

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ  
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ  
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ  
ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ПОРЯДКУ  
ПРОВЕДЕННЯ ВИПРОБУВАНЬ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОЇ  
ЕКВІВАЛЕНТНОСТІ (БІОЕКВІВАЛЕНТНОСТІ) ВЕТЕРИНАРНИХ  
ПРЕПАРАТІВ**

ЛЬВІВ – 2017

## **Методичні рекомендації підготували:**

Д. В. Янович – доктор сільськогосподарських наук, заступник директора з питань наукового забезпечення системи якості випробувань ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок

З. С. Засадна – к. б. н., зав. Національної референс-лабораторії з контролю залишкових кількостей ветеринарних препаратів та кормових добавок

С. М. Мелікян – к.б.н., завідувач сектором клініко - фармацевтичного аналізу Національної референс лабораторії з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів та кормових добавок

М. В. Ридчук – к.х.н., науковий співробітник Національної референс лабораторії з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів та кормових добавок

А. О. Костюк – провідний спеціаліст Національної референс лабораторії з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів та кормових добавок

## **Рецензенти:**

Ю.М.Косенко - Доктор біологічних наук. Голова Національного агентства ветеринарних препаратів та кормових добавок.

Гунчак В.М. - Професор, доктор ветеринарних наук, член-кореспондент НААНУ  
Завідувач кафедри фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З.Гжицького

Методичні рекомендації розглянуті та схвалені ТК № 132 Держспоживстандарту України “Засоби захисту тварин, корми та кормові добавки” (протокол № 07 від 17.10.2017 р.) та Науково-методичною радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів (протокол № 1 від 24 квітня 2018 р.).

Методичні рекомендації є адаптованим перекладом документу: VICH GL 52 (BIOEQUIVALENCE) BIOEQUIVALENCE: BLOOD LEVEL BIOEQUIVALENCE STUDY Adopted at Step 7 of the VICH Process by the VICH Steering Committee in August 2015 for implementation by August 2016, який було розроблено відповідною робочою групою експертів VICH відповідно до процесу VICH. На 7 етапі процесу, остаточний проект рекомендований для прийняття регулюючим органам Європейського Союзу, Японії та США.



## ЗМІСТ

I. ВСТУП.....	3
А. Мета: .....	3
В. Довідкова інформація: .....	3
С. Сфера: .....	4
II. СТВОРЕННЯ ПРОТОКОЛУ ДОСЛІДЖЕНЬ <i>IN VIVO</i> .....	5
А. Вибір продукту: .....	5
В. Вибір дози: .....	6
С. Вибір способу введення .....	8
D. Складання схеми досліджень: .....	8
1. Перехресне порівняння в паралельних дослідженнях: .....	8
2. Дизайн повторних досліджень: .....	9
3. Дизайн послідовних досліджень: .....	10
4. Порівняння разових доз з багаторазовими дозами в дизайні досліджень: .....	10
Е. Вибір об'єктів .....	11
F. Стан годівлі: .....	11
G. Вилучення даних з протоколу.....	11
H. Визначення вибірки зразків: .....	12
I. Графік відбору зразків крові: .....	12
J. Параметри БЕ крові.....	13
K. Аналітичні дослідження: .....	14
1. Препарати .....	14
2. Енантіомери .....	14
L. Біоаналітичні методи .....	14
M. Статистичний аналіз: .....	15
III. СТАТИСТИЧНА МОДЕЛЬ:.....	15
А. Ln-трансформація: .....	15
В. Нормалізація дози .....	16
С. Довірчий інтервал, критерії прийнятності.....	16
D. Статистичний звіт: .....	16
Е. Словник.....	17
IV.	
F. ПОСИЛАННЯ .....	18

I.

МЕТА: А.

Ці рекомендації спрямовані на гармонізацію оцінки даних щодо, рівнів ветеринарних фармацевтичних продуктів в крові одержаних в дослідях з вивчення біоеквівалентності *in vivo* (БЕ). Для досягнення цієї мети в рекомендаціях розглядаються наступні теми:

- 

Гармонізоване визначення БЕ .

- 

Фактори / змінні, які слід враховувати при розробці науково обґрунтованої БЕ за рівнем ветеринарних фармацевтичних продуктів в крові

- 

Інформація, яка повинна бути включена в звіт при дослідженні БЕ д за рівнем ветеринарних фармацевтичних продуктів в крові.

Міжнародне співробітництво в галузі гармонізації технічних вимог до реєстрації ветеринарних лікарських засобів (VICH) прагне усунути дублювання та зайве тестування, шляхом гармонізації щодо нормативів обов'язкових при реєстрації ветеринарних препаратів, що, безсумнівно, призводить до зменшення кількості використовуваних тварин при розробці та реєстрації продукту.

Загалом, керівні документи FDA не встановлюють юридично обов'язкових вимог. Натомість, керівництво описує поточне думку Агентства стосовно вищезгаданої теми, і його слід розглядати лише як рекомендації, за винятком випадків коли існують спеціальні нормативні або законодавчі вимоги. Рекомендації Агентства вказують, на те що пропонується або рекомендується, але не є обов'язковим до виконання.

ДОВІДКОВА ІНФОРМАЦІЯ: В.

В контексті цього керівництва БЕ визначається як відсутність різниці (у межах заздалегідь встановлених критеріїв) в біодоступності активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) або його метаболіту (ів) в місці дії при введенні в тій же молярній дозі за аналогічних умов у відповідному дослідженні. При порівнянні концентрацій у крові препаратів як дослідних так і референсних продуктів БЕ вважаються два продукти, що мають "еквівалентну" швидкість і ступінь поглинання ліків, які визначено в крові, тобто вони терапевтично не відрізняються і можуть бути взаємозамінні в клінічному застосуванні .

Визначення БЕ продукту для різних видів тварин може представляти численні статистичні, матеріально-технічні та регуляторні проблеми. Міжнародні розбіжності у вирішенні цих проблем та відповідних критеріїв визначення продукту БЕ можуть призвести до перешкод на шляху обміну даними та наукової плутанини. Тому розробка узгодженого керівництва об'єднує глобальне ветеринарне співтовариство у розумінні основ фармакокінетики (ФК), міркувань щодо розробки дослідження та статистичних принципів, на яких базуються визначення БЕ. За своїм характером керівництва адресовані більшості, але не для всіх можливих випадків. Альтернативні підходи можуть бути використані, якщо вони задовольняють вимогам відповідних статутів та правил.

## СФЕРА:С.

Ці рекомендації зосереджується на дослідницьких підходах та принципах, специфічних для визначення БЕ за рівнем в крові ветеринарних препаратів в дослідах *in vivo*. Наступні теми виходять за рамки цього керівництва:

- 
- Біовейвер
- 
- Продукція з біомаси
- 
- Лікувальні білки або пептиди
- 
- Лікарські премікси
- 
- Фармакологічні дослідження кінцевих точок
- 
- Клінічні дослідження кінцевих точок
- 
- Тести розчинення *in vitro*
- 
- Безпека харчових продуктів
- 

Продукти, де концентрація в крові не може свідчити про рівень препаратів в місці дії. Приклади включають токсично активні композиції, внутрішньовенні продукти та внутрішньовенне введення складних систем доставки ліків, які вивільняють АФІ безпосередньо в місці дії.

- 
- Потенційна потреба в допоміжних дослідженнях, таких як вивчення смакових властивостей або інших (наприклад, трансдермальні продукти, лікарські блоки).
- 

Тварини, з яких складно взяти декілька проб крові (наприклад, риба, медоносні бджоли тощо).

У відповідних випадках слід дотримуватись інших керівних документів для вирішення тем, які не входять до сфери застосування цього керівництва.

БЕ є актуальним не тільки для порівняння генеричних (тестових) та референсних продуктів, але й при розробці нових продуктів. Наприклад, оцінки БЕ або відносної біодоступності можуть бути використані для взаємозв'язку між різними рецептурами, фармацевтичними формами, шляхами введення і порівнянням композицій, що використовуються в основних та доклінічних випробуваннях.

Глосарій містить визначення різних термінів, що використовуються в цьому керівництві, і надає деякі синонімічні терміни, які можуть бути застосовані в посібниках, доступних у супутніх документах.

Додаток надається як додаткове роз'яснення для наукових та статистичних понять, описаних у керівництві. Окрім того варто скористатись іншими відповідними рекомендаціями VICH.

Приклад, що описує оцінку обсягу вибірки БЕ, статистичний аналіз даних, та послідовність аналізу наводиться в окремому допоміжному документі під назвою: "Додаткові приклади для ілюстрації статистичних концепцій, описаних у посібнику з біоеквівалентності GL52 в VICH *In Vivo*". Його можна знайти на веб-сторінці за наступною URL-адресою:

<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM415701.pdf>.

Зверніть увагу на те, що приклади, наведені в вищезгаданому додатковому матеріалі, призначені виключно в інформаційних цілях.

У цьому керівництві терміни "кров", "плазма" та "сироватка" можуть використовуватися взаємозамінно.

## СТВОРЕННЯ ПРОТОКОЛУ *In Vivo* II.

Всі дослідження БЕ повинні проводитися таким чином, щоб забезпечити надійність отриманих даних. Щоб бути прийнятним на міжнародному рівні,<sup>1</sup> дослідження БЕ повинні виконуватися відповідно до принципів належної лабораторної практики (GLP).

### A. Вибір продуктів:

Враховуючи, що вибір продуктів для досліджень БЕ або відносної біодоступності, проведених під час розробки еталонного продукту, не визначено, для вибору продукту в дослідженнях БЕ, що підтверджують схвалення генеричних ветеринарних препаратів, застосовуються наступні умови:

- дослідження БЕ повинні проводитися на тестових та референсних продуктах, що містять той самий АФІ.

- Випробувальний продукт повинен представляти кінцеву рецептуру продукту, який продається.

- Референсний препарат повинен бути з партії, пов'язаної з ветеринарним лікарським засобом, який отримав схвалення в межах юрисдикції, для якої вимагається затвердження загального продукту.

- Вміст АФІ тестових та референсних та контрольних продуктів слід аналізувати перед проведенням дослідження БЕ. Щоб бути прийнятним на міжнародному рівні, рекомендується, щоб вміст АФІ у партіях, з яких були отримані референсні та контрольні продукти, повинен відрізнятися не більш ніж  $\pm 5\%$  один від одного.

- Для використання в дослідженні БЕ *in vivo* випробовуваний продукт повинен походити з партії щонайменше 1/10 від масштабу виробництва, якщо інше не виправдано.

- Характеристика та специфікація критичних атрибутів якості АФІ, наприклад розчинення, повинна бути встановлена з тестової партії, для якої продемонстровано БЕ.

Звіт про дослідження повинен містити назву референсного препарату, його склад (включаючи аналізований вміст), лікарську форму, номер партії, дату закінчення терміну придатності (якщо така є) та країну походження. Необхідно вказати назву випробувального продукту, його склад вміст(включаючи аналізований вміст), лікарську форму, склад, розмір партії, номер партії, дату виготовлення та термін придатності (за наявності).

#### ВИБІР ДОЗИ: В.

Для вивчення рівнів рівня БЕ рекомендується застосовувати дози препаратів тваринам відповідно до зазначеної в настанові максимальної дози, а не за даними результатів аналізу вибраних референсних та еталонних партій.

Дослідження рівня БЕ в крові, як правило, повинно проводитись на найвищій дозі (наприклад, мг/кг) дози, затвердженої для референсного препарату. Використовуючи найвищу затверджену дозу, значні відмінності в складі препарату в більшості випадків легше виявляються. Однак, якщо це може бути обґрунтовано тим, що референсний продукт демонструє лінійність фармакокінетики (ФК) в межах всього діапазону доз, то будь-яка затверджена доза може бути використана, якщо є наукове обґрунтування того, чому не можна використовувати найбільшу дозу. У виняткових випадках, коли партія референсного продукту за результатами аналізу, відрізняється більш ніж 5% від досліджуваного продукту, можуть бути застосовано нормалізування доз. У таких випадках процедура нормалізації дози повинна бути попередньо визначена та обґрунтована шляхом включення результатів аналізу тестових та референсних продуктів у протокол.

Дослідження БЕ, проведене за більш високою, ніж затверджена доза, може бути доцільним, якщо для досягнення вимірюваних рівнів в крові потрібне кратне застосування найвищої схваленої дози. Загалом, максимальна доза буде обмежена до 3-х разової порівняно з максимальною дозою, рекомендованою для референсного продукту. Референсний препарат повинен мати достатній запас безпеки при рівні, що перевищує рекомендовану дозу, і повинен мати лінійну ФК (тобто відсутні відповідні кумуляція або елімінація). У цьому випадку вибір дози слід супроводжувати науковим обґрунтуванням.

Для референсних продуктів з меншим, ніж пропорційне збільшенням AUC при збільшенні дози (нелінійна кінетика) в межах терапевтичного діапазону слід враховувати наступне:

- Якщо є дані, що вказують на те, що абсорбція продукту може бути обмежена процесами насиченого всмоктування, це може призвести до появи двох препаративних форм, які вважаються біоеквівалентними при введенні в найвищій міченій дозі, але не можуть бути біоеквівалентними при застосуванні в менших затверджених дозах. Щоб уникнути такої ситуації, краще використовувати дозу, яка є меншою, ніж найвища затверджена доза. У цьому випадку вибір дози (що показує, що доза знаходиться в лінійному діапазоні) повинна супроводжувати науковим обґрунтуванням.

- Якщо в терапевтичному діапазоні можлива нелінійність через низьку розчинність, то БЕ слід встановлювати в як найвищій зазначеній дозі, так і в



найменшій зазначеній дозі (або дозі в лінійному діапазоні), тобто в такому випадку дві дослідження БЕ можуть бути рекомендовані.

У кроссоверних дослідженнях однакова загальна доза повинна бути введена кожній тварині протягом усіх досліджуваних періодів. Використання коригування дози в тих рідкісних ситуаціях, коли очікується велика зміна ваги (наприклад, дослідження, проведені у швидкозростаючих тваринах, де існує ризик відмінності в поглинанні, розподілі, обміні або елімінації ліків між 1 та 2 періодами, що може зміщуватись порівняння між предметами) слід розглядати відповідно до конкретного випадку.

У відповідних випадках дози повинні бути округлені на підставі наявної інформації про вміст АФІ у твердій пероральній лікарській формі або до найближчого верхнього значення дозуючого обладнання.

Тверді пероральні дозовані форми не слід змінювати таким чином, щоб вони могли змінювати дослідження, наприклад, шляхом шліфування або відламування для досягнення однакових доз. Розбивання таблеток по лініях відліку може бути доцільним, якщо однорідність відламаних частинок може бути підтверджена даними фармакологічних / виробничих даних (наприклад, рівномірність вмісту половинок). Для референсних продуктів, за відсутності виробничих або фармацевтичних даних, інформація, що міститься в маркуванні продукту, може бути використана як керівництво для допустимих маніпуляцій з таблетками.

Звіт про дослідження повинен включати вибрану дозу, призначену кожній тварині в кожному періоді дослідження.

#### ВИБІР СПОСОБУ ВВЕДЕННЯ: С.

Якщо інше не виправдано під час проведення БЕ дослідження *in vivo*:

- Той самий шлях та місце введення слід використовувати для тестових та референсних продуктів.

- Окремі дослідження БЕ повинні бути подані для кожного шляху застосування, затвердженого для референсних продуктів.

#### СКЛАДАННЯ СХЕМИ ДОСЛІДЖЕНЬ: D.

##### 1 ПЕРЕХРЕСНЕ ПОРІВНЯННЯ В ПАРАЛЕЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ:

Двоетапне, двоярусне, перехресне дослідження широко застосовується в дослідженні БЕ рівнів в крові, оскільки це усуває основне джерело варіативності дослідження: між суб'єктами різниці в темпах вживання препаратів, розчинення ліків та обсягу розподілу ліків. Дизайн дослідження полягає в наступному:

Період	Послідовність А	Послідовність В
1	Тест	Референсний
2	Референсний	Тест

Зверніть увагу, що для усунення можливих побічних впливів на періоди, слід враховувати дві послідовності, що входять до складу двох періодів перехресного дослідження.

Зважаючи на потенційний ризик недійсності конструкції перехресного дизайну, лікування, проведене протягом періоду 1, не повинно впливати на ФК, пов'язану з лікуванням, що проводяться протягом періоду 2. З цієї причини тривалість інтервалу вимивання повинна забезпечити, щоб препарат та його метаболіти були по суті повністю еліміновані з організму, і не існує залишкових фізіологічних ефектів, які можуть змінити спосіб, яким препарат, введений у період 2, зазнає метаболізму у суб'єктах дослідження. Тому, окрім доказів відсутності концентрації в крові від попереднього періоду, щоб звести до мінімуму ризик ефекту переносу, рекомендується, щоб тривалість інтервалу виведення повинна бути щонайменше в 5 разів більшою за період напіврозпаду в крові АФІ та його метаболіту (ів) (коли є вказівки на те, що метаболіти можуть впливати на фармакокінетику вихідної сполуки у другому періоді).

Коли мова йде про ендогенні речовини, наявність переносних ефектів дуже важко визначити кількісно. Тому слід дотримуватися обережності, щоб гарантувати, що період виведення є достатньо тривалим. Тривалість періоду виведення слід розглянути та обґрунтувати апіорі у протоколі. Для ендогенних речовин концентрації попередньої дози (базової лікарської) лікарської речовини для періоду 1 повинні бути порівнянними з концентраціями попередньої дози протягом періоду 2.

Паралельний аналіз дослідження може бути кращим у таких ситуаціях:

- Базові сполуки та / або його метаболіти викликають фізіологічні зміни у тварин (наприклад, індукція мікросомальних ферментів печінки, зміна кровообігу), які можуть змінити біодоступність продукту, що вводяться у періоді 2.

- Базові сполуки та / або метаболіти або препарат (наприклад, кінетика фліп-флопу) мають кінцевий період напіврозпаду, настільки тривалий, що створюється ризик залишків препарату, присутнього у крові на момент дозування періоду 2 (тобто встановлення періоду елімінації не є можливим).

- Тривалість вимивання для двох періодів перехресного дослідження триває так довго, що призведе до значних фізіологічних змін у досліджуваних суб'єктах.

- Загальний об'єм крові цього виду виключає можливість захоплення концентрацією в крові-часових профілів протягом більше одного періоду.

Альтернативні конструкції дослідження можна розглянути на прикладах:

- Дослідження в повторювальному дизайні (див. Підрозділ I D. 2)

- Послідовний дизайн досліджень (див. Підрозділ II D. 3)

Для одержання схвалень у кількох країнах, під час проведення одного дослідження з двома різними референсними продуктами, залежно від продуктів, зареєстрованих у відповідних країнах, можна враховувати потрійний перехресний дизайн або схему кількох паралельних досліджень.

Альтернативні конструкції та відповідний запропонований метод статистичного аналізу можна обговорити з регулюючим органом перед проведенням дослідження БЕ. Пілотні дані чи література можуть бути використані для підтримки альтернативних моделей навчання.

Незалежно від того, як буде проводитися дослідження, проект повинен бути описаний апріорі у протоколі.

## 2. ДОСЛІДЖЕННЯ В ПОВТОРНОМУ (РЕПЛІКАЦІЙНОМУ) ДИЗАЙНІ:

Повторний дизайн дослідження - це дослідження, в якому принаймні одна з процедур повторюється.

Якщо вважається, що традиційний перехресний дизайн не буде здійснено без включення дуже великої кількості тварин, то повторні дослідження можна розглядати з використанням трьох (часткове реплікація, коли, наприклад, референсний препарат повторюється для всіх тварин) або чотири ( повна реплікація, де кожна тварина отримує референсні та контрольні продукти двічі) періоди в кожній групі. Згідно вимог деяких країн реплікаційний дизайн дослідження також може бути використаний для застосування еталонного методу біоеквівалентності *in vivo*. Особи, які бажають розглянути використання альтернативних статистичних підходів, повинні звертатися до окремих регуляторних органів для отримання додаткової інформації про можливі статистичні міркування та умови, за яких такі альтернативні підходи вважаються прийнятними.

## 3. ПОСЛІДОВНІ ДОСЛІДЖЕННЯ:

Під час спроби продемонструвати БЕ продукту слід застосувати послідовний підхід. При застосуванні послідовного дизайну досліджень можна розглянути початкову групу тварин та проаналізувати їх дані. Якщо біоеквівалентність не була продемонстрована, можна залучити додаткову групу, і результати з обох груп об'єднані в остаточний аналіз.

Якщо такий підхід буде прийнято, слід вжити відповідні кроки для збереження загальної помилки експерименту типу I, а критерії припинення повинні бути чітко визначені до початку дослідження. Аналіз даних першого етапу слід розглядати як проміжний аналіз, і обидва аналізи слід проводити з коригуванням рівня значень (з урахуванням довірчих інтервалів, корегованих відповідним чином з використанням скорегованої вірогідності покриття, що перевищить 90%). План використання двостадійного підходу повинен бути попередньо визначений у протоколі разом із кількістю тварин, які повинні бути включені в кожен етап, та коригувальними рівнями значущості, які будуть використовуватися для кожного аналізу.

#### 4.ОДНОРАЗОВА ДОЗА ТА БАГАТОРАЗОВЕ ДОЗУВАННЯ

У більшості випадків дослідження одноразової дози БЕ рекомендовано як для немедикаментозних препаратів, так і для модифікованого вивільнення, оскільки дослідження з одноразовою дозою, як правило, є більш чутливим підходом для оцінки відмінностей у вивільненні АФІ від продукту порівняно до системної циркуляції.

Для препаратів з тривалим вивільненням, призначеним для повторного дозування, демонстрація БЕ повинна базуватися на дослідженнях з кількома дозами, якщо існує накопичення між дозами (тобто, якщо при застосуванні концентрації препарату в стаціонарному стані буде принаймні вдвічі більше, ніж спостерігається після однієї дози). У таких випадках  $C_{trough}$  може бути важливим параметром для розгляду, крім  $C_{max}$  та AUC. Слід зазначити, що  $C_{trough}$  не може дорівнювати  $C_{min}$  у випадку продуктів із затримкою. Якщо накопичення відсутнє або незначне, дані для одного дози БЕ також можуть бути достатніми для композицій з довшим вивільненням, призначених для повторного дозування.

Крім того, дослідження декількох доз також може бути доцільним, коли:

- Процеси супроводжуються інтенсивною елімінацією.

Чутливість аналізу є недостатньою, щоб дозволити кількісну оцінку ліків, яка достатньо характеризує AUC після введення однієї дози (див. Розділ II I. Графік відбору крові).

Обидва одноразові дослідження можуть проводитися за допомогою перехресного дослідження або паралельного проектування. Через ускладнення, пов'язаних з дослідженнями дуже значної тривалості, застосування послідовних і реплікативних досліджень зазвичай не рекомендується для досліджень кількох доз.

#### ВИБІР ОБ'ЄКТІВ:Е.

Тварини, що вивчаються, повинні бути цільових видів. Для кожної юрисдикції, в межах якої потрібна реєстрація, дослідження БЕ повинні проводитися на кожній з головних цільових тварин, що входять до складу затвердженої стандартної етикетки. Екстраполяція результатів основних видів, в яких була встановлена БЕ для незначних видів, могла б бути доцільною, якщо будуть надані дійсні наукові аргументи для підтримки такої екстраполяції з урахуванням анатомії та фізіології видів та властивостей АФІ та формулювання.

Експериментальні тварини повинні бути вільними від будь-яких лікарських залишків перед фазою *in vivo* при дослідженні БЕ. У деяких випадках необхідний період без вживання препаратів може бути продовжено, що пов'язано з залишками лікарських засобів, з огляду на потенційні ефекти фізіологічного перенесення, які можуть впливати на дані, отримані в дослідженні БЕ.

Дослідження повинні проводитися зі здоровими тваринами, які є репрезентативними для цільової популяції. Для дизайну паралельних досліджень тварини / групи для лікування повинні бути однорідними та порівнянними з усіма відомими та прогностичними змінами, які можуть впливати на ФК з АФІ,

наприклад. вік, маса тіла, стать, харчування, фізіологічний стан та рівень продуктивності(якщо це необхідно).

Тварини повинні бути рандомізовані, і рівна кількість тварин повинна бути призначена для кожної послідовності (кросовер дизайн) або кожного лікування (паралельний дизайн дослідження).

Повне опис вищезазначеної інформації має бути включено до звіту дослідження.

#### СТАН ГОДІВЛІ:F.

Для всіх видів годівлі точний часу годування повинно бути узгоджено з добробутом тварин (наприклад, жуйні тварини не витримуються натще) та ПК з АФІ.

Для лікарських препаратів (собаки, коти), що вводяться пероральним шляхом, дослідження повинні проводитися після голодної витримки тварин, за винятком випадків, коли настанова для референсного препарату рекомендує застосування тільки з кормом, в такому випадку слід проводити відповідне дослідження. Голодна витримка повинна бути мінімум 8 годин до дозування та 4 години після дозування.

Для пероральних композицій з модифікованим вивільненням, не призначених для жуйних тварин, звичайно слід встановлювати БЕ як при годівлі, так і при голодній витримці, за винятком належного обґрунтування.

Протокол дослідження та звіт про дослідження повинні містити обґрунтування для проведення дослідження БЕ під час годівлі або голодної витримки, а також повинні містити опис дієти та режиму годівлі.

#### ВИЛУЧЕННЯ ДАНИХ З ПРОТОКОЛУ:G.

Існує багато ситуацій, коли може виникнути необхідність у видаленні всієї або частини даних тварини з дослідження. Коли це трапляється, в звіті досліджень повинно бути належним обґрунтовано причини видалення, і рішення щодо усунення даних повинні бути зроблені до аналізу зразків крові, щоб уникнути зміщення.

Існують ситуації, які зустрічаються досить часто, щоб вимагати обумовлення у протоколі дослідження. Наприклад, оскільки існує ризик втратити всю або частину призначеної дози для пероральних композицій, критерії видалення суб'єкта даних з аналізу через блювоту, як очікується, буде визначено апріорі у протоколі дослідження. Аспекти розглянути при визначенні таких критеріїв:

- 

Що таке прийнятний час між введенням препарату та випадком блювоти (з урахуванням, наприклад, очікуваного часу для виведення препарату з шлунку, припливного стану тварини)?

- 

Що буде вважатися допустимою кількістю матеріалу, втраченого з блювотою?

Крім того, коли повторне дозування після блювоти розглядається як варіант дослідження, критерії повторного дозування повинні бути визначені апріорі у протоколі дослідження. Важливо, щоб усі доступні дані були включені в статистичний аналіз. Якщо, наприклад, тварина виключена з періоду 2, дані, зібрані з цієї тварини в період 1, не повинні виключатися з статистичної оцінки.

Щоб переконатись у тому, що були розглянуті всі можливі статистичні зауваження, слід надавати описову статистику з та без даних тварин, виключених з оцінки БЕ.

#### ВИЗНАЧЕННЯ ВИБІРКИ ПРОБИ:Н.

Пілотні дослідження корисні для оцінки відповідного обсягу вибірки для основного дослідження БЕ.

Розрахунки розмірів вибірки передбачають, що використовувані оцінки (наприклад, різниця в обробці та відхилення) будуть реалізовані у майбутньому дослідженні. Крім того, розміри вибірки, як правило, оцінюються як "мінімальна кількість", необхідна для демонстрації БЕ, якщо ці оцінки реалізуються. Наведено посилання, що описує обчислення розміру вибірки.

Розмір вибірки для дослідження БЕ має базуватися на кількості суб'єктів, необхідних для досягнення БЕ для параметра ФК, який, як очікується, має найбільшу мінливість та / або різницю в засобах лікування (наприклад,  $C_{max}$ ). Рівняння та приклади наведено в Додатку.

Слід зазначити, що для того, щоб дослідження було прийнятним на міжнародному рівні, необхідно щонайменше 12 оцінюваних тварин для введення препаратів. Для перехресного дизайну це означає, що мінімальна кількість тварин на секвенцію ( $n$ ) = 6 (а отже, загальна кількість досліджуваних тварин у двоетапному дослідженні кросовера з двох послідовностей,  $N$ , повинна бути рівною або більшою ніж 12). Для паралельного дослідження, у кожній групі лікування повинно бути не менше 12 оцінюваних тварин (і таким чином, загальна кількість тварин, зарахованих у дослідженні БЕ, буде дорівнювати або перевищувати 24).

Якщо ризик втрати тварин викликає занепокоєння, спонсор може вибрати для розробки дослідження, щоб включити додаткових тварин. У цій ситуації, якщо тварини видаляються в процесі дослідження (через помилки блювоти або дозування або смерті / травми), додаткові тварини, які розміщені на дослідженні, дозволяють підтримувати належну статистичну вибірку.

Вибір розміру вибірки повинен бути передбаченим у протоколі дослідження.

#### ГРАФІК ВІДБОРУ ЗРАЗКІВ КРОВІ: I

Графік відбору зразків крові повинен включати частоту відбору проб навколо  $T_{max}$  для забезпечення надійної оцінки  $C_{max}$ . Для способів введення, крім внутрішньовенної ін'єкції, графік вибірки повинен уникати ситуацій, коли перший час відбору проб відповідає  $C_{max}$ . Тривалість вибірки крові повинна забезпечити надійну оцінку ступеня експозиції, яка досягається, якщо  $AUC_{0-Last}$  становить щонайменше 80%  $AUC_{0-\infty}$ . Необхідно щонайменше 3 зразки рекомендувати під час термінологічної log-лінійної фази, щоб надійно оцінити  $k_e$  і отримати точну оцінку  $AUC_{0-\infty}$ .

Для АФІ з тривалим терміном напіввиведення термін виведення БЕ може базуватися на значеннях АUC, що становить менше 80% від загальної системної експозиції (крім  $C_{max}$ ), доки фаза абсорбції завершується протягом періоду збору взятих проб .

У дослідженнях кількох доз препарату попередню дозу слід приймати безпосередньо перед дозуванням, і останній зразок рекомендується приймати як можна ближче до кінця інтервалу дозування, щоб забезпечити точне визначення AUC<sub>t</sub>. Збирання зразків також повинно проводитись, щоб показати, що досягнуто стаціонарного стану (тобто, концентрація до мінімуму повинна бути відібрана послідовно, доки не буде стабільності C<sub>trough</sub>).

Для ендogenous сполук графік відбору проб до дози повинен узгоджуватися з методом корекції базової лінії (див. Розділ II. Параметри J. Рівень в крові БЕ).

Планований та фактичний термін відбору зразків крові для кожної тварини людини повинен бути включений у звіт про дослідження.

#### J. РІВЕНЬ В КРОВІ ПАРАМЕТРИ БЕ:

Необхідно визначити наступні параметри. Деякі з цих параметрів не будуть використовуватися для статистичних параметрів БЕ (див. Розділ II D. Обстеження дизайну дослідження).

У дослідженнях з одноразовою дозою слід визначити C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, AUC<sub>0-Last</sub> та AUC<sub>0-∞</sub>.

У дослідженнях з кількома дозами слід визначити значення AUC<sub>t</sub>, C<sub>max</sub> стаціонарного стану (C<sub>max ss</sub>), стаціонарного стану значення C<sub>trough</sub> та значення T<sub>max</sub> у стаціонарному стані (T<sub>max ss</sub>). У ситуаціях, пов'язаних із лікарськими формами, з навмисним відкладеним вивільненням, може бути також доцільним порівняння значень контрольної та контрольної продукції C<sub>trough</sub>.

Якщо АФІ являє собою ендogenous сполуку, розрахунок параметрів БЕ повинен включати корекцію для базових концентрацій. Метод корекції базової лінії повинен бути визначений та обґрунтований апріорі у протоколі дослідження. Рекомендованим методом корекції базової лінії є віднімання середніх ендogenous концентрацій, отриманих з дозувальних концентрацій, оцінених одночасно протягом трьох послідовних днів. Якщо передбачаються добові варіації концентрацій ендogenous сполуки, профілі, що характеризують цю варіацію, можуть бути доречними.

Додаткові параметри, які можуть мати відношення до звіту, включають k<sub>e</sub>, термін напіввиведення терміналу та T<sub>lag</sub>.

Для визначення параметрів ФК в дослідженнях БЕ необхідно використовувати некомпетентні методи.

У звіті про дослідження слід вказати метод, який використовується для виведення параметрів ФК з вихідних даних.

#### K. АНАЛІТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ:

В принципі, оцінки БЕ повинні базуватися на вимірюваних концентраціях основної сполуки, оскільки C<sub>max</sub> вихідної сполуки, як правило, більш чутливі до різниць між швидкістю поглинання продукту порівняно з C<sub>max</sub> метаболіту. Взагалі, продукт БЕ буде визначатися на основі загальної концентрації (вільного плюс білка) у АФІ.

## 1. ПРЕПАРАТИ

Демонстрація БЕ повинна ґрунтуватися на вихідній сполуці, за винятком, що основна сполука є про-лікарським засобом, а про-препарат пов'язаний з незначною концентрацією крові. У випадках, коли існує незначна кількість системних концентрацій препарату, слід виміряти активний метаболіт (сполуку, утворену після абсорбції препарату). Спонсори повинні надати наукове обґрунтування для кількісного визначення сполуки.

## 2. ЕНАНТІОМЕРИ

У більшості випадків для оцінки біоеквівалентності продукції достатньо використовувати хіральний аналіз. Проте використання аналітичного методу, специфічного для енантіомеру, рекомендується, коли виконуються всі наступні умови:

- 

Енантіомери демонструють різні ФК.

- 

Співвідношення АUC енантіомерів модифікується різницею в їх відповідних темпах поглинання.

- 

Енантіомери мають різні фармакодинамічні характеристики.

Якщо виконані всі три умови, рекомендуються хіральні (стереоспецифічні) аналітичні методи. Крім того, хіральні методи можуть бути важливими, коли тестові та контрольні продукти включають використання стереоспецифічної (хіральної) допоміжної речовини, яка може вибірково змінювати абсорбцію одного або обох енантіомерів. Це також може бути важливим, якщо лікарський засіб - це єдиний енантіомер, який проходить хімічну конверсію *in vivo*.

## L. БІОАНАЛІТИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ:

Біоаналітична фаза дослідження БЕ повинна базуватися на відповідному біоаналітичному методі.

Наведені нижче аспекти перевірки та продуктивності біоаналітичного методу повинні бути узагальнені у звіті дослідження (або, якщо інше вважатиме це доцільним регулюючий орган):

- 

Діапазон концентрації та лінійність

- 

Матричні ефекти

- 

Ліміт кількісної оцінки (LOQ)

- 

Специфічність (селективність)

- 

Точність

- 

Прицезійність

-



## Стабільність аналізу та внутрішнього стандарту

Наведені нижче дані про зразки контролю якості (КЯ), отримані під час серії аналізів повинні бути надані:

- Точність
- Прицезійність

З регуляторними органами слід зв'язатися з приводу можливої необхідності включення витрат на повторний аналіз зразка (IRS) як компонент перевірки методу (де повтори IRS є підтвердженням якості аналізів в серіях).

### III. СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ:

Статистична оцінка БЕ найкраще генерується використанням 90% довірчих інтервалів (тобто підхід двостороннього довірчого інтервалу). Двосторонній довірчий інтервал для співвідношення параметрів введення можна охарактеризувати таким чином: "Якщо дослідник неодноразово обчислює ці інтервали з багатьох незалежних та випадкових зразків, 90% від цих інтервалів будуть правильним чином відображати реальне співвідношення в вибірці".

Підхід довірчого інтервалу слід застосовувати до окремих параметрів інтересу, як правило, AUC і  $C_{max}$  (див. розділ J). Спонсор повинен використовувати нормальний логарифмічний метод перетворення (Ln-перетворення) параметрів до статистичного аналізу.

### СТАТИСТИЧНА МОДЕЛЬ: А.

Точна модель, яка буде використовуватися для аналізу варіації (ANOVA), повинна враховувати джерела змін облікових записів, які як можна обґрунтовано припускати, впливають на відповідь змінних. Для двох періодів, двох послідовностей, двох перехресних досліджень, типових термінів зазвичай включають (але не обмежуючись ними) послідовність, тварина протягом послідовності, періоду введення. Стабільні ефекти, а не випадкові ефекти, слід використовувати для перевірки ефектів протягом введення препаратів.

При використанні дослідження в паралельному дизайні, процедури, як правило, порівнюються, використовуючи один шлях ANOVA (тобто лікування є єдиним ефектом, який перевіряється статистичною моделлю). Відповідно, остаточна похибка (випадковий ефект) є відповідною похибкою для статистичного порівняння тестового і референсного препаратів. Інші статистичні методи можуть бути доцільними залежно від дизайну дослідження. Статистична модель та процес рандомізації слід визначити априорі в протоколі досліджень.

### ЛОГАРИФМІЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ: В

Логарифмічні перетворення слід використовувати для оцінювання БЕ, оскільки воно загалом підвищує можливості аналітичного методу щоб задовольнити припущення ANOVA. Причини цього включають:

- Моделі ФК є мультиплікативними, а не додатковими
- Логарифмічні трансформації стабілізують варіабельність
- Порівняння БЕ, як правило, виражаються як співвідношення, а не відмінності

Інші типи перетворення даних буде складно інтерпретувати.

#### НОРМАЛІЗАЦІЯ ДОЗИ: С.

Нормалізація дози не є доцільною при застосуванні перехресної схеми досліджень, крім випадків, описаних в розділі II.

В. Дозування. У рідкісних випадках, пов'язаних з випробуваннями БЕ, розробленими як паралельне дослідження і коли препарати вводяться в мг, а не в мг /кг основи, відмінності між тваринами в масі тіла можуть збільшити величину залишкової похибки до такої міри, що необхідно значно збільшити кількість тварин для одержання вірогідних результатів. У таких ситуаціях прийнятна нормалізація дози і відповідний метод аналізу даних повинен обговорюватися з регуляторними органами під час розробки протоколу.

#### ПРИЙНЯТНІ КРИТЕРІЇ ДЛЯ ІНТЕРВАЛІВ ВІРОГІДНОСТІ: D.

Для прийняття на міжнародному рівні:

- Критерії прийняття для AUC та  $C_{max}$  повинні бути від 0,80 до 1,25 і
  - У випадках, коли для тривалого виведення застосовують кілька доз препаратів, а також при кумуляції ліків, ці критерії також будуть застосовуватися до  $C_{trough}$ .
- У тих випадках, коли спонсор має намір використати альтернативний дизайн дослідження, який дозволить здійснити коригування до критеріїв прийняття, виходячи з мінливості еталонного продукту, необхідно проконсультуватись з регуляторами щодо відповідних статистичних методів та досліджень.

#### Е. СТАТИСТИЧНИЙ ЗВІТ:

Як мінімум, звіт про дослідження має включати порівняння даних концентрації для кожної тварини протягом часу кожного досліджуваного періоду (вказують період введення, пов'язані з профілем кожного зразка крові), розподіл тварин за послідовністю, індивідуальні параметрами, методами, що використовувались для оцінки параметрів, підсумкової статистики та статистичного розрахунку (наприклад, ANOVA). Це дозволить регулюючим органам перевірити ФК та статистичний аналіз, якщо це необхідно.

#### IV. ГЛОСАРІЙ

- Критерії прийняття (довірчий інтервал): верхня та нижня межі (межа) 90% довірчого інтервалу, який використовується для визначення продукту БЕ.
- Активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) (активна речовина): речовина, що використовується в готовому фармацевтичному продукті, що має фармакологічну дію або безпосередній вплив на діагностику, лікування, полегшення, лікування або профілактику захворювання або прямий ефект при відновленні, виправленні чи зміні фізіологічних функцій тіла.

Примітка. Внаслідок міжнародних розбіжностей у тлумаченні того, що вважається "той же АФІ" при розгляді, наприклад, різних солей та складних ефірів, надано не узгоджене визначення. Спонсори повинні проконсультуватися з місцевим регуляторним органом для інтерпретації того, що можна вважати "тим самим АФІ".

- Площа під кривою (AUC): площа під кривою залежності концентрації препарату в плазмі від часу, яка служить мірою впливу на ліків. Вона включає кілька різних типів підрахунків AUC:
    - $AUC_{0-Last}$ : AUC до останнього періоду вивільнення крові, пов'язаного з кількісною концентрацією препарату. Остання кількісна концентрація (межа кількісної оцінки, LOQ) визначається чутливістю аналітичного методу. Остання кількісна концентрація препарату рахується до останнього взяття крові.
    - $AUC_{0-\infty}$ :  $AUC_{0-Last}$  з додаванням екстраполізованої області з останньої кількісної концентрації препарату до нескінченності часу. Термінальна площа від кількісної концентрації останнього препарату до нескінченності часу оцінюється як  $C_{last} / \lambda_e$ , де  $C_{last}$  є останньою кількісною концентрацією ліків та  $\lambda_e$  - це кінцевий нахил профілю Ln-концентрації-часу.
    - $AUC_{\tau}$  ( $AUC_{\tau}$ ): AUC протягом одного інтервалу дозування у стаціонарному режимі. Математично це кількість дорівнює  $AUC_{0-\infty}$  першої дози, якщо є лінійна (не наповнювана) ФК.
  - Результат аналізу: кількість аналіту в зразку.
  - Біодоступність: швидкість і ступінь, до яких АФІ або активні метаболіти входять в системну циркуляцію.
  - Біоеквівалентність: відсутність різниці (у межах заздалегідь визначених критеріїв прийняття) в біодоступності АФІ або його метаболіту (ів) на місці дії при введенні в однаковій молярній дозі при аналогічних умовах у відповідному дослідженні.
  - Біомаса: сирі продукти ферментації, де немає продукту, отриманого в процесі бродіння витягнуті чи очищені; скоріше, отримана ферментаційна суміш, включаючи АФІ ферментаційний бульйон, висушують та використовують як у виробництві лікарських кормів або кормів добавки
  - *Biowaiver*: відмова від вимоги продемонструвати *in vivo* БЕ між тестом і референсним препаратом.
  - Кров: у цьому керівництві використовуються терміни "кров", "плазма" та "сироватка" взаємозамінно.
  - Склад: інгредієнти, а також абсолютні кількості цих інгредієнтів включена в продукт.
  - $C_{max}$ : максимальна (або пікова) концентрація АФІ або його метаболітів (ів) у крові.
  - $C_{min}$ : мінімальна концентрація АФІ або її метаболітів у крові при стабільному Стані за відсутності вимірюваної затримки між введенням препарату і першим виявленням препарату в крові  $C_{min}$  дорівнює  $C_{trough}$ .
  - $C_{trough}$ : Концентрація АФІ або його метаболітів (-ів) у крові у стаціонарному стані безпосередньо перед введенням наступної дози.
  - Форма дозування (фармацевтична форма): Фізична форма дози препарату таблетки, капсули, пасти, розчину, суспензії та ін.
- Примітка. Внаслідок міжнародних розбіжностей те, що вважається "такою ж лікарською формою" в деяких юрисдикціях можна розглядати різні лікарські форми в інших юрисдикціях. Спонсори повинні проконсультуватися з місцевим регулюючим органом щодо цієї юрисдикції інтерпретація того, що можна вважати "такою ж лікарською формою".

- Лікарський препарат (лікарський засіб): готова лікарська форма, яка містить АФІ зазвичай з одним або декількома допоміжними речовинами.
- Константа швидкості елімінації (ке): константа швидкості першого порядку, яка описує виведення ліків з організму. Незважаючи на те, що кількість препарату, виведених у процесі першого порядку, змінюється пропорційно концентрації, частка ліквідації препарату залишається постійною. Константа швидкості елімінації становить, таким чином, частку препарату, видаленого з організму на 1 одиницю часу.
- Енантіомер: пара хіральні ізомери (стереоізомери), які є прямими, незмінними дзеркальними відображеннями один одного. Енантіоспецифічність в фармакокінетиці може виникнути через енантіоселективність в одному або декількох процесах абсорбції, розподілу, метаболізм та екскреції.
- Наповнювач (неактивний інгредієнт): речовина, крім АФІ, яка була належним чином оцінена для безпеки та включена до лікарського препарату, щоб забезпечити його виробництво, захищати, підтримувати або підвищувати стабільність, біодоступність або введення цільовим тваринам, ідентифікувати продукт; або покращити будь-який інший атрибут універсальної безпеки та ефективності лікарського препарату під час зберігання або використання.
- Форму широкого вивільнення: лікарська форма, яка модифікується, щоб забезпечити швидкість вивільнення АФІ у порівнянні з тим, що спостерігається для дозованої форми негайного вивільнення. Цей термін є синонімом довготривалих або стійких дозувальних форм
- Готова лікарська форма: лікарська форма ФРІ, яка призначена для видачі або призначена для тварини і не вимагає подальшого виготовлення чи переробки, крім упаковки та маркування.
- Належна лабораторна практика (GLP): Стандарти якості для проведення неклінічних досліджень лабораторні дослідження та польові випробування. Регіональні стандарти / правила визначаються кожною нормативною юрисдикцією
- Найвища доза: Найвища затверджена доза контрольного продукту, як зазначено на етикетці (зазвичай визначається в одиницях маси на одиницю маси тіла, наприклад, мг / кг). Якщо є затверджений діапазон доз, найвища доза буде найбільшою дозою в цьому діапазоні.
- Лінійна фармакокінетика: Коли концентрація АФІ або його метаболіт (ів) в кров збільшується пропорційно збільшеній дозі, і швидкість елімінації пропорційна до концентрації, вважається, що препарат виявляє лінійну фармакокінетику. Кліренс та об'єм розподілу цих препаратів не залежать від дози.
- Форма модифікованого вивільнення: препарати, де рівень і / або місце елімінації АФІ відрізняється від того, що використовується лікарською формою негайного вивільнення, що вводяться тим самим шляхо. Ця модифікація досягається спеціальним дизайном форми та / або метод виготовлення.
- Лікарські премікси: ветеринарний лікарський засіб, що отримав дозвіл для маркетингу і призначений для перорального введення після його введення в корми для тварин. Лікарський премікс часто складається з АФІ, носія та наповнювача.

- Нелінійна фармакокінетика: На відміну від лінійної фармакокінетики, концентрація АФІ або метаболітів у крові не збільшується пропорційно збільшенню дози. Звільнення та обсяг їх розподілу можуть змінюватися в залежності від призначеної дози. Не лінійність може бути пов'язана з будь-яким компонентом абсорбцією, розподілом та / або процесами виведення.
- Фармакокінетика (ФК): вивчення абсорбції, розподілу, обміну речовин і екскреція АФІ та / або його метаболіту (ів).
- Орієнтовний продукт: препарат, до якого проведено БЕ і в деяких випадках еквівалентність досліджуваного препарату *in vitro* порівнюється.
- Реплікаційний дизайн: дослідження, де принаймні одна з процедура повторюється.
- Відносна біодоступність: біодоступність препарату в порівнянні з іншою формулою того ж препарату, що вводяться екстраваскулярним шляхом.
- Стабільний стан (сс): стан, коли швидкість введення АФІ знаходиться в динамічній рівновазі з швидкістю його елімінації (ліквідацією).
- Стереоізомер: сполуки, що відрізняються лише просторовим розташуванням їх атомів.
- Вміст: кількість АФІ у препараті, виражена у конкретній одиниці вимірювання (наприклад, 10 мг / мл, 25 мг / таблетка).
- Тестовий продукт: лікарський засіб, що використовується для порівняння БЕ з еталонним препаратом.
- $T_{lag}$ : тривалість часу між введенням препарату та появою АФІ в кровоносній системі.
- $T_{max}$ : час до  $C_{max}$ .
- Трансдермальні продукти: дозована форма, призначена для нанесення на шкіру для доставки АФІ для всмоктування через шкіру в кровоносну систему.

#### Посилання:

Hauschke D, Steinijans VW, Diletti E, and Burke M (1992). Sample size determination for bioequivalence assessment using a multiplicative model. *J Pharmacokinet Biopharm.*20:557- 561.