



Оригинальная статья / Research article

Исследование фармакокинетики и биоэквивалентности двухкомпонентного препарата «Эзетимиб + розувастатин» (АО «Санофи-авентис групп», Россия): результаты и опыт применения ферментативного гидролиза при анализе образцов

А. Л. Хохлов¹, Д. Ю. Гребенкин²✉, Е. К. Фаева², В. И. Казей², А. А. Хохлов⁵,
А. Е. Мирошников³, О. В. Лебедева⁴

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России), 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

² ООО «Экзактэ Лабс», 117246, Россия, г. Москва, Научный пр-д, д. 20, стр. 2

³ ООО «КлинФармИнвест», 150031, Россия, г. Ярославль, ул. Угличская, д. 68

⁴ Представительство АО «Санофи-авентис групп» (Франция), 125009, Россия, г. Москва, ул. Тверская, д. 22

⁵ ООО «АХ СТ», 150040, Россия, г. Ярославль, пл. Труда, зд. 1

✉ Контактное лицо: Гребенкин Дмитрий Юрьевич. E-mail: dmitrii.grebenkin@exactelabs.com

ORCID: А. Л. Хохлов – <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>; Д. Ю. Гребенкин – <https://orcid.org/0000-0001-9304-8000>; Е. К. Фаева – <https://orcid.org/0000-0002-8639-4316>;
В. И. Казей – <https://orcid.org/0000-0003-2032-6289>; А. А. Хохлов – <https://orcid.org/0000-0002-6684-4199>; А. Е. Мирошников – <https://orcid.org/0000-0001-6657-3950>;
О. В. Лебедева – <https://orcid.org/0000-0002-7983-685X>.

Статья поступила: 22.02.2022

Статья принята в печать: 07.02.2023

Статья опубликована: 24.02.2023

Резюме

Введение. В рамках регистрации комбинированного препарата «Эзетимиб + розувастатин» (АО «Санофи-авентис групп», Россия) было проведено исследование его биоэквивалентности по сравнению с совместно принимаемым монокомпонентным препаратом Эзетрол® (эзетимиб) и Крестор® (розувастатин) с участием 76 здоровых добровольцев. Для оценки фармакокинетики общего эзетимиба использовали ферментативный гидролиз, что послужило причиной для включения дополнительных контролируемых параметров в валидацию и анализ.

Цель. Целью настоящего исследования являлось изучение сравнительной фармакокинетики и подтверждение биоэквивалентности двухкомпонентного действующего препарата «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин, таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис групп», Россия) относительно совместно принимаемых монокомпонентных препаратов эзетимиба и розувастатина у здоровых добровольцев после однократного приема натощак с использованием в ходе анализа проб описанных дополнительных параметров контроля ферментативного гидролиза эзетимиб-глюкуронида.

Материалы и методы. Для подтверждения биоэквивалентности было проведено открытое, сравнительное, рандомизированное, перекрестное клиническое исследование с двумя этапами. В ходе исследования у добровольцев отбирались образцы плазмы крови, в которых при помощи валидированных ВЭЖХ-МС/МС методик определялись концентрации свободного эзетимиба (неконъюгированного), общего эзетимиба (эзетимиб + эзетимиб-глюкуронид) и розувастатина. На основании полученных данных был проведен фармакокинетический и статистический анализ, и рассчитаны доверительные интервалы (ДИ) для фармакокинетических параметров C_{max} и AUC_{0-72} .

Результаты и обсуждение. На основании полученных результатов сделано заключение, что фармакокинетические параметры сравниваемых препаратов характеризуются высоким сходством в отношении как эзетимиба (свободного), так и розувастатина. Данные о фармакокинетических параметрах общего эзетимиба являлись второстепенными и не требовались для заключения о биоэквивалентности препаратов. В ходе ВЭЖХ-МС/МС анализа клинических образцов дополнительные параметры контроля ферментативного гидролиза эзетимиб-глюкуронида позволяли обоснованно отвергать результаты недостоверных аналитических серий.

Заключение. Таким образом, согласно применяемым критериям, препараты признаны биоэквивалентными. Описанные дополнительные параметры контроля ферментативного гидролиза эзетимиб-глюкуронида продемонстрировали свою эффективность.

Ключевые слова: эзетимиб, розувастатин, фармакокинетика, биоэквивалентность

Конфликт интересов. Исследование спонсировалось АО «Санофи-авентис групп», О. В. Лебедева являлась сотрудником данной компании. Авторы Д. Ю. Гребенкин, Е. К. Фаева, В. И. Казей представляли компанию ООО «Экзактэ Лабс». А. А. Хохлов, А. Е. Мирошников представляли компанию ООО «КлинФармИнвест». Указанные организации выполняли данное контрактное исследование для АО «Санофи-авентис групп».

Вклад авторов. О. В. Лебедева координировала все этапы исследования биоэквивалентности. А. Л. Хохлов, А. А. Хохлов, А. Е. Мирошников руководили клиническим этапом исследования. Д. Ю. Гребенкин, Е. К. Фаева, В. И. Казей отвечали за аналитическую часть исследования, статистическую обработку и оформление рукописи.

Для цитирования: Хохлов А. Л., Гребенкин Д. Ю., Фаева Е. К., Казей В. И., Хохлов А. А., Мирошников А. Е., Лебедева О. В. Исследование фармакокинетики и биоэквивалентности двухкомпонентного препарата «Эзетимиб + розувастатин» (АО «Санофи-авентис групп», Россия): результаты и опыт применения ферментативного гидролиза при анализе образцов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(1):142–153. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-142-153>

Pharmacokinetic and Bioequivalence Study of the Two-component Drug Product "Ezetimibe + rosuvastatin" (JSC "Sanofi-aventis group", Russia): Results and Experience with the Use of Enzymatic Hydrolysis in the Analysis of Samples

Alexander L. Khokhlov¹, Dmitrii Yu. Grebenkin²✉, Ekaterina K. Faeva², Vasily I. Kazey², Alexander A. Khokhlov⁵, Alexey E. Miroshnikov³, Olga V. Lebedeva⁴

¹ Yaroslavl State Medical University, 5, Revolutsionnaya str., Yaroslavl, 150000, Russia

² LLC "Exacte Labs, Russia", 20/2, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

³ LLC "ClinPharmInvest", 68, Uglichskaya str., Yaroslavl, 150031, Russia

⁴ Representative office of Sanofi-aventis group JSC (France), 22, Tverskaya str., Moscow, 125009, Russia

⁵ LLC "AX CT", 1, Truda sq., Yaroslavl, 150040, Russia

✉ Corresponding author: Dmitrii Yu. Grebenkin. E-mail: dmitrii.grebenkin@exactelabs.com

ORCID: Alexander L. Khokhlov – <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>; Dmitrii Yu. Grebenkin – <https://orcid.org/0000-0001-9304-8000>;

Ekaterina K. Faeva – <https://orcid.org/0000-0002-8639-4316>; Vasily I. Kazey – <https://orcid.org/0000-0003-2032-6289>;

Alexander A. Khokhlov – <https://orcid.org/0000-0002-6684-4199>; Alexey E. Miroshnikov – <https://orcid.org/0000-0001-6657-3950>;

Olga V. Lebedeva – <https://orcid.org/0000-0002-7983-685X>.

Received: 22.02.2022

Revised: 07.02.2023

Published: 24.02.2023

Abstract

Introduction. As a part of the registration of the drug product a bioequivalence study of the fixed-dose combination "Ezetimibe + rosuvastatin" (JSC "Sanofi-aventis group", Russia) compared with coadministered Ezetrol® (ezetimibe) and Crestor® (rosuvastatin) was conducted with 76 healthy volunteers. Enzymatic hydrolysis was used to evaluate the pharmacokinetics of total ezetimibe. This was the reason for the inclusion of the additional monitored parameters in the validation and analysis.

Aim. The purpose of the bioequivalence trial was a comparative study of the pharmacokinetics and evidence of the bioequivalence of the fixed-dose combination "Ezetimibe + rosuvastatin" (ezetimibe + rosuvastatin, tablets, 10 + 40 mg, JSC "Sanofi-aventis group", Russia) compared with coadministered monocomponent drugs ezetimibe and rosuvastatin in fasting healthy volunteers after a single administration using the described additional parameters for controlling the enzymatic hydrolysis of ezetimibe-glucuronide during the analysis of samples.

Materials and methods. To prove bioequivalence, an open label, comparative, randomized, crossover two-period clinical trial was conducted. During the study, blood plasma samples were taken from volunteers, the concentrations of ezetimibe (unconjugated) and total ezetimibe (ezetimibe + ezetimibe-glucuronide) and rosuvastatin in plasma samples were determined by validated HPLC-MS/MS methods. Based on the received data pharmacokinetic and statistical analysis was performed and confidence intervals (CI) for the pharmacokinetic parameters C_{max} and AUC_{0-72} were calculated.

Results and discussion. It can be concluded that the studied formulations are bioequivalent in terms of pharmacokinetic parameters of ezetimibe (free) and rosuvastatin. Pharmacokinetic parameters of total ezetimibe were considered as secondary and were not required for the conclusion on bioequivalence. While HPLC-MS/MS analysis of incurred samples, additional control parameters for the enzymatic hydrolysis of ezetimibe-glucuronide made it possible to legitimately reject the results of inaccurate analytical batches.

Conclusion. Thus, according to the criteria used in the study, the drugs are proved to be bioequivalent. The described additional parameters for controlling the enzymatic hydrolysis of ezetimibe-glucuronide have been shown to be effective.

Keywords: ezetimibe, rosuvastatin, pharmacokinetics, bioequivalence

Conflict of interest. The study was sponsored by Sanofi and author Olga V. Lebedeva is employee of Sanofi. Authors Dmitrii Yu. Grebenkin, Ekaterina K. Faeva, Vasily I. Kazey represent LLC "ExacteLabs". Alexander A. Khokhlov, Alexey E. Miroshnikov represent LLC "ClinPharmInvest" which were contracted by Sanofi for the conduction of the current study.

Contribution of the authors. Olga V. Lebedeva coordinated all stages of the bioequivalence study. Alexander L. Khokhlov, Alexander A. Khokhlov, Alexey E. Miroshnikov were responsible for the clinical phase of the study. Dmitrii Yu. Grebenkin, Ekaterina K. Faeva, Vasily I. Kazey carried out the analytical part of the study, carried out the statistical part of the study, wrote the text of the manuscript.

For citation: Khokhlov A. L., Grebenkin D. Yu., Faeva E. K., Kazey V. I., Khokhlov A. A., Miroshnikov A. E., Lebedeva O. V. Pharmacokinetic and Bioequivalence Study of the two-component drug product "Ezetimibe + rosuvastatin" (JSC "Sanofi-aventis group", Russia): results and experience with the use of enzymatic hydrolysis in the analysis of samples. *Drug development & registration*. 2023;12(1):142–153. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-142-153>

ВВЕДЕНИЕ

Терапия по снижению уровня ЛПНП и общего холестерина является неотъемлемой частью эффективной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1–3]. Одними из популярных представителей гиполипидемических препаратов являются розувастатин и эзетимиб.

Розувастатин относится к классу статинов – ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы, фермента, участвующего в синтезе эндогенного холестерина. Препараты этой группы существенно снижают риск заболеваемости и смертности от ССЗ [2–4], а розувастатин среди них характеризуется лучшей переносимостью по данным мета-анализа 2019 года [4].

Эзетимиб является препаратом из группы ингибиторов кишечной абсорбции холестерина, который эффективно снижает уровень холестерина в крови и хорошо переносится пациентами [5]. В отличие от статинов эзетимиб не повышает риск возникновения сахарного диабета, и потому более предпочтителен с точки зрения контроля гипергликемии [6].

Как было показано в клинических исследованиях, эффективность комбинации розувастатина и эзетимиба при снижении липопротеинов низкой плотности выше, чем терапевтическая эффективность монотерапии розувастатином (в том числе, с удвоением дозировки) или комбинации симвастатина и эзетимиба [7]. Важным же преимуществом фиксированных комбинаций как таковых перед совместно применяемыми монопрепаратами является простота приема (одна таблетка вместо двух), особенно в случаях, когда пациент вынужден самостоятельно принимать большое количество различных препаратов, а также сравнительно более низкая стоимость, чем стоимость двух отдельно произведенных препаратов, что в целом увеличивает приверженность терапии пациента [8, 9].

Эквивалентность воспроизведенного препарата оригинальному обычно доказывают в рамках исследования биоэквивалентности, в которых демонстрируется, что оба лекарственных средства имеют одинаковую скорость и степень абсорбции. Такие исследования призваны подтвердить, что воспроизведенные лекарственные средства терапевтически эквивалентны референтным лекарственным средствам, то есть обладают той же эффективностью и безопасностью, что и референтный препарат [10].

В представленном исследовании для подтверждения биоэквивалентности изучалась фармакокинетика для комбинированного препарата эзетимиба и розувастатина по сравнению с двумя совместно принимаемыми препаратами эзетимиба и розувастатина. Изучение биоэквивалентности комбинированного препарата относительно совместно принимаемых монокомпонентных – это распространенный подход в мировой практике [8, 9].

Другой особенностью данного исследования является решение Заявителя о представлении данных о фармакокинетических параметрах не только свободного неконъюгированного эзетимиба, но и общего эзетимиба (суммы свободного эзетимиба и эзетимиб-глюкуронида). Такой подход для эзетимиба предписывается FDA¹. В то же время Руководство по экспертизе лекарственных средств [11], Правила ЕАЭС²,

¹ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.

а также Руководство ЕМА³ не требуют использовать фармакокинетические параметры метаболитов для оценки биоэквивалентности, а предписывают учитывать только исходное вещество. Таким образом, фармакокинетические параметры общего эзетимиба были изучены, но представлены как второстепенные данные и не учитывались в заключении о биоэквивалентности препаратов. Заключение о биоэквивалентности по эзетимибу было сделано на основании фармакокинетических профилей свободного эзетимиба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Этические принципы

Данное исследование проводилось в соответствии с протоколом, разработанным согласно принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, стандартами по Надлежащей клинической практике (ICH GCP), а также в соответствии с другими законодательствами. Участие в исследовании являлось добровольным. Доброволец подписывал информированное согласие и имел право отказаться от участия в проводимом исследовании на любой его стадии. Этическую экспертизу клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов проводил Совет по этике при Министерстве здравоохранения и Локальный этический комитет (ЛЭК). Разрешение на проведение клинического исследования было выдано Министерством здравоохранения РФ № 589 от 19 августа 2016 года. Версия протокола 3.0 была одобрена Министерством здравоохранения 10 октября 2017 г. Разрешение продления срока проведения клинического исследования до 01.02.2020 № 4054633-20-1/ДР от 26.10.2017 г. Решение об этическом одобрении проведения данного клинического исследования было принято на заседании Совета по этике при Министерстве здравоохранения № 122 от 05 апреля 2016 года. Версия протокола 3.0 была одобрена на заседании Совета по этике № 155, 19 сентября 2017 г. Кроме того, до начала исследования было получено разрешение на проведение исследования от Локального этического комитета Исследовательского центра – Этического комитета государственного автономного учреждения здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 2» (протокол заседания № 4 от 13 февраля 2018 г и № 5 от 20 февраля 2018 г.). Все одобренные документы были получены до выполнения добровольцами каких-либо процедур исследования, включая тесты скрининга для оценки пригодности.

³ European Medicines Agency. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf. Accessed: 23.12.2021.

Дизайн исследования

Данное исследование биоэквивалентности являлось открытым, сравнительным, рандомизированным, перекрестным клиническим исследованием с двумя периодами по оценке биоэквивалентности двухкомпонентного препарата «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис групп», Россия) относительно совместно принимаемых монокомпонентных препаратов Эзетрол® (эзетимиб, таблетки, 10 мг, Шеринг-Плау Лабо Н.В., Бельгия) и Крестор® (розувастатин, таблетки 40 мг, Астра Зенека ЮК Лимитед, Великобритания) при однократном пероральном приеме внутрь здоровыми добровольцами одной дозы каждого из них. Популяция для оценки фармакокинетики состояла из 75 человек. Все добровольцы были разделены на 2 группы согласно схеме рандомизации: TR и RT. Количество добровольцев было одинаковым также для каждой подгруппы (1–38 и 39–76). Период «отмывания» составил 14 суток.

Исследуемые препараты

В качестве препаратов сравнения (референтных – R) использовались:

- Эзетрол® (эзетимиб, таблетки 10 мг, Шеринг-Плау Лабо Н. В., Бельгия, серия 363136).
- Рестор® (розувастатин, таблетки 40 мг, Астра Зенека ЮК Лимитед, Великобритания, серия MJ461).

Данные препараты принимались одновременно.

В качестве исследуемого препарата (тест – T) использовался:

- «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис групп», Россия, серия P02112016).

Введение препарата и отбор образцов

Исследуемый препарат применялся внутрь, в дозе 10 + 40 мг (1 таблетка), препараты сравнения принимались в аналогичной дозировке, каждый препарат в составе отдельной таблетки. Доброволец запивал таблетки 200 мл воды.

Образцы крови отбирались с помощью катетера, установленного в вену предплечья в течение 16 часов после приема препарата. Отбор образцов крови осуществлялся в вакуумные пробирки (вакутейнеры) объемом 6 мл, содержащие K2ЭДТА в качестве антикоагулянта, пробирки перемешивались, центрифугировались при охлаждении. Все образцы плазмы крови помещали в морозильную камеру с контролируемой температурой ≤ -70 °C.

Заборы крови осуществлялись исходно до приема препарата (0) и через 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 8,0, 10,0, 12,0, 16,0, 24,0, 36,0, 48,0, 72,0 часов после приема препарата.

Анализ концентрации эзетимиба (как свободного, так и общего) был выполнен в 21 образцах плазмы крови, взятых у всех добровольцев в течение двух

периодов исследования в следующих временных точках: 0 (до приема препарата), через 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 8,0, 10,0, 12,0, 16,0, 24,0, 48,0 и 72,0 ч.

Анализ концентрации розувастатина был произведен в 19 образцах плазмы крови, взятых во временные точки: 0 (до приема препарата), через 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 8,0, 12,0, 16,0, 24,0, 36,0, 48,0 и 72,0 ч в течение двух периодов исследования.

Описание анализа концентрации действующих веществ в образцах

Для определения концентраций свободного эзетимиба и розувастатина в образцах, полученных в клинической части исследования, была использована ВЭЖХ-МС/МС методика, валидированная в соответствии с руководствами^{1,2}. В качестве внутреннего стандарта использовались изотопномеченный (дейтерированный) эзетимиб и изотопномеченный (дейтерированный) розувастатин. Аналитическая серия включала 1 холостой образец, 1 холостой образец с добавлением внутреннего стандарта, 9 калибровочных образцов, 6 образцов контроля качества, образцы от одного добровольца из двух периодов. Аналитическая методика предполагала использование 100 мкл образца для каждого анализа. Аналитический диапазон методики составил 0,04–10,0 нг/мл эзетимиба и 0,20–150 нг/мл розувастатина в плазме, для расчета концентраций использовалась взвешенная линейная регрессия. Подготовка проб осуществлялась методом депротенинизации (осаждения белков). Полученные пробы были проанализированы на ВЭЖХ-МС/МС-системе ACQUITY I-Class (Waters Corporation, США) с масс-спектрометром с тройным квадруполом и ионизацией электроспреем QTrap 5500 (AB Sciex Pte. Ltd., США).

Для определения концентраций общего эзетимиба в образцах, полученных в клинической части исследования, также была использована отдельная ВЭЖХ-МС/МС методика, валидированная в соответствии с руководствами^{3,4}. В качестве внутреннего стандарта использовался изотопномеченный (дейтерированный) эзетимиб. Аналитическая серия включала

¹ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.

³ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

⁴ Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.

1 холостой образец, 1 холостой образец с добавлением внутреннего стандарта, 9 калибровочных образцов свободного эзетимиба, 6 образцов контроля качества свободного эзетимиба и 6 образцов контроля качества эзетимиб-глюкуронида, образцы от одного добровольца из двух периодов. Аналитическая методика предполагала использование 100 мкл образца для каждого анализа. Аналитический диапазон методики составил 1,00–200 нг/мл общего эзетимиба в плазме, для расчета концентраций использовалась взвешенная линейная регрессия. Метод основывался на проведении ферментативного гидролиза эзетимиб-глюкуронида в плазме крови человека с помощью β-глюкуронидазы с целью перевода в свободный эзетимиб и последующим извлечением общего эзетимиба (свободный эзетимиб + эзетимиб после ферментативного гидролиза эзетимиб-глюкуронида) раствором этилацетата и метилтретбутилового эфира (1:1), упариванием в токе азота и растворением. Полученные пробы были проанализированы на ВЭЖХ-МС/МС-системе ACQUITY I-Class (Waters Corporation, США) с масс-спектрометром с тройным квадруполем и ионизацией электроспреем Triple Quad™ 4500 (AB Sciex Pte. Ltd., США).

Всего в ходе анализа всех трех аналитов в плазме крови было проанализировано 3167 образцов.

Особенности анализа концентраций общего эзетимиба

Для измерения концентрации полного эзетимиба в пробе применялся ферментативный гидролиз, в результате которого эзетимиб-глюкуронид полностью преобразовывался в эзетимиб, после чего суммарная концентрация полученного таким образом эзетимиба и изначального свободного эзетимиба в пробе оценивалась при помощи ВЭЖХ-МС/МС методики. Так как измерение концентрации только свободного эзетимиба в пробе, в которой произошел гидролиз, невозможно, была разработана отдельная ВЭЖХ-МС/МС методика с пробоподготовкой без гидролиза для анализа свободного эзетимиба. Кроме того, данная методика была более чувствительной по причине значительно более низкой ожидаемой концентрации свободного эзетимиба по сравнению с общим в плазме крови (НПКО методики на свободный эзетимиб составил 0,04 нг/мл, методики на общий эзетимиб – 1 нг/мл).

Альтернативный подход к оценке концентрации общего эзетимиба в плазме крови – в виде анализа непосредственно эзетимиб-глюкуронида при помощи ВЭЖХ-МС/МС – был отвергнут на ранних стадиях разработки методик. Эзетимиб-глюкуронид по причине своей гидрофильности обладал неоптимальными хроматографическими характеристиками на доступных колонках для обращенно-фазовой хроматографии: пик глюкуронида был близок к мертвому времени. В то же время сам эзетимиб, напротив, характеризуется хорошим удерживанием на таких хроматографических колонках, что делает его совмест-

ный с глюкуронидом анализ затруднительным. Кроме того, предположительно, по причине недостаточной стабильности самой молекулы эзетимиб-глюкуронида в ВЭЖХ-МС/МС системе, его аналитический отклик значительно интерферировал с аналитическим откликом свободного эзетимиба как по времени удерживания на хроматограмме, так и по MRM-переходам. Описанные причины не только делали невозможным анализ эзетимиба и эзетимиб-глюкуронида при помощи единой ВЭЖХ-МС/МС методики, но и послужили причиной для отказа от исследования собственно эзетимиб-глюкуронида как отдельного аналита. Таким образом, концентрацию общего и свободного эзетимиба (совместно с розувастатином) в пробах изучали при помощи отдельных ВЭЖХ-МС/МС методик с ферментативным гидролизом и без него соответственно.

Включение в процесс подготовки проб ферментативного гидролиза является источником дополнительных рисков, связанных с поведением фермента, для которых обыкновенные меры контроля качества аналитических серий (образцы контроля качества конечного аналита на низком, среднем и высоком уровнях концентраций) и валидационных серий недостаточны: неполнота и/или нелинейность протекания гидролиза в результате нестабильности фермента или неточностей выполнения методики подготовки проб. Биоаналитической лабораторией было принято решение, что для отслеживания такого рода отклонений необходимо использование дополнительных образцов контроля качества, приготовленных из эзетимиб-глюкуронида.

Методология валидации и применения ВЭЖХ-МС/МС методик, включающих ферментативный гидролиз, не описана в руководствах^{1,2}: неизвестны принципы выбора концентраций субстрата в образцах контроля качества, отсутствует перечень экспериментов, в которых такие образцы должны быть изучены. Подобные детали также отсутствуют в научных публикациях. Таким образом, описанные ниже подходы предложены биоаналитической лабораторией, выполнявшей данное исследование. Ниже приводится список валидационных параметров и описывается, какие дополнительные контрольные образцы были дополнительно включены для их изучения:

✓ **Правильность и прецизионность.** Все валидационные серии включали дополнительные образцы с эзетимиб-глюкуронидом на уровнях НПКО, низком (НKK), среднем (СКК) и высоком (ВKK) в пересчете на эзетимиб; гидролиз всех образцов оценивался количественно. Дополнительно подтверждали полноту гидролиза эзетимиб-глюкуронида на уровне ВПКО.

¹ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.

- ✓ **Селективность.** Образцы с эзетимиб-глюкуронидом на уровне НПКО в пересчете на эзетимиб. Данный подход позволяет изучить полноту протекания ферментативного гидролиза в индивидуальных источниках плазмы крови, а также липемической и гемолизированной плазмы на уровне НПКО.
- ✓ **Степень извлечения и эффект матрицы.** Дополнительные образцы НКК и ВКК с эзетимиб-глюкуронидом в пересчете на эзетимиб.
- ✓ **Стабильность.** Во всех валидационных экспериментах по изучению стабильности (краткосрочная стабильность в плазме крови на рабочем столе, стабильность в плазме крови при трех циклах заморозки-разморозки, долгосрочная стабильность в плазме крови при температуре $-65\text{ }^\circ\text{C}$, стабильность в рабочих растворах, пост-препаративная стабильность) готовили дополнительные образцы с эзетимиб-глюкуронидом на уровнях НКК и ВКК в пересчете на эзетимиб, в которых после завершения соответствующих испытаний анализировали стабильность эзетимиб-глюкуронида.

Кроме того, для оценки полноты ферментативного гидролиза в ходе ВЭЖХ-МС/МС анализа общего эзетимиба в клинических образцах каждую аналитическую серию дополняли полным набором образцов контроля качества эзетимиб-глюкуронида на уровнях НКК, СКК и ВКК в пересчете на эзетимиб. Такое решение продиктовано тем, что при анализе реальных проб общего эзетимиба невозможно отличить неполный гидролиз от полного без специальных контрольных образцов для количественной оценки гидролиза, так как конечным аналитом ВЭЖХ-МС/МС методики в любом случае является молекула эзетимиба.

Кроме того, введение контрольных образцов эзетимиб-глюкуронида на всех уровнях КК, а не только одном, по замыслу исследователей должно позволять отслеживать посторонние эффекты, связанные с различной скоростью протекания ферментативной реакции в присутствии различных концентраций субстрата (описывается уравнением Михаэлиса – Ментен). Таким образом, описанный подход позволил контролировать полноту протекания гидролиза на НКК, СКК и ВКК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Участники исследования и безопасность

По результатам исследования спектр НЯ у исследуемых препаратов по количественным и качественным признакам был схож. Не наблюдалось клинически значимого влияния препаратов Эзетимиб + Розувастатин на данные физикального обследования, на лабораторные параметры безопасности, и результаты ЭКГ.

Контроль качества ферментативного гидролиза в анализе реальных образцов плазмы крови

В ходе одной из аналитических серий, в которой изучалась концентрация в образцах общего эзетимиба, лаборантом была допущена ошибка приготовления раствора фермента β -глюкуронидазы (взят неверный буферный раствор для разведения), в результате чего активность фермента оказалась сниженной, и гидролиз эзетимиб-глюкуронида произошел не полностью. Данную ошибку оказалось возможным выявить на стадии анализа благодаря контрольным образцам, содержащим эзетимиб-глюкуронид. Пример хроматограмм с неполным ферментативным гидролизом эзетимиб-глюкуронида в контрольных образцах представлен на рисунке 1. На хроматограмме А на времени удерживания 1,26 мин виден пик эзетимиба в образце НКК эзетимиба. При успешном проведении ферментативного гидролиза хроматограмма В, принадлежащая контрольному образцу НКК эзетимиба глюкуронида, должна быть подобна хроматограмме А, однако на ней хроматографический пик на том же времени удерживания отсутствует. На хроматограмме С, принадлежащей контрольному образцу ВКК эзетимиб-глюкуронида, пик эзетимиба присутствует, однако аналит в образце определяется на уровне около 1 % (менее $100 \pm 15\%$ от номинального значения), как и в других образцах КК с эзетимиб-глюкуронидом, что предоставляет надежные формальные основания для повторного анализа образцов из данной аналитической серии^{1,2}. На хроматограмме С также заметны косвенные признаки неполного гидролиза: пики с временами удерживания 0,98 мин и 1,08 мин, однако они не заметны на низких концентрациях (пример: хроматограмма В), близки к мертвому времени, и использовать их в качестве надежного формального основания для повторного анализа образцов невозможно. При этом образцы КК эзетимиба имеют правильный вид, и аналит в них определяется в пределах $100 \pm 15\%$ от номинального значения.

Таким образом, было показано, что только использование дополнительного набора образцов КК эзетимиб-глюкуронида позволяет зафиксировать неполный гидролиз проб в аналитической серии.

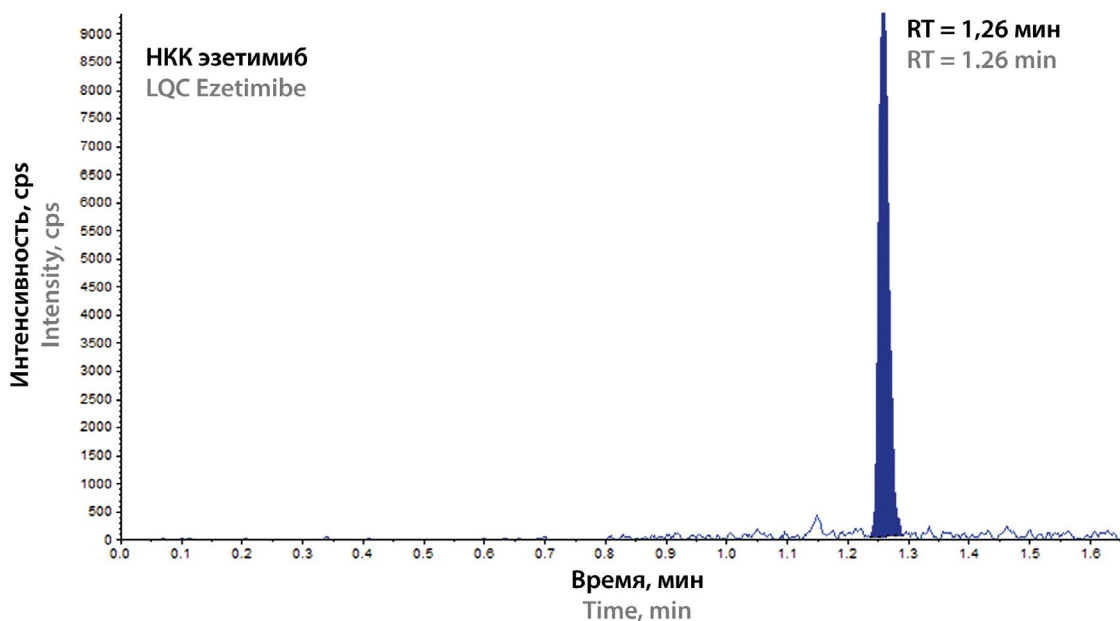
Фармакокинетические параметры и оценка биоэквивалентности

Фармакокинетические параметры

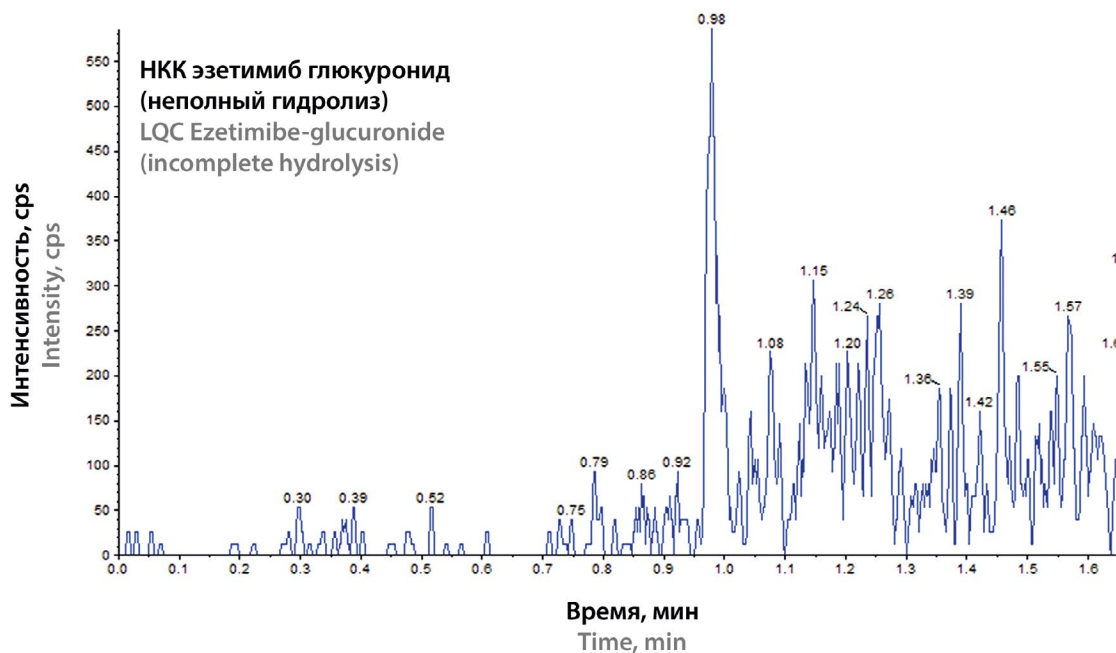
Фармакокинетические параметры свободного и общего эзетимиба приведены в таблицах 1–3, усредненные фармакокинетические кривые представлены на рисунках 2 и 3.

¹ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.



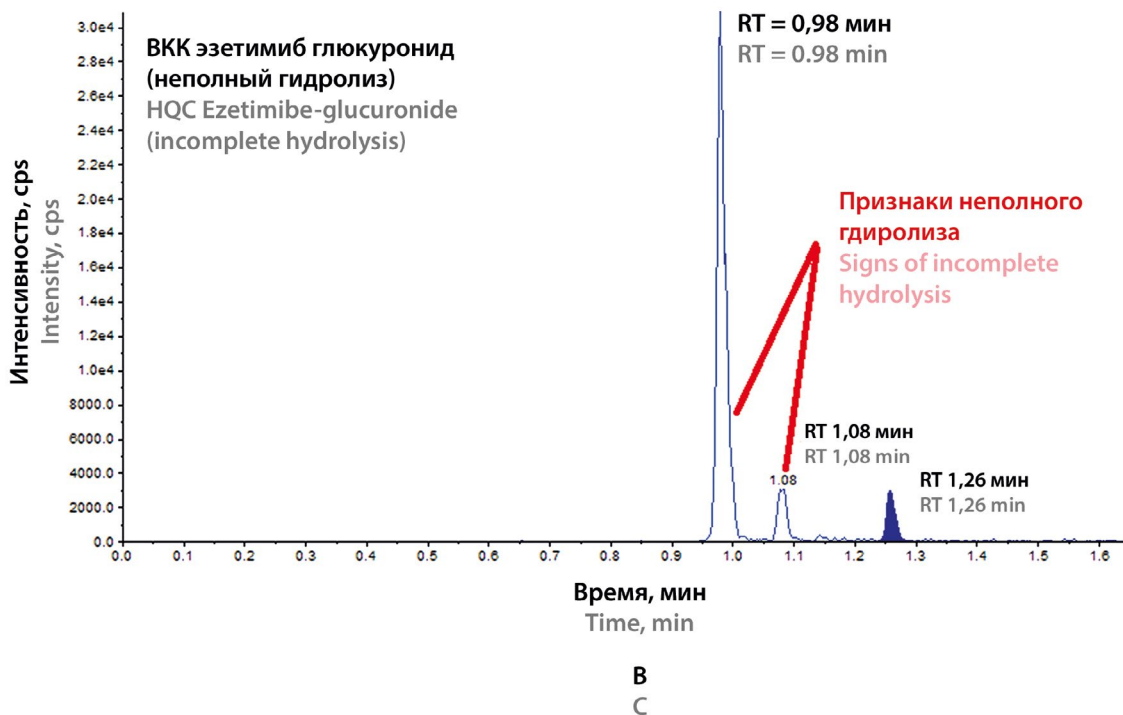
А
А



Б
Б

Рисунок 1. Пример хроматограмм с неполным ферментативным гидролизом эзетимиб-глюкуронида в контрольных образцах (описание в тексте)

Figure 1. An example of chromatograms with incomplete enzymatic hydrolysis of ezetimibe glucuronide in control samples (description is in the text)



Продолжение рисунка 1
Continuation of figure 1

Таблица 1. Сводные данные средних арифметических значений фармакокинетических параметров свободного эзетимиба (N – число измерений; CV – коэффициент вариации)

Table 1. Summary average pharmacokinetic parameters of free ezetimibe (N – number of observations; CV – coefficient of variation)

Параметр Parameter	N	Исследуемый препарат (Т) Test formulation (T)		Референтный препарат (R) Reference formulation (R)		Отношение T/R (%) T/R ratio (%)
		Среднее Average	CV (%)	Среднее Average	CV (%)	
C_{max} нг/мл C_{max} ng/ml	75	3,44	53,92	3,15	51,16	109,3
AUC_{0-72} нг·ч/мл AUC_{0-72} ng·h/ml	75	86,90	46,22	84,63	44,77	102,7
λ_z ч ⁻¹ λ_z h ⁻¹	75	0,02	70,46	0,02	59,51	101,2
$t_{1/2}$ ч $t_{1/2}$ h	75	62,99	103,1	64,43	133,8	97,76

Таблица 2. Сводные данные средних арифметических значений фармакокинетических параметров общего эзетимиба (N – число измерений; CV – коэффициент вариации)

Table 2. Summary average pharmacokinetic parameters of total ezetimibe (N – number of observations; CV – coefficient of variation)

Параметр Parameter	N	Исследуемый препарат (Т) Test formulation (T)		Референтный препарат (R) Reference formulation (R)		Отношение T/R (%) T/R ratio (%)
		Среднее Average	CV, (%)	Среднее Average	CV (%)	
C_{max} нг/мл C_{max} ng/ml	75	72,3	42,63	67,9	43,41	106,5
AUC_{0-72} нг·ч/мл AUC_{0-72} ng·h/ml	75	755,16	36,32	719,40	39,12	105,0

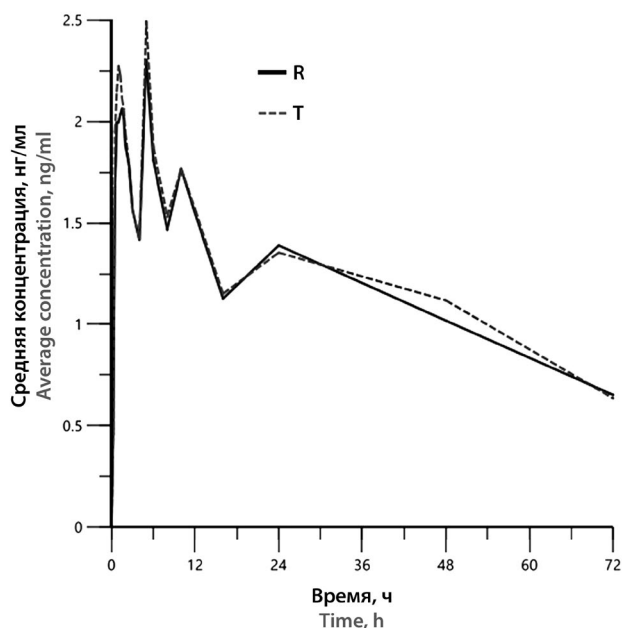


Рисунок 2. Усредненные (среднее по препарату) фармакокинетические профили свободного эзетимиба в плазме крови добровольцев после однократного приема комбинированного исследуемого препарата «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин, таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис груп», Россия) в сравнении с приемом монокомпонентного референтного препарата Эзетрол® (эзетимиб, таблетки, 10 мг, Шеринг-Плау Лабо Н. В., Бельгия).

T – исследуемый (тестируемый) препарат; R – препарат сравнения (референтный)

Figure 2. Mean pharmacokinetic profiles of free ezetimibe in the blood plasma of volunteers after a single dose of the test drug fixed-dose combination "Ezetimibe + rosuvastatin" (ezetimibe + rosuvastatin, tablets, 10 + 40 mg, JSC "Sanofi-aventis group", Russia) and comparison drug Ezetrol® (ezetimibe, tablets, 10 mg, Schering-Plough Labo, N. V., Belgium).

T – test drug; R – comparison drug

Таблица 3. Сводные данные значений параметра T_{max} свободного и общего эзетимиба (N – число измерений)

Table 3. Summary T_{max} of free and total ezetimibe (N – number of observations)

Вещество Compound	T/R	N	Медиана, ч Mediana, h	Максимум, ч Maximum, h	Минимум, ч Minimum, h
Свободный эзетимиб Free ezetimibe	T	75	5,00	48,00	0,50
	R	75	5,00	24,00	0,50
Общий эзетимиб Total ezetimibe	T	75	0,75	5,00	0,50
	R	75	1,00	8,00	0,50

Фармакокинетические параметры для розувастатина приведены в таблицах 4, 5, усредненные фармакокинетические кривые представлены на рисунке 4.

Оценка биоэквивалентности

Биоэквивалентность исследуемого и референтного препаратов оценивали на основании 90%-го ДИ ln-преобразованных значений AUC_{0-72} и C_{max} свобод-

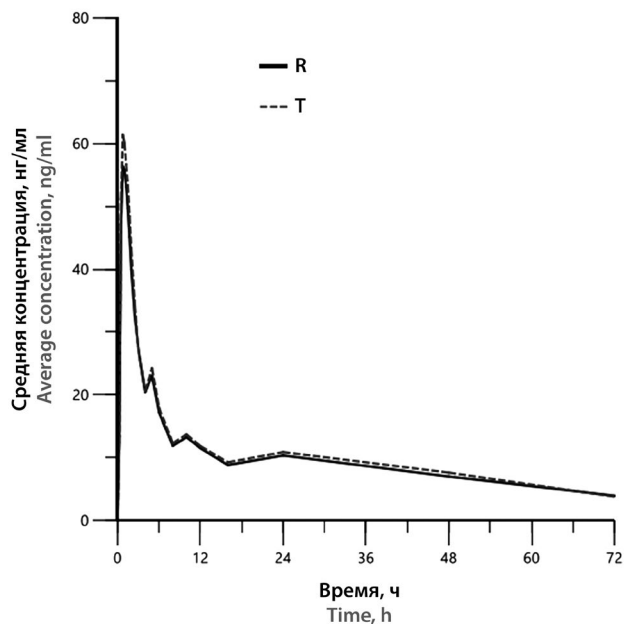


Рисунок 3. Усредненные (среднее по препарату) фармакокинетические профили общего эзетимиба в плазме крови добровольцев после однократного приема комбинированного исследуемого препарата «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин, таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис груп», Россия) в сравнении с приемом монокомпонентного референтного препарата Эзетрол® (эзетимиб, таблетки, 10 мг, Шеринг-Плау Лабо Н. В., Бельгия).

T – исследуемый (тестируемый) препарат; R – препарат сравнения (референтный)

Figure 3. Mean pharmacokinetic profiles of total ezetimibe in the blood plasma of volunteers after a single dose of the test drug fixed-dose combination "Ezetimibe + rosuvastatin" (ezetimibe + rosuvastatin, tablets, 10 + 40 mg, JSC "Sanofi-aventis group", Russia) and comparison drug Ezetrol® (ezetimibe, tablets, 10 mg, Schering-Plough Labo, N. V., Belgium).

T – test drug; R – comparison drug

ного эзетимиба и розувастатина как основных параметров. Согласно протоколу, препараты считались биоэквивалентными, если границы оцененного ДИ для AUC_{0-72} и C_{max} находились в пределах 80,00–125,00 %. Результаты оценки биоэквивалентности представлены в таблице 6, результаты ANOVA представлены в таблице 7.

В соответствии с указаниями руководств^{1,2,3} фармакокинетические параметры эзетимиб-глюкуронида не использовались непосредственно для заключения о биоэквивалентности лекарственных препара-

¹ Draft Guidance on Ezetimibe (FDA). Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Ezetimibe_tab_21445_RC10-08.pdf. Accessed: 09.01.2022.

² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. 2016. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107>. Ссылка активна на: 23.12.2021.

³ European Medicines Agency. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf. Accessed: 23.12.2021.

Таблица 4. Сводные данные средних арифметических значений фармакокинетических параметров розувастатина (N – число измерений; CV – коэффициент вариации)

Table 4. Summary average pharmacokinetic parameters of rosuvastatin (N – number of observations; CV – coefficient of variation)

Параметр Parameter	N	Исследуемый препарат (Т) Test formulation (T)		Референтный препарат (R) Reference formulation (R)		Отношение T/R, (%) T/R ratio, (%)
		Среднее Average	CV, (%)	Среднее Average	CV, (%)	
C_{max} , нг/мл C_{max} , ng/ml	75	30,02	49,28	32,05	55,48	93,67
AUC_{0-72} , нг·ч/мл AUC_{0-72} , ng·h/ml	75	236,2	43,03	240,2	43,51	98,35
λ_z , ч ⁻¹ λ_z , h ⁻¹	75	0,04	42,88	0,04	47,74	96,48
$t_{1/2}$, ч $t_{1/2}$, h	75	22,76	85,63	20,73	66,05	109,8

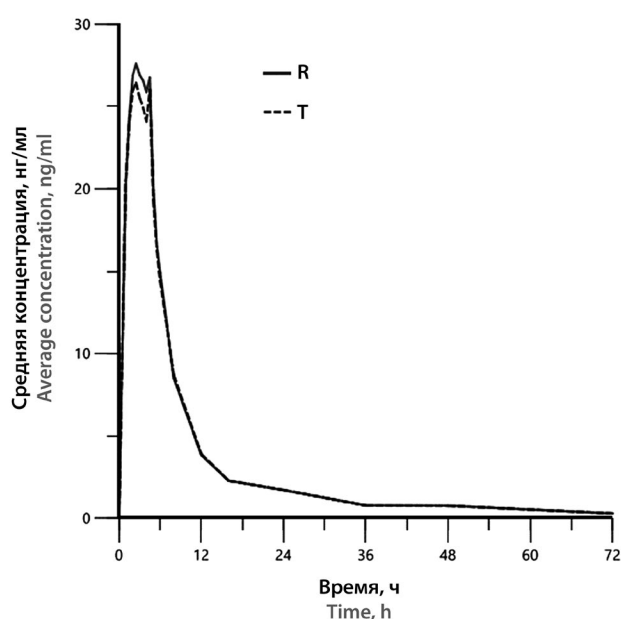


Рисунок 4. Усредненные (среднее по препарату) фармакокинетические профили розувастатина в плазме крови добровольцев после однократного приема комбинированного исследуемого препарата «Эзетимиб + розувастатин» (эзетимиб + розувастатин, таблетки, 10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис групп», Россия) в сравнении с приемом монокомпонентного референтного препарата Крестор® (розувастатин, таблетки 40 мг, Астра Зенека ЮК Лимитед, Великобритания).

T – исследуемый (тестируемый) препарат; R – препарат сравнения (референтный)

Figure 4. Mean pharmacokinetic profiles of rosuvastatin in the blood plasma of volunteers after a single dose of the test drug fixed-dose combination "Ezetimibe + rosuvastatin" (ezetimibe + rosuvastatin, tablets, 10 + 40 mg, JSC "Sanofi-aventis group", Russia) and comparison drug Crestor® (rosuvastatin, tablets, 40 mg, AstraZeneca UK, Limited, United Kingdom).

T – test drug; R – comparison drug

ратов, а были представлены как вспомогательные данные.

Результаты описанного исследования биоэквивалентности послужили основанием для регистрации препарата Зенон® (эзетимиб + розувастатин, таблетки,

10 + 40 мг, АО «Санофи-авентис групп», Россия) под номером ЛП-005850.

Таблица 5. Сводные данные значений параметра T_{max} розувастатина (N – число измерений)

Table 5. Summary T_{max} of rosuvastatin (N – number of observations)

Вещество Compound	T/R	N	Медиана, ч Median, h	Максимум, ч Maximum, h	Минимум, ч Minimum, h
Розувастатин Rosuvastatin	T	75	3,50	4,50	1,00
	R	75	3,50	4,53	1,00

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках регистрации комбинированного препарата «Эзетимиб + розувастатин» (АО «Санофи-авентис групп», Россия) (зарегистрирован под торговым наименованием Зенон®) было проведено исследование его биоэквивалентности относительно совместно принимаемых монокомпонентных препаратов Эзетрол® и Крестор® при однократном приеме здоровыми добровольцами натощак. На основании полученных данных можно констатировать, что исследуемые препараты характеризуются высокой степенью сходства показателей фармакокинетики.

Было показано, что использование дополнительных наборов образцов КК субстрата ферментативного гидролиза необходимо как на стадии валидации, так и на стадии анализа клинических образцов, так как позволяет изучить и зафиксировать неполный гидролиз проб в аналитической серии.

В ходе валидации ВЭЖХ-МС/МС методики образцы КК с эзетимиб-глюкуронидом использовали для изучения параметров: правильность и прецизионность; селективность; степень извлечения и эффект матрицы; стабильность.

Было показано, что только использование дополнительного набора образцов КК эзетимиб-глюкуронида позволяет зафиксировать неполный гидролиз проб в аналитической серии и обосновать реанализ образцов в этом случае.

Таблица 6. ДИ для отношений фармакокинетических параметров C_{max} и $AUC_{(0-72)}$ (N – число измерений; C Vintra – коэффициент внутрииндивидуальной вариации; CVinter – коэффициент межиндивидуальной вариации; T – исследуемый препарат; R – препарат сравнения; N – число измерений)

Table 6. CI for C_{max} and $AUC_{(0-72)}$ ratios (N – number of observations; CVintra – intra-subject coefficient of variation; CVinter – inter-subject coefficient of variation; T – test formulation; R – reference formulation)

Параметр Parameter	Средние геометрические Geometric mean				Отношение T/R (%) T/R ratio, (%)	90 % ДИ (%) 90 % CI (%)		CVintra (%)	CVinter (%)	БЭ BE
	N	T	N	R		Нижний Lower	Верхний Upper			
<i>Эзетимиб Ezetimibe</i>										
$AUC_{(0-72)}$, нг · ч/мл $AUC_{(0-72)}$, ng · h/ml	75	78,68	75	76,68	102,45	98,04	107,04	16,24	45,26	Да Yes
C_{max} , нг/мл C_{max} , ng/ml	75	3,00	75	2,78	107,86	99,60	116,81	29,91	46,35	Да Yes
<i>Розувастатин Rosuvastatin</i>										
$AUC_{(0-72)}$, (нг · ч/мл) $AUC_{(0-72)}$, ng · h/ml	75	215,72	75	219,22	98,33	93,81	103,06	17,41	41,10	Да Yes
C_{max} , нг/мл C_{max} , ng/ml	75	26,5	75	27,8	95,47	88,61	102,85	27,90	47,07	Да Yes

Таблица 7. Результаты ANOVA ФК параметров [SS (Sum of Squares) – сумма квадратов для разниц со средним значением; DF – число степеней свободы; MS – дисперсия; F – величина F-критерия]

Table 7. ANOVA results for PK parameters [SS (Sum of Squares) – sum of squares for differences with mean; DF – degrees of freedom; MS – dispersion; F – F-value]

Параметр Parameter	Источник вариации Source of variability	DF	SS	MS	F	p-величина p-value
<i>Эзетимиб Ezetimibe</i>						
$\ln(C_{max})$	Последовательность Sequence	1	0,0003329	0,0003329	0,003995	0,9498
	Последовательность группа Sequence group	1	0,3800	0,3800	4,561	0,03617
	Препарат группа Formulation group	1	0,2519	0,2519	0,5332	0,4677
	Период группа Period group	2	0,1425	0,07123	0,8548	0,4297
	Остаточная вариация Residual variability	71	5,916	0,08333	–	–
$\ln(AUC_{0-72})$	Последовательность Sequence	1	0,02391	0,02391	0,9063	0,3443
	Последовательность группа Sequence group	1	0,02841	0,02841	1,077	0,3029
	Препарат группа Formulation group	1	0,001576	0,001576	0,003948	0,9501
	Период группа Period group	2	0,2572	0,1286	4,875	0,01038
	Остаточная вариация Residual variability	71	1,873	0,02638	–	–
<i>Розувастатин Rosuvastatin</i>						
$\ln(C_{max})$	Последовательность Sequence	1	0,2937	0,2937	3,891	0,05243
	Последовательность группа Sequence group	1	1,215	1,215	16,10	0,0001471
	Препарат группа Formulation group	1	0,03731	0,03731	0,07843	0,7802
	Период группа Period group	2	0,04630	0,02315	0,3067	0,7368
	Остаточная вариация Residual variability	71	5,359	0,07547	–	–

Параметр Parameter	Источник вариации Source of variability	DF	SS	MS	F	p-величина p-value
Эзетимиб Ezetimibe						
Ln(AUC ₀₋₇₂)	Последовательность Sequence	1	0,1528	0,1528	5,062	0,02756
	Последовательность группа Sequence group	1	0,8347	0,8347	27,66	1,460E-06
	Препарат группа Formulation group	1	0,006164	0,006164	0,01800	0,8936
	Период группа Period group	2	0,07755	0,03877	1,285	0,2831
	Остаточная вариация Residual variability	71	2,143	0,03018	–	–

ЛИТЕРАТУРА

- Sniderman A.D., Williams K., Contois J.H., Monroe H.M., McQueen M.J., de Graaf J., Furberg C.D. A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2011;4(3):337–345. DOI: 10.1161/circoutcomes.110.959247.
- Wadhwa R.K., Steen D.L., Khan I., Giugliano R.P., Foody J.M. A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *Journal of clinical lipidology*. 2016;10(3):472–489. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.11.010.
- Grundy S.M., Stone N.J., Bailey A.L., Beam C., Birtcher K.K., Blumenthal R.S., Braun L.T., de Ferranti S., Faiella-Tommasino J., Forman D.E., Goldberg R., Heidenreich P.A., Hlatky M.A., Jones D.W., Lloyd-Jones D., Lopez-Pajares N., Ndumele C.E., Orringer C.E., Peralta C.A., Saseen J.J., Smith S.C., Sperling L., Virani S.S., Yeboah J. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary. *Journal of the American College of Cardiology*. 2019;73(24):3168–3209. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.11.002.
- Yebo H.G., Aschmann H.E., Kaufmann M., Puhon M.A. Comparative effectiveness and safety of statins as a class and of specific statins for primary prevention of cardiovascular disease: A systematic review, meta-analysis, and network meta-analysis of randomized trials with 94,283 participants. *American heart journal*. 2019;210:18–28. DOI: 10.1016/j.ahj.2018.12.007.
- Pandor A., Ara R.M., Tumur I., Wilkinson A.J., Paisley S., Duenas A., Chilcott J. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of internal medicine*. 2009;265(5):568–580. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.02062.x.
- Barkas F., Elisaf M., Liberopoulos E., Klouras E., Liamis G., Rizo E.C. Statin therapy with or without ezetimibe and the progression to diabetes. *Journal of Clinical Lipidology*. 2016;10(2):306–313. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.11.015.
- Lamb Y.N. Rosuvastatin/Ezetimibe: A Review in Hypercholesterolemia. *American journal of cardiovascular drugs*. 2020;20(4):381–392. DOI: 10.1007/s40256-020-00421-1.
- Mitra A., Wu Y. Challenges and opportunities in achieving bioequivalence for fixed-dose combination products. *The AAPS journal*. 2012;14(3):646–655. DOI: 10.1208/s12248-012-9378-x.
- Dubey R. Bioequivalence challenges in development of fixed-dose combination products: looking beyond reformulation. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012;9(3):325–332. DOI: 10.1517/17425247.2012.655723.
- Ушкалова Е. А., Зырянов С. К., Ушкалова А. В. Воспроизведенные лекарственные средства и особенности их регулирования. *Неврология, Нейропсихиатрия, Психосоматика*. 2016;8(3):82–87.
- Миронов А. Н. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. М.: Гриф и К; 2019. 328 с.

REFERENCES

- Sniderman A.D., Williams K., Contois J.H., Monroe H.M., McQueen M.J., de Graaf J., Furberg C.D. A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2011;4(3):337–345. DOI: 10.1161/circoutcomes.110.959247.
- Wadhwa R.K., Steen D.L., Khan I., Giugliano R.P., Foody J.M. A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *Journal of clinical lipidology*. 2016;10(3):472–489. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.11.010.
- Grundy S.M., Stone N.J., Bailey A.L., Beam C., Birtcher K.K., Blumenthal R.S., Braun L.T., de Ferranti S., Faiella-Tommasino J., Forman D.E., Goldberg R., Heidenreich P.A., Hlatky M.A., Jones D.W., Lloyd-Jones D., Lopez-Pajares N., Ndumele C.E., Orringer C.E., Peralta C.A., Saseen J.J., Smith S.C., Sperling L., Virani S.S., Yeboah J. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary. *Journal of the American College of Cardiology*. 2019;73(24):3168–3209. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.11.002.
- Yebo H.G., Aschmann H.E., Kaufmann M., Puhon M.A. Comparative effectiveness and safety of statins as a class and of specific statins for primary prevention of cardiovascular disease: A systematic review, meta-analysis, and network meta-analysis of randomized trials with 94,283 participants. *American heart journal*. 2019;210:18–28. DOI: 10.1016/j.ahj.2018.12.007.
- Pandor A., Ara R.M., Tumur I., Wilkinson A.J., Paisley S., Duenas A., Chilcott J. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of internal medicine*. 2009;265(5):568–580. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.02062.x.
- Barkas F., Elisaf M., Liberopoulos E., Klouras E., Liamis G., Rizo E.C. Statin therapy with or without ezetimibe and the progression to diabetes. *Journal of Clinical Lipidology*. 2016;10(2):306–313. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.11.015.
- Lamb Y.N. Rosuvastatin/Ezetimibe: A Review in Hypercholesterolemia. *American journal of cardiovascular drugs*. 2020;20(4):381–392. DOI: 10.1007/s40256-020-00421-1.
- Mitra A., Wu Y. Challenges and opportunities in achieving bioequivalence for fixed-dose combination products. *The AAPS journal*. 2012;14(3):646–655. DOI: 10.1208/s12248-012-9378-x.
- Dubey R. Bioequivalence challenges in development of fixed-dose combination products: looking beyond reformulation. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012;9(3):325–332. DOI: 10.1517/17425247.2012.655723.
- Ushkalova E. A., Zyryanov S. K., Ushkalova A. V. Generics and the specific features of their regulation. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2016;8(3):82–87. (In Russ.)
- Mironov A. N. Guidelines for the examination of medicines. V. I. Moscow: Grif and K; 2019. 328 p. (In Russ.)