vol. 19, N 3. - P. 397-404.
164. Holthoewer, D. Induction of drug transporters alters disposition of risperidone - a study in mice / D. Holthoewer, C. Hiemke, U. Schmitt // *Pharmaceutics* - 2010. - Vol. 2. - P. 258-274.
165. Hua, Y. Increasing the sensitivity of an LC–MS method for screening material extracts for organic extractables via mobile phase optimization / Y. Hua, D. Jenke // *Journal of Chromatographic Science.* - 2012.- Vol. 50. - P. 213-227.
166. In vitro and in vivo oxidative metabolism and glucuronidation of anastrozole / L.K. Kamdem, Y. Liu, V. Stearns [et al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 70, N 6. – P. 854-869.
167. Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes / A. J. Cox, P. Zhang, D. W. Bowden [et al.] // *Diabetes Metab.* – 2017. Vol. 43, N 2. -P. 163-166.
168. Inhibition of human CYP19 by azoles used as antifungal agents and aromatase inhibitors, using a new LC-MS/MS method for the analysis of estradiol product formation / E. R. Trösken, K. Fischer, W. Völkel, W. K. Lutz // *Toxicology.* - 2006. - Vol. 219. - P. 33-40.

169. Integral pharmacokinetics of multiple lignan components in normal, CCl₄-induced hepatic injury and hepatoprotective agents pretreated rats and correlations with hepatic injury biomarkers / Y. Xie, H. Hao, A. Kang [et al.] // *Journal of ethnopharmacology*. – 2010. – Vol. 131, N 2. – P. 290-299.
170. Investigation of herb-drug interactions with ginkgo biloba in women receiving hormonal treatment for early breast cancer / J. Vardy, H. M. Dhillon, S. J. Clarke [et al.] // *Springer plus*. – 2013. – Vol. 2, N 1. – P. 126.
171. Investigation of the effect of active efflux at the blood–brain barrier on the distribution of nonsteroidal aromatase inhibitors in the central nervous system / M. Miyajima, H. Kusuhara, K. Takahashi [et al.] // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2013. – Vol. 102, N 9. – P. 3309-3319.
172. Ion suppression effects in liquid chromatography-tandem mass spectrometry due to a formulation agent, a case study in drug discovery bioanalysis / P.J. Larger, M. Breda, D. Fraier [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2005. – Vol. 39, NN 1–2. – P. 206–216.
173. Ionization enhancement in atmospheric pressure chemical ionization and suppression in electrospray ionization between target drugs and stable-isotope-labeled internal standards in quantitative liquid chromatography/tandem mass spectrometry / H. R. Liang, R. L. Foltz, M. Meng, P. Bennett // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* - 2003. - Vol. 17, N 24. - P. 2815-2821.
174. Iranmanesh, A. Secretagogue type, sex-steroid milieu, and abdominal visceral adiposity individually determine secretagogue-stimulated cortisol secretion / A. Iranmanesh, C.Y. Bowers, J.D. Veldhuis // *Eur. J. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 162, N 6. – P. 1043-1049.
175. Jelliffe, R.W. Modeling, adaptive control, and optimal drug therapy / R. W. Jelliffe, A. Schumitzky // *Med. Prog. Technol.* - 1990. - Vol.16. - P. 95-110.
176. Ji, H. Y. Hydrophilic interaction chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of anastrozole in human plasma and its application to a pharmacokinetic study / H. Y. Ji, J. H. Sohn, H. S. Lee // *Biomed. Chromatogr.* - 2012. - Vol. 26, N 2. - P. 261-266.
177. Joerger, M. Covariate pharmacokinetic model building in oncology and its potential clinical relevance / M. Joerger // *The AAPS Journal*. - 2012. - Vol. 14, N 1. - P. 119-132.
178. Johansson, I. Genetic polymorphism and toxicology - with emphasis on cytochrome P450 / I. Johansson, M. Ingelman-Sundberg // *Toxicol. Sci.* - 2011. - Vol. 120, N 1. - P. 1-13.
179. Johnson, K. A. A robust methodology for rapid structure determination of microgram-level drug metabolites by NMR spectroscopy / K. A. Johnson, S. Huang, Y. Z. Shu // *ADME-Enabling Technologies in Drug Design and Development*. – 2012. – C. 353.
180. Jönsson, A. K. Compilation of Serum Concentrations of 12 Antipsychotic Drugs in a Therapeutic Drug Monitoring Setting / A. K. Jönsson, O. Spigset, M. A. Reis // *Therapeutic drug monitoring*. – 2019. – T. 41. – №. 3. – C. 348-356.

181. Kang, D. A. sample size computation method for non-linear mixed effects models with applications to pharmacokinetics models / D. Kang, J. B. Schwartz, D. Verotta // *Statist. Med.* - 2004. - Vol. 23. - P. 2551-2566.
182. Karlsson, M. O. Three new residual error models for population PK/PD analyses / M. O. Karlsson, S. L. Beal, L. B. Sheiner // *Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics.* – 1995. – Vol. 23, N 6. – P. 651-672.
183. Kelly, C.M. Anastrozole / C. M. Kelly, A.U. Buzdar // *Expert Opin. Drug Saf.* – 2010. – Vol. 9, N 6. – P. 995-1003.
184. Kumet, R. The effectiveness of generic agents in psychopharmacologic treatment / R. Kumet, A. J. Gelenberg // *Essent. Psychopharmacol.* – 2005. – Vol. 6, N 2. - P. 104-111.
185. Kushnir, M. M. LC–MS/MS in clinical laboratories / M. M. Kushnir, A. L. Rockwood, J. Bergquist // *Bioanalysis.* - 2013. - Vol. 5, N 1. - P. 5-6.
186. Langan, J. Antipsychotic polypharmacy: review of mechanisms, mortality and management / J. Langan, P. Shajahan // *The Psychiatrist.* - 2010. - Vol. 34. - P. 58-62.
187. Large variability of aripiprazole and dehydroaripiprazole serum concentrations in adolescent patients with schizophrenia / C. J. Bachmann, A. Rieger-Gies, M. Heinzl-Gutenbrunner [et al.] // *Therapeutic drug monitoring.* – 2008. – T. 30. – №. 4. – С. 462-466.
188. Lavielle, M. Estimation of population pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software / M. Lavielle, F. Mentre // *J. Pharmacokin. Pharmacodyn.* - 2007. - Vol. 34, N 2. - P. 229-249.
189. LC-MS/MS method for the simultaneous determination of PA-824, moxifloxacin and pyrazinamide in rat plasma and its application to pharmacokinetic study / L. Wang, Y. Xu, L. Liang [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* - 2014. - Vol. 97. - P. 1-8.
190. LC–MS/MS of some atypical antipsychotics in human plasma, serum, oral fluid and haemolysed whole blood / D. S. Fisher, S. J. Partridge, S. A. Handley et al. // *Forensic Science International.* – 2013. – T. 229. – №. 1-3. – С. 145-150.
191. Letrozole 2.5 mg Film-Coated Tablets. PAR. Decentralised Procedure. PL 00289/1168, 2009. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con076123.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
192. Letrozole 2.5 mg tablet. Final integrated clinical and statistical report. EMEA BE fasting. Sponsor (Laboratorios Cinfa) project NCFA-009, 2008. EMEA, ЕС: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <http://biocrossonline.com/files/2013/02/Letrozole-2.5-mg-Tablet.pdf> (дата обращения: 13.12.2020).

193. Letrozole 2.5mg Film-Coated Tablets. PAR. Decentralised Procedure. UK/H/1159/001/DC, 2008. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con030935.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
194. Letrozole 2.5mg film-coated tablets. PL 33410/0061. UKPAR., 2010. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Великобритания: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con076268.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).
195. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry or automated immunoassays: what are the future trends in therapeutic drug monitoring? / G. Brandhorst, M. Oellerich, G. Maine [et al.] // Clin. Chem. - 2012.- Vol. 58. - P. 821-825.
196. Locatelli, I. Population Pharmacokinetics of Risperidone in Patients with Acute Schizophrenia [материалы Международной научной конференции PAGE, Марсель, 18-20 июня 2008 г.] / I. Locatelli, M. Kastelic, J. Koprivsek [et al]. — Текст : электронный // PAGE: офиц. сайт. URL: <https://www.page-meeting.org/?abstract=1368>.
197. Locatelli, L. Simultaneous determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone enantiomers in human blood plasma by liquid chromatography with electrochemical detection / L. Locatelli, I. Grabnar, A. Mrhar // J. Pharm. Biomed. Anal. - 2009. -Vol. 50, N 5. - P. 905-910.
198. Lonning, P. Pharmacokinetics of third-generation aromatase inhibitors / P. Lonning, C. Pfister, A. Martoni, C. Zamagni // Semin. Oncol. – 2003. – Vol. 30 (Suppl. 14). – P. 23–32.
199. Matuszewski, B. K. Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC–MS bioanalysis / B. K. Matuszewski //Journal of Chromatography B. – 2006. – Vol. 830, N 2. – С. 293-300.
200. Maurer, H. H. Multi-analyte procedures for screening for and quantification of drugs in blood, plasma, or serum by liquid chromatography-single stage or tandem mass spectrometry (LC-MS or LC-MS/MS) relevant to clinical and forensic toxicology / H. H. Maurer // Clin. Biochem. - 2005. - Vol. 38, N 4. - P. 310-318.
201. Meadows, K. Revolutionizing SPE for improved bioanalysis / K. Meadows, T. Liddicoat, M. Oliver // Bioanal. - 2012. - Vol. 4. - P. 2661-2663.
202. Meredith, P. Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution / P. Meredith // Clin. Ther. – 2003. Vol. 25, N 11. – P. 2875–2890.
203. Methods for population pharmacokinetic modeling: non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian / T. Tatarinova, M. Neely, J. Bartroff [et al.] // Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. - 2013. - Vol. 40, N 1. – P. 1-29.

204. Mofsen, R. Case reports of the reemergence of psychotic symptoms after conversion from brand-name clozapine to a generic formulation / R. Mofsen, J. Balter // *Clin. Ther.* - 2001. - Vol. 23, N 10. - P. 1720-1731.
205. Mondal, N. Development and validation of RP-HPLC method to determine letrozole in different pharmaceutical formulations and its application to studies of drug release from nanoparticles / N. Mondal, T. K. Pal, S. K. Ghosal // *Acta Pol. Pharmaceut. Drug Res.* - 2009. - Vol. 66. - P. 11-17.
206. Mould, D. R. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods / D. R. Mould, R. N. Upton // *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* - 2013. - Vol. 17, N 2. - P. 1-14.
207. Multiple versus single antipsychotic agents for hospitalized psychiatric patients: case-control study of risks versus benefits / F. Centorrino, J. L. Goren, J. Hennen [et al.] // *(Am.) J. Psychiatry.* - 2004. - Vol. 161, N 4. - P. 700-706.
208. Nicholson, B. Primary care considerations of the pharmacokinetics and clinical use of extended-release opioids in treating patients with chronic noncancer pain / B. Nicholson // *Postgrad. Med.* - 2013. - Vol. 125, N 1. - P.115-127.
209. Niwa, M. Chemical derivatization as a tool for optimizing MS response in sensitive LC-MS/MS bioanalysis and its role in pharmacokinetic studies / M. Niwa // *Bioanalysis.* - 2012. - Vol. 4. - P. 213-20.
210. Opportunities and Challenges Related to the Implementation of Model-Based Bioequivalence Criteria / C. Seng Yue, D. Ozdin, S. Selber-Hnatiw, M. P. Ducharme // *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* - 2019. - Vol. 105, N. 2. - P. 350-362.
211. Oscarson, M. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) gene: Implications for interindividual differences in nicotine metabolism / M. Oscarson // *Drug. metabolism and disposition.* - 2001. - Vol. 29, N 2. - P. 91-95.
212. Owen, J. S. Introduction to population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis with nonlinear mixed effects models / J. S. Owen, J. Fiedler-Kelly. - Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2014 - 301 p. - ISBN 978-0470582299. - Текст: непосредственный.
213. Penner, N. Radiolabeled absorption, distribution, metabolism, and excretion studies in drug development: why, when, and how? / N. Penner, L. Xu, C. Prakash // *Chem. Res. Toxicol.* - 2012. - Vol. 25, N 3. - P. 513-531.
214. Perlis R. H. Pharmacogenomic testing and personalized treatment of depression / R. H. Perlis // *Clinical chemistry.* - 2014. - Vol. 60, N 1. - P. 53-59.
215. Peters, F. T. Validation of new methods / F. T. Peters, O. H. Drummer, F. Musshoff // *Forensic Sci. Int.* - 2007. - Vol. 165. - P. 216-224.

216. Pharmacogenetics and population pharmacokinetics: impact of the design on three tests using the SAEM algorithm / J. Bertrand, E. Comets, C. Laffont [et al.] // *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. – 2009. - Vol. 36, N 4. - P. 317-339.
217. Pharmacokinetic comparison of 2 formulations of anastrozole (1 mg) in healthy Korean male volunteers: a randomized, single-dose, 2-period, 2-sequence, crossover study / Y-H. Noh, Y-J. Ko, S-H. Cho [et al.] // *Clin. Ther.* - 2012. - Vol. 34, N 2. - P. 305-313 (2012a).
218. Pharmacokinetics and bioequivalence of two formulations of letrozole 2.5 mg tablets: a randomized, open-label, single-dose, two-period, parallel study in healthy Chinese subjects / Y. Sheng, J. Zhao, Y. Li [et al.] // *OMICS International*. 2012. - Vol. 1, N 9. -P 1-4.
219. Pharmacology and pharmacokinetics of the newer generation aromatase inhibitors / A. U. Buzdar, J. F. Robertson, W. Eiermann, J. M. Nabholz // *Clin. Cancer Res.* – 2003. -Vol. 95, N 9. – P. 2006-2016.
220. Plasma letrozole concentrations in postmenopausal women with breast cancer are associated with CYP2A6 genetic variants, body mass index, and age / Z. Desta, Y. Kreutz, A. T. Nguyen [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* - 2011.- Vol. 90, N 5. - P. 693-700.
221. Plasma protein binding of risperidone and its distribution in blood / G. Mannens, W. Meuldermans, E. Snoeck, J. Heykants // *Psychopharmacology (Berl)*. -1994. - Vol. 114. - P. 566-572.
222. Plourde, P. V. Arimidex®: a potent and selective fourth-generation aromatase inhibitor / P. V. Plourde, M. Dyroff, M. Dukes // *Breast cancer research and treatment*. – 1994. – Vol. 30, N 1. – P. 103-111.
223. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics in anesthesia, intensive care and pain medicine / E. H. Heeremans, J. H. Proost, D. J. Eleveld [et al.] // *Curr. Opin. Anaesthesiol.* - 2010. - Vol. 23. - P. 479-484.
224. Population pharmacokinetics and prediction of dopamine D2 receptor occupancy after multiple doses of RBP-7000, a new sustained-release formulation of risperidone, in schizophrenia patients on stable oral risperidone treatment / C. M. Laffont, R. Gomeni, B. Zheng [et al.] // *Clin. Pharmacokinet.* - 2014. - Vol. 53, N 6. - P. 533-543.
225. Population pharmacokinetics of busulfan in pediatric and young adult patients undergoing hematopoietic cell transplant: a model-based dosing algorithm for personalized therapy and implementation into routine clinical use / J. R. Long-Boyle, R. Savic, S. Yan [et al.] // *Ther. Drug Monit.* – 2015. – Vol. 37, N 2. – P. 236 - 245.
226. Powers of the likelihood ratio test and the correlation test using empirical bayes estimates for various shrinkages in population pharmacokinetics / F. P. Combes, S. Retout, N. Frey, F. Mentré // *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* - 2014. - Vol. 3. - P.1-9.

227. Pre-diagnosis body mass index and survival after breast cancer in the after breast cancer pooling project / M. L. Kwan, W. Y. Chen, C. H. Kroenke [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* - 2012. - Vol. 132. - P. 729-739.
228. Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models / M. Bergstrand, A. C. Hooker, J. E. Wallin, M. O. Karlsson // *The AAPS journal.* - 2011. - Vol. 13, N 2. - P. 143-151.
229. Prognostic Significance of Progesterone Receptor Expression in Estrogen-Receptor Positive, HER2-Negative, Node-Negative Invasive Breast Cancer With a Low Ki-67 Labeling Index / M. Ono, H. Tsuda, M. Yoshida [et al.] // *Clin. Breast Cancer.* – 2016. – Vol. 16. – P. 3016-3023.
230. Quantification of selected antidepressants and antipsychotics in clinical samples using chromatographic methods combined with mass spectrometry: A review / P. Sistik, M. Turjap, A. M. Iordache [et al.] // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2016. - Vol.160, N. 1. - P. 39-53.
231. Quantitation of seven low-dosage antipsychotic drugs in human postmortem blood using LC-MS-MS / M. Roman, R. Kronstrand, D. Lindstedt, M. Josefsson // *J. Anal. Toxicol.* - 2008. - Vol. 32. - P. 147-155.
232. Quercetin pharmacokinetics in humans / Y. J. Moon, L. Wang, R. DiCenzo, M. E. Morris // *Biopharm. Drug. Dispos.* - 2008. - Vol. 29, N 4. - P. 205 - 217.
233. Relationship between P-glycoprotein and second-generation antipsychotics / T. Moons, M. De Roo, S. Claes and G. Dom // *Pharmacogenomics.* – 2011. – T. 12. – №. 8. – C. 1193-1211.
234. Relative bioavailability and pharmacokinetic comparison of two 2-mg risperidone tablet formulations: A single dose, randomized-sequence, double-blind, 2-way crossover study in healthy male volunteers in Thailand / J. Boonleang, W. Pipatrattanaseree, C. Tanthana, W. Mahatthanatrakul // *Clinical Therapeutics.* ----- 2010. -Vol. 32, N 10. - P. 1842-1853.
235. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, alone or in combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer / A. Howell, J. Cuzick, M. Baum [et al.] // *The Lancet.* – 2005. – Vol. 365 (9453). – P. 60-62.
236. Risperdal. Application number 21-444. Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics. Review / FDA. CDER: офиц. сайт: США. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-444_Risperdal_BioPharmr.pdf (дата обращения: 13.12. 2020).
237. Risperidon Apotex 0.5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 6 mg, film-coated tablets. PAR. NL/H/1121/001-006/MR, 2010. Medicines Evaluation Board (MEB), Нидерланды: офиц. сайт. URL: <http://db.cbq-meb.nl/mri/par/nlh-1121-001-002-003-004-005-006.pdf> (дата обращения: 13.12. 2020).

238. Risperidon. База данных Drugs.com. Данные в коммуникативных форматах iso2709. URL: <https://www.drugs.com> (дата обращения: 13.12. 2020).
239. Risperidone plasma levels, clinical response and side-effects / M. Riedel, M. J. Schwarz, M. Strassnig [et. al.] // European archives of psychiatry and clinical neuroscience. – 2005. – Т. 255. – №. 4. – С. 261-268
240. Rosenbaum, S. Basic pharmacokinetics and pharmacodynamics: an integrated textbook and computer simulations / S. Rosenbaum. - New Jersey: J. Wiley & Sons., 2011. - 430 p. - ISBN 978-1119143154. – Текст: непосредственный.
241. Samson, A. The SAEM algorithm for group comparison tests in longitudinal data analysis based on non-linear mixed-effects model / A. Samson, M. Lavielle, F. Mentr'e // Statist. Med. - 2007. - Vol. 26. - P. 4860-4875.
242. Savic, R. M. Implementation and evaluation of the SAEM algorithm for longitudinal ordered categorical data with an illustration in pharmacokinetics - pharmacodynamics / R. M. Savic, F. Mentré, M. Lavielle // The AAPS Journal. - 2011. - Vol. 13, N 1. - P. 44-53.
243. Schteingart, D. E. Drugs in the medical treatment of Cushing's syndrome / D. E. Schteingart // Expert. Opin. Emerg. Drugs. -2009. - Vol. 14, N 4. - P. 661-671.
244. Screening, library-assisted identification and validated quantification of fifteen neuroleptics and three of their metabolites in plasma by liquid chromatography/mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization / C. Kratzsch, A. A. Weber, F. T. Peters [et al.] // J. Mass. Spectrom.- 2003. - Vol. 38. - P. 283-295.
245. Selection of buffers in LC-MS/MS: an overview / V. S. Mannur, D. Patel, V. S. Mastiholimath, G. Shah // International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Resear. - 2011. - Vol. 6, N 1.- P. 34.
246. Sensitive UPLC-MS-MS assay for 21 benzodiazepine drugs and metabolites, zolpidem and zopiclone in serum or plasma / S. J. Marin, M. Roberts, M. Wood, G. A. McMillin // J. Anal. Toxicol. - 2012. - Vol. 36. - P. 472-476.
247. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics / M. Gandhi, F. Aweeka, R. M. Greenblatt, T. F. Blaschke //Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2004. – Т. 44. – С. 499-523.
248. Sharif, Z. A. Pharmacokinetics, metabolism, and drug-drug interactions of atypical antipsychotics in special populations / Z. A. Sharif // J. Clin. Psychiatry. - 2003. - Vol. 5, suppl.6. - P. 22-25.
249. Sheiner, L. B. The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods / L. B. Sheiner // Drug-Metab-Rev. - 1984.- Vol. 15, N 1-2. - P. 153-171.

250. Sherwin, C. M. Population pharmacokinetic modeling of risperidone and 9-hydroxyrisperidone to estimate CYP2D6 subpopulations in children and adolescents / C. M. Sherwin, S. N. Saldaña, R. R. Bies [et al.] // *Therapeutic drug monitoring*. – 2012. – T. 34. – №. 5. – C. 535.
251. Shi, S. Age-related changes in pharmacokinetics / S. Shi and U. Klotz // *Current drug metabolism*. – 2011. – T. 12. – №. 7. – C. 601-610.
252. Shi, Y. Combined study of genetic and epigenetic biomarker risperidone treatment efficacy in Chinese Han schizophrenia patients / Y. Shi, M. Li, C. Song [et al.] // *Transl. Psychiatry*. – 2017. Vol.7. - e1170.
253. Siddiqui, M. R. Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review / M. R. Siddiqui, Z. A. AlOthman, N. Rahman // *Arabian Journal of chemistry*. – 2017. – T. 10. – C. S1409-S1421.
254. Simpson, E. R. Sources of estrogen and their importance / E. R. Simpson // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2003. - Vol. 86, N 3–5. - P. 225-230.
255. Simultaneous quantitative analysis of letrozole, its carbinol metabolite, and carbinol glucuronide in human plasma by LC-MS/MS / J. C. Precht, B. Ganchev, G. Heinkele [et al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* - 2012. - Vol. 403. - P. 301-308.
256. Smith, D. Atazanavir plasma concentrations vary significantly between patients and correlate with increased serum bilirubin concentrations / D. Smith, S. Jeganathan, J. Ray // *HIV clinical trials*. – 2006. – T. 7. – №. 1. – C. 34-38.
257. Snyder, P. Biochemical and biotechnological applications of electrospray ionization mass spectrometry / P. Snyder // *209th meeting of the American Chemical Society*. - Washington: DC, 1995. - Vol. 619. – P. - 601.
258. Soldin, O. P. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics / O. P. Soldin and D. R. Mattison // *Clinical pharmacokinetics*. – 2009. – T. 48. – №. 3. – C. 143-157.
259. Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a Phase III study of the international letrozole breast cancer group / H. Mouridsen, M. Gershanovich, Y. Sun [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. - 2001. – Vol. 19, N 10. - P. 2596-2606.
260. Suppression of plasma estrogen levels by letrozole and anastrozole related to body mass index in patients with breast cancer / E. J. Folkerd, J. M. Dixon, L. Renshaw [et al.] // *J. Clin. Oncol.* - 2012. - Vol. 30, N 24. - P. 2977-2980.
261. Switching to anastrozole versus continued tamoxifen treatment of early breast cancer. Updated results of the Italian tamoxifen anastrozole (ITA) trial / F. Boccardo, A. Rubagotti, P. Guglielmini [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2006. – Vol. 17, suppl. 7. – P.10-14.

262. Synergic development of pharmacokinetics and bioanalytical methods as support of pharmaceutical research / M. Marzo, R. Ciccarelli, P. Di Iorio [et al.] // *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. - 2016. - Vol. 29, N 2. – P. 168 - 179.
263. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses / E. Chambers, D. M. Wagrowski-Diehl, Z.Lu, J. R. Mazzeo // *Journal of Chromatography B*. – 2007. – T. 852. – №. 1. – С. 22-34.
264. Systemic anticancer therapy in gynecological cancer patients with renal dysfunction / Y. F. Li, S. Fu, W. Hu [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer*. -2007. Vol. 17, N 4. – P. 739-763.
265. Tan, T. Collagen and prostaglandin E₂ regulate aromatase expression through the PI3K/AKT/IKK and the MAP kinase pathways in adipose stromal cells / T. Tan, L. Wang, B. Wang // *Mol. Med. Rep.*- 2015. – Vol. 12, N 3. – P. 4766-4772.
266. Tanii, H. Population pharmacokinetic analysis of letrozole in Japanese postmenopausal women / H. Tanii, Y. Shitara, T. Horie // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* - 2011. - Vol. 67. - P. 1017–1025.
267. Text on validation of analytical procedures. Harmonised Tripartite Guideline, 1994. ICH: офиц. сайт. Данные в формате PDF. URL: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf> (дата обращения: 20.12.2022).
268. The analysis of antipsychotic drugs in human matrices using LC-MS (/MS) / E. Saar, J. Beyer, D. Gerostamoulos and O. H. Drummer // *Drug testing and analysis*. – 2012. – Т. 4. – №. 6. – С. 376-394.
269. The impact of tamoxifen brand switch on side effects and patient in compliance hormone receptor positive breast cancer patients / B. Zeidan, K. Anderson, L. Peiris [et al.] // *Breast*. – 2016. - Vol.29. - P. 62-67.
270. The letrozole phase 1 metabolite carbinol as a novel probe drug for UGT2B7 / J.C. Precht, W. Schroth, K. Klein [et al.] // *Drug Metab. Dispos.* – 2013. – Vol. 41, N 11. – P. 1906-1913.
271. The pharmacokinetics of letrozole: association with key body mass metrics / S. J. Jin, J. A. Jung, S. H. Cho [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* - 2012. - Vol. 50, N 8. - P. 557-565.
272. The predictive impact of body mass index on the efficacy of extended adjuvant endocrine treatment with anastrozole in postmenopausal patients with breast cancer: an analysis of the randomised ABCSG-6a trial / M. Gnant, G. Pfeiler, H. Stöger [et al.] // *Br. J. Cancer*. - 2013. - Vol. 109, N 3. - P. 589-596.
273. Therapeutic equivalence of antipsychotics and antidepressants – a systematic review / G. Cessak, K. Rokita, M. Dąbrowska M [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2016. - Vol. 68, N 2. – P. 217-223.
274. Thomssena, C. Update 2010 of the German AGO Recommendations for the diagnosis and treatment of early and metastatic breast cancer - chapter A: surgery, pathology and prognostic

- factors, adjuvant and neoadjuvant therapy, adjuvant radiotherapy / C. Thomssena, C. N. Harbeckb // *Breast Care*. - 2010. - N 5. - P. 259–265.
275. Thyssen, A. Population pharmacokinetics of oral risperidone in children, adolescents and adults with psychiatric disorders / A. Thyssen // *Clin. Pharmacokinet.* - 2010. - Vol. 49, N 7. - P. 465-478.
276. Tiwari, G. Bioanalytical method validation: an updated review / G. Tiwari, R. Tiwari // *Pharm. Methods*. - 2010. - Vol. 1, N1. – P. 25–38.
277. Torre, L.A. Global cancer statistics, 2012 / L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – Vol. 65, N 2. – P. 87–108.
278. Torres, P. Pharmacokinetic study of risperidone. Application of a HPLC method with solid phase extraction / P. Torres, J. Sepulveda, C. Von Plessing // *J. Chil. Chem. Soc.* - 2011. - Vol. 56, N 1. - P. 606-609.
279. Transformer: база данных: сайт. URL:http://bioinformatics.charite.de/transformer/index.php?site=get_drug_interaction (дата обращения: 13.12. 2020).
280. Umar, A. Future directions in cancer prevention / A. Umar, B. K. Dunn, P. Greenwald // *Nat. Rev. Cancer*. - 2012. - Vol. 12, N 12. - P. 835-48.
281. Vizirianakis, I. S. Handbook of Personalized Medicine: Advances in Nanotechnology, Drug Delivery, and Therapy / I. S. Vizirianakis (ed.) // CRC Press. – 2014. – ISBN 978-9814411196. – Текст: непосредственный.
282. Vogeser, M. Pitfalls Associated with the Use of Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory / M. Vogeser, C. Seger // *Clinical Chemistry*. – 2010. – Vol. 56, N 8. – P. 1234–1244.
283. Vonesh, E. F. Mixed-effects nonlinear regression for unbalanced repeated measures / E. F. Vonesh, R. L. Carter // *Biometrics*. - 1992. - Vol. 48. - P. 1-17.
284. Wang, X. Applications of Accelerator Mass Spectrometry (AMS) / X. Wang, V. Ong, Seymour M. Seymour // *ADME-Enabling Technologies in Drug Design and Development*. – 2012. – С. 331-338.
285. Watanabe-Uchida, M. The Current State and Future Prospects of Population Pharmacokinetic Research in Post-marketing Clinical Studies in Japan / M. Watanabe-Uchida, T. Watanabe and M. Narukawa // *YAKUGAKU ZASSHI*. – 2019. – Vol.139, N 10. – P. 1297-1303.
286. WinNonlin® User’s Guide: Pharsight Corporation // California: University of California. 2009.- (CD-ROM).
287. Zhang, G. Simultaneous determination of five antipsychotic drugs in rat plasma by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection / G. Zhang, A. V. Terry, M. G. Bartlett // *J. Chromatogr. B*. - 2007. - Vol. 856, N 1-2. - P. 20–28.

288. Zhang, Z. Application of accurate mass spectrometry for metabolite identification / Z. Zhang, K. Mitra //ADME-Enabling Technologies in Drug Design and Development. – 2012. – C. 317-330.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Перечень рисунков

Рисунок 1 – Структурная формула анастрозола	21
Рисунок 2 – Метаболические пути анастрозола, адаптировано из [Abubakar M. B. and Gan S. H., 2016; Kamdem L. K. et. al, 2010].....	23
Рисунок 3 – Структурная формула летрозолола	27
Рисунок 4 – Структурная формула рисперидона и его активного метаболита.....	31
Рисунок 5 – Профили рецепторного связывания рисперидона и его метаболита.....	33
Рисунок 6 – Методы оценки популяционных ФК-параметров.....	46
Рисунок 7 – Этапы популяционного фармакокинетического моделирования, источник: [Мирошниченко И. И., 2011]	48
Рисунок 8 – Отсутствие биоэквивалентности между генериками	61
Рисунок 9 – Типовой план популяционного ФК-анализа	66
Рисунок 10 – Схема перекрестного дизайна исследований биоэквивалентности	68
Рисунок 11 – Схема масс-спектрометра Agilent 6410-2K Triple Quad LC-MS (QQQ)	73
Рисунок 12 – График типичной зависимости «концентрация препарата - время» после однократного приема лекарства внутрь.....	79
Рисунок 13 – Рабочее окно программы Monolix v.2.4.....	81
Рисунок 14 – Основные ФК-модели, соответствующие приему лекарства внутрь.....	83
Рисунок 15 – Моделирование остаточной ошибки.....	85
Рисунок 16 – Схема итерационного алгоритма SAEM.....	86
Рисунок 17 – Алгоритм тестирования ковариат в нелинейной модели смешанных эффектов.....	89
Рисунок 18 – Хроматограммы (MRM) стандартных образцов, содержащих анастрозол в концентрации 2 нг/мл	92
Рисунок 19 – Масс-спектр стандартного раствора анастрозола (1 мкг/мл, в MeOH) в режиме полного сканирования	95
Рисунок 20 – Определение m/z иона-продукта (анастрозол).....	95
Рисунок 21 – Полный масс-спектр стандартного раствора летрозолола 1 мкг/мл в MeOH.....	96
Рисунок 22 – Спектр дочерних ионов. Определение m/z иона-продукта (217,1) летрозолола	97
Рисунок 23 – Хроматограмма стандартного образца смеси нейролептиков и их активных метаболитов в концентрации 10 нг/мл (BC – карбамазепин).	100
Рисунок 24 – Хроматограммы калибровочных стандартов анастрозола	102
Рисунок 25 – Калибровочная зависимость для анастрозола, сформированная в программе Agilent MassHunter	103

Рисунок 26 – Хроматограмма (в режиме MRM) образца, содержащего летрозол в концентрации, соответствующей НПКО	104
Рисунок 27 – Хроматограммы калибровочных стандартов (летрозол)	104
Рисунок 28 – График калибровочной зависимости летрозола	105
Рисунок 29 – Хроматограммы проб плазмы крови, содержащих летрозол в концентрации 1,5 нг/мл (n = 5).....	109
Рисунок 30 – Динамика концентрации анастразола в плазме крови после перорального приема оригинального (Аримидекс®) и воспроизведенного (Анастрозол) препаратов в дозе 1 мг	111
Рисунок 31 – Динамика усредненной концентрации летрозола в крови человека после перорального приема в дозе 2,5 мг	114
Рисунок 32 – Динамика концентрации (среднее \pm SD) рисперидона после перорального приема в дозе 2 мг одного из сравниваемых препаратов	118
Рисунок 33 – Динамика концентрации (среднее \pm SD) 9-ОН-рисперидона после перорального приема рисперидона в дозе 2 мг одного из сравниваемых препаратов	119
Рисунок 34 – Усредненный профиль концентрации рисперидона, 9-ОН-рисперидона, а также их суммы (AM) после однократного приема рисперидона в дозе 2 мг	119
Рисунок 35 – Регрессионные соотношения измеренных и предсказанных концентраций анастразола	125
Рисунок 36 – Распределение взвешенных остатков индивидуальных предсказаний (IWRES) при применении постоянной (слева) и экспоненциальной (справа) моделей распределения.....	128
Рисунок 37 – Зависимость Cl от возраста и $V1$ от ИМТ (анастрозол).....	130
Рисунок 38 – Смоделированные концентрации для анастразола в режиме 1 мг/сутки (по оси абсцисс – время в часах, по оси ординат – концентрация в нг/мл).....	132
Рисунок 39 – Регрессионные соотношения эмпирических и предсказанных концентраций летрозола	134
Рисунок 40 – Сравнение распределений остатков при постоянной (слева) комбинированной (справа) моделях.....	135
Рисунок 41 – Графики корреляционных зависимостей для летрозола.....	137
Рисунок 42 – Регрессионные соотношения эмпирических (по оси абсцисс) и предсказанных концентраций (по оси ординат) для рисперидона, его метаболита и AM РИС	142
Рисунок 43 – Плотность распределения стандартизованных остатков с учетом постоянного (слева) и комбинированного (справа) ее типов (рисперидон)	143
Рисунок 44 – Отношение к терапевтическому диапазону концентраций AM РИС, измеренных при лекарственном мониторинге	149

Рисунок 45 – Смоделированные (выделенные заливкой области) по данным однократного приема и измеренные в ТЛМ (точки) концентрации АМ РИС (в пмоль/мл).....	152
Рисунок 46 – Сравнение смоделированных по данным БЭ и фактически измеренных в исследованиях ТЛМ концентраций (при $\tau = 24$ ч).....	153
Рисунок 47 – Регрессионные соотношения индивидуальных измеренных и предсказанных молярных концентраций активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов.....	157
Рисунок 48 – Гистограммы распределения индивидуальных оценок константы абсорбции и клиренса для активной антипсихотической фракции рисперидона у пациентов.....	158

Перечень таблиц

Таблица 1 – Параметры фармакокинетики анастрозола из исследований биоэквивалентности..	26
Таблица 2 – Параметры фармакокинетики летрозозола из исследований биоэквивалентности.....	30
Таблица 3 – Сравнение ФК рисперидона и его активного метаболита, а также палиперидона ...	35
Таблица 4 – Параметры фармакокинетики рисперидона, 9-ОН-рисперидона и АМ рисперидона из исследований биоэквивалентности.....	37
Таблица 5 – Сравнение различных типов tandemной масс-спектрометрии.....	39
Таблица 6 – Сравнение традиционного и популяционного фармакокинетического анализа	48
Таблица 7 – Математические алгоритмы, применяющиеся для ФК-анализа	50
Таблица 8 – Сравнение методов расчета параметров фармакокинетики в некамерном и камерном подходе	53
Таблица 9 – Женский пол как фактор, влияющий на фармакокинетику.....	56
Таблица 10 – ФК-взаимодействия антипсихотиков.....	67
Таблица 11 – Условия хроматографического анализа ингибиторов ароматазы.....	97
Таблица 12 – Условия масс-спектрометрического детектирования ИА	98
Таблица 13 – Условия хроматографического разделения смеси АП.....	100
Таблица 14 – Условия масс-спектрометрического детектирования АП	101
Таблица 15 – Линейность и точность калибровочной зависимости для анастрозола.....	103
Таблица 16 – Линейность и точность калибровочной зависимости для летрозозола	105
Таблица 17 – Калибровочные и валидационные характеристики количественного определения нейрорептиков в смешанном образце	106
Таблица 18 – Точность и прецизионность метода количественного определения анастрозола в плазме крови человека	108
Таблица 19 – Усредненные концентрации анастрозола в крови (в нг/мл).....	112
Таблица 20 – ФК- параметры анастрозола, рассчитанные посредством НКА для сравниваемых препаратов.....	113

Таблица 21 – Описательная статистика концентраций летрозола в крови (в нг/мл), полученных после приема сравниваемых препаратов (2,5 мг однократно внутрь)	115
Таблица 22 – Параметры фармакокинетики летрозола, рассчитанные немодельным методом .	116
Таблица 23 – Концентрации рисперидона в плазме крови добровольцев (нг/мл) после однократного приема 2 мг	121
Таблица 24 – Концентрации 9-гидроксирисперидона в плазме крови добровольцев (нг/мл) после однократного приема рисперидона в дозе 2 мг	122
Таблица 25 – Параметры фармакокинетики РИС, рассчитанные некомпартментным методом	123
Таблица 26 – Параметры фармакокинетики 9-ОН-РИС, рассчитанные некомпартментным методом	124
Таблица 27 – Определение структурной ФК-модели для анастрозола: информационные критерии	126
Таблица 28 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (анастрозол)	127
Таблица 29 – Индивидуальные характеристики участников исследования БЭ препаратов анастрозола	128
Таблица 30 – Тестирование влияния ковариат на ФК-параметры ФК	129
Таблица 31 – Выбор структурной ФК-модели на основе информационных критериев (летрозол)	133
Таблица 32 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (летрозол)	135
Таблица 33 – Индивидуальные характеристики, собранные в ходе исследования БЭ препаратов летрозола	136
Таблица 34 – Влияние различных ковариат на ФК-параметры летрозола.....	138
Таблица 35 – Определение структурных моделей для описания кинетики рисперидона и 9-ОН-рисперидона по-отдельности, а также их суммы.....	141
Таблица 36 – Влияние характера распределения остатков на качество модельных предсказаний (рисперидон, 9-ОН-РИС, АМ РИС).....	143
Таблица 37 – Популяционные характеристики кинетики АМ после однократного приема рисперидона.....	144
Таблица 38 – Характеристики участников исследования биоэквивалентности препаратов рисперидона.....	145
Таблица 39 - Популяционные ФК-параметры.....	146
Таблица 40 – Результаты теста Шуирманна для ФК-параметров, оцененных НКА и КА с МСМС	148

Таблица 41 – Связь индивидуальных характеристик пациентов и отношения уровня концентрации к терапевтическому диапазону (ТЛМ на базе ФГБНУ НЦПЗ).....	150
Таблица 42 – Начальные условия моделирования кинетики АМ РИС у пациентов.....	154
Таблица 43 – Сводные характеристики пациентов, получавших рисперидон.....	155
Таблица 44 – Популяционные характеристики кинетики АМ РИС у пациентов.....	157
Таблица 45 – Индивидуальные оценки параметров кинетики АМ рисперидона у пациентов из 2-х исследований с ТЛМ.....	159

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А. Характеристики сравниваемых лекарственных форм

Таблица А.1 – Характеристики сравниваемых лекарственных форм анастрозола

	Исследуемый препарат (Т)	Препарат сравнения (R)
Название	Анастрозол	Аримидекс®
Дозировка	1 мг	1 мг
Лек. форма	таблетки, покрытые пленочной оболочкой	
Состав на 1 таблетку	<p>Активное вещество: анастрозол 1,0 мг.</p> <p>Вспомогательные вещества (ядро): лактозы моногидрат (сахар молочный) -2,0 мг, целлюлоза микрокристаллическая-15,6мг, повидон (поливинилпирролидон)-3,0 мг, магния стеарат 0,9 мг, кремния диоксид коллоидный 0,5, мг, карбоксиметилкрахмал натрия – 2,0 мг.</p> <p>Вспомогательные вещества (оболочка): гипромеллоза 1,65 мг, макрогол-4000 0,45 мг, титана диоксид 0,9 мг.</p>	<p>Активное вещество: анастрозол 1мг.</p> <p>Вспомогательные вещества: лактозы моногидрат-93,0 мг, повидон - 2,0 мг, карбоксиметилкрахмал натрия- 3,0 мг, магния стеарат -1,0 мг.</p> <p>Состав оболочки: гипромеллоза -1, 5 мг, макрогол 300- 0,30 мг, титана диоксид -0,45 мг.</p>
Производитель	ООО «Озон», Россия	АстраЗенека Фармасьютикалс ЛП, США
Серия	010111	HJ813
Срок годности	02.2014г	11.2015г

Таблица А.2 – Характеристики сравниваемых лекарственных форм летрозола

	Исследуемый препарат (Т)	Препарат сравнения (R)
Название	Летрозол-Акри®	Фемара®
Дозировка	2,5 мг	2,5 мг
Лек. форма	таблетки, покрытые оболочкой	таблетки, покрытые оболочкой
Состав (1 таблетка содержит)	<p>Активное вещество: летрозол 2,5 мг</p> <p>Вспомогательные вещества. Ядро: лактозы моногидрат- 61,5 мг, крахмал кукурузный - 9,5 мг, гипромеллоза - 3,0 мг, целлюлоза микрокристаллическая - 17,0 мг, карбоксиметилкрахмал натрия - 5,0 мг, кремния диоксид коллоидный - 0,5 мг, магния стеарат- 1,0 мг.</p> <p>Состав оболочки (готовая смесь «Опадрай 03F82908» желтого цвета) - 3,6 мг: гипромеллоза – 62%, титана диоксид-29,4 %, краситель железа оксид желтый- 0,6 %, макрогол-400 -8 %.</p>	<p>Активное вещество: летрозол 2,5 мг</p> <p>Вспомогательные вещества: лактозы моногидрат - 61,500 мг, целлюлоза микрокристаллическая -20,000 мг, крахмал кукурузный -9,500 мг, карбоксиметилкрахмал натрия - 5,000 мг, кремния диоксид коллоидный - 0,500 мг, магния стеарат- 1,000 мг.</p> <p>Состав оболочки: гипромеллоза - 1,838 мг, тальк- 1,331 мг, макрогол 8000 - 0,333 мг, краситель железа оксид желтый (17268) -0,249 мг, титана диоксид- 0,249 мг.</p>
Производитель	М.Дж. Биофарм Пвт. Лтд, Индия	Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария (производитель) «Новартис Фарма АГ», Швейцария (держатель РУ)
Серия	партия TLTA01202	серия S0778, партия 7648
Срок годности	до 01.2016 г.	до 12.2015 г.

Таблица А.3 – Характеристики сравниваемых лекарственных форм рисперидона

	Исследуемый препарат (Т)	Препарат сравнения (R)
Название	Рисперидон	Рисполепт®
Дозировка	2 мг	2 мг
Лек. форма	таблетки, покрытые пленочной оболочкой	таблетки, покрытые пленочной оболочкой
Состав (одна таблетка содержит)	<p>Рисперидон 2,0 мг</p> <p><i>Вспомогательные вещества:</i> лактозы моногидрат (сахар молочный) 155,0 мг, целлюлоза микрокристаллическая 30,0мг, повидон (поливинилпирролидон) 7,0мг, магния стеарат 2,0мг, карбоксиметилкрахмал натрия 4,0мг. Масса таблетки без оболочки: 200,0 мг.</p> <p><i>Вспомогательные вещества (оболочка):</i> Опадрай II 85F48105 White (6,0мг), в т.ч. поливиниловый спирт 2,814 мг, макрогол 3350 1, 416 мг, тальк 1,044 мг, титана диоксид 0,726 мг. Масса таблетки с оболочкой 206,0мг.</p>	<p>Рисперидон 2,0 мг</p> <p><i>Вспомогательные вещества:</i> лактозы моногидрат 130 мг, кукурузный крахмал 44 мг, гипромеллоза 2910 15 мПа · с - 2мг натрия лаурилсульфат 0,4мг, микрокристаллическая целлюлоза 20 мг, магния стеарат 1,0 мг, кремния диоксид коллоидный 0,6 мг.</p> <p><i>Оболочка:</i> гипромеллоза 2910 15 мПа · с 5,2 мг, пропиленгликоль 1 мг, тальк 1,2 мг, титана диоксид 2 мг, краситель солнечный закат желтый (E110) 0,05 мг.</p>
Производитель	ООО «Озон», Россия	Янссен-Силаг С.п.А., Италия
Серия	010111	HJ813
Срок годности	02.2014г	11.2015г

Приложение В. Пример файла данных для выполнения ПФК-моделирования

Таблица В.1 – Пример файла данных для расчета параметров популяционной ФК в программе Monolix.

Субъект №	Время ч	Конц-ция нг/мл	Доза мг	Вес кг	Возраст лет	Креатинин мкмоль/л
1	1	5	2	70	28	53
1	2	9.2	.	70	28	53
1	3	102	.	70	28	53
1	4	15.8	.	70	28	53
1	6	14	.	70	28	53
2	1	1.2	2	67.5	45	77
2	2	4.8	.	67.5	45	77
...
24	72	0.8	2	64	38	62

Приложение С. Листинг расчета AUCt и Cmax на примере 2-камерной модели с линейной кинетикой (на языке mlxtran в программе Monolix)

```
[LONGITUDINAL]
input = {ka, Cl, V1, Q, V2}
ПК:
compartment(cmt=1, amount=Ac, volume=V1, concentration=Cc)
compartment(cmt=2, amount=Ap, volume=V2)
elimination(cmt=1, Cl)
oral(cmt=1, ka)
depot(target=Ad); для расчета Cmax
depot(ka, target=Ac); для расчета AUCt
```

EQUATION:

```
V = V1
k = Cl/V1
k12 = Q/V1
k21 = Q/V2
```

; Расчет AUCt (на примере AUC168)

```
odeType=stiff
Ac_0 = 0
ddt_Ac = -Cl/V1*Ac
Cc = Ac/V1
```

```
AUC168_0 = 0
if (t < 168); время мониторинга концентрации анастрозола
dAUC168 = 1/V1*Ac
else
dAUC168 = 0
end
ddt_AUC168 = dAUC168
```

; Расчет Cmax

```
t_0 = 0
Ad_0 = 0
Ac_0 = 0

ddt_Ad = -ka*Ad
ddt_Ac = ka*Ad + k21*Ap - k*Ac - k12*Ac
Cc = Ac/V1
```

```
slope = ka*Ad - k*Ac - k12*Ac + k21*Ap
Cmax_0 = 0
if slope > 0 && Cc > Cmax
x = slope/V1
else
x = 0
end
ddt_Cmax = x
```

Приложение D. Демонстрационные хроматограммы

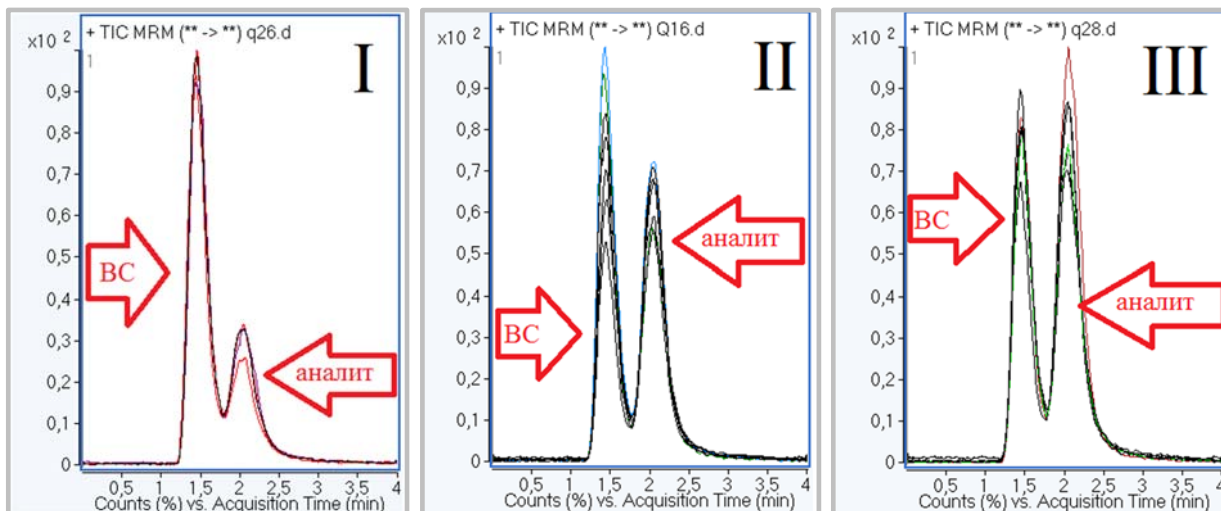


Рисунок D.1 - Хроматограммы образцов контроля качества, содержащих анастрозол: I - 2,5 нг/мл (n=3, междневные); II - 6 нг/мл (n=6, внутридневные); III - 16 нг/мл (n=6, внутридневные)

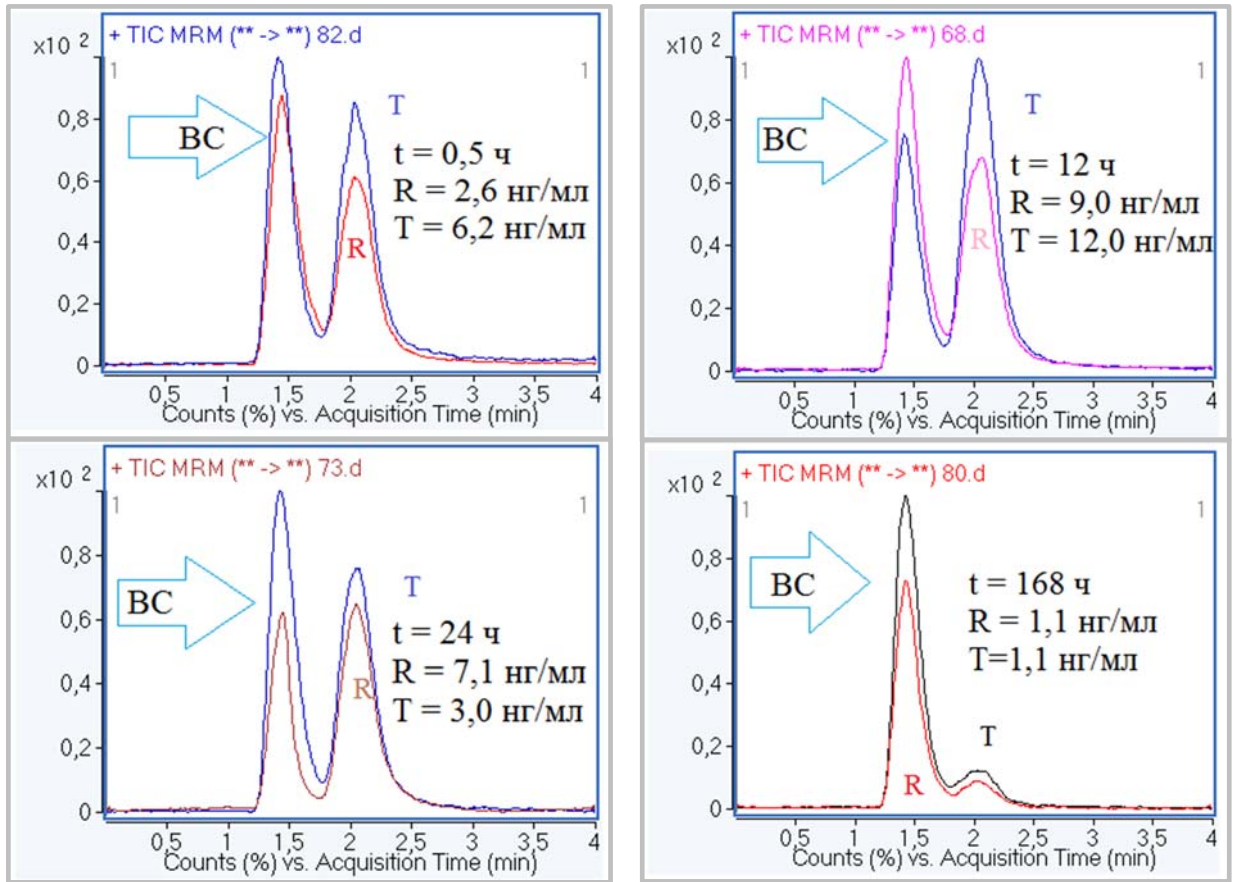


Рисунок D.2 - Хроматограммы плазмы крови, отобранной у добровольца № 4 после приема Анастрозола (Т) или Аримидекса® (R)

Приложение Е. Индивидуальные параметры биоэквивалентности

РН	Анастрозол		Летрозол		Рисперидон		9-ОН-рисперидон	
	f' (AUCt)	f' (Cmax)	f' (AUCt)	f' (Cmax)	f' (AUCt)	f' (Cmax)	f' (AUCt)	f' (Cmax)
1	0,70	0,90	1,01	1,95	1,21	1,04	1,18	0,95
2	1,00	0,80	0,87	1,25	1,02	0,91	0,95	0,85
3	1,37	0,88	0,81	1,35	0,94	1,14	1,01	1,13
4	0,58	0,80	1,14	1,01	1,44	1,22	1,01	1,17
5	1,35	1,01	0,67	1,03	1,38	0,80	1,13	0,85
6	1,03	0,81	2,12	2,83	1,28	1,23	1,15	1,17
7	1,19	0,74	0,85	0,95	0,90	1,16	0,98	1,05
8	1,30	1,14	1,54	1,32	0,97	0,76	1,09	0,89
9	1,23	1,32	0,50	0,68	1,06	0,87	1,04	0,90
10	0,89	0,86	0,44	0,80	0,51	0,35	0,62	0,69
11	1,22	1,04	1,14	1,64	0,89	1,10	0,92	0,98
12	1,04	0,85	1,36	1,14	0,46	0,88	0,80	1,19
13	1,09	0,95	1,90	0,99	1,00	0,78	0,94	0,83
14	1,06	1,45	0,41	1,28	0,83	0,79	1,04	0,95
15	1,34	1,02	0,97	1,18	0,57	1,20	0,65	0,75
16	1,32	1,18	0,81	1,47	1,03	1,08	0,86	0,92
17	0,99	1,06	1,03	1,49	0,85	0,82	1,15	0,92
18	0,76	0,82	1,42	1,02	1,18	1,28	0,91	1,12
19	-	-	1,15	0,93	-	-	-	-
20	-	-	0,75	0,90	-	-	-	-
21	-	-	0,83	0,94	-	-	-	-
22	-	-	1,53	0,88	-	-	-	-
23	-	-	0,94	1,16	-	-	-	-
24	-	-	1,04	0,92	-	-	-	-
25	-	-	0,94	0,93	-	-	-	-
26	-	-	1,17	1,01	-	-	-	-
27	-	-	0,99	1,09	-	-	-	-
28	-	-	1,15	1,18	-	-	-	-
29	-	-	1,47	1,23	-	-	-	-
30	-	-	1,06	1,13	-	-	-	-
31	-	-	1,11	1,15	-	-	-	-
32	-	-	0,96	0,83	-	-	-	-

Примечание: РН – номер рандомизации

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность:

- Научному руководителю – доктору медицинских наук, Мирошниченко Игорю Ивановичу;
- Коллективам лабораторий фармакокинетики и психофармакологии ФГБНУ «НЦПЗ» и лично кандидату биологических наук Баймеевой Наталье Викторовне и кандидату медицинских наук Потанину Сергею Сергеевичу за плодотворное сотрудничество и весомое содействие в получении и обработке данных от пациентов при проведении ТЛМ;
- Коллективу клинических центров на базе ГБУЗ № 13 и ГБУЗ № 24 г. Москвы за помощь в проведении исследований биоэквивалентности и прекрасное время совместной работы;
- Коллективам Психиатрической больницы № 14 Департамента Здравоохранения г. Москвы, а также клинических отделений № 4 и 5 ФГБНУ «НЦПЗ» за кропотливый труд по работе с пациентами и сбору данных;
- Академику РАН, доктору медицинских наук, профессору, Кукесу Владимиру Григорьевичу за бесценную информационную поддержку и формирование фармакокинетического мышления в целом;
- Доктору медицинских наук, профессору, Родману Григорию Владимировичу, наставнику и учителю на поприще практической медицины;
- Своей семье, родным и близким, без терпения и поддержки которых данная работа просто не состоялась бы!