

**РУКОВОДСТВО ПО ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА И ИССЛЕДОВАНИЮ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ЛИПОСОМ, МИЦЕЛЛ И
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, СОДЕРЖАЩИХ ПОКРЫТИЯ ИЗ
НАНОЧАСТИЦ**

Содержание

Оглавление

РАЗДЕЛ 1. Предоставление и оценка данных по липосомальным препаратам для внутривенного введения, разработанным как аналоги оригинальных липосомальных препаратов	4
1.1 Введение.....	4
1.2 Сфера применения	6
1.3. Обсуждение	6
1.3.1. Фармацевтическое качество.....	6
1.3.2. Доклинические и клинические исследования.....	12
1.4. Заключение	22
Глоссарий	22
РАЗДЕЛ 2. Разработка лекарственных препаратов на основе мицелл блок-сополимеров	23
2.1 Введение.....	23
2.2 Сфера применения	26
2.3 Обсуждение	27
2.3.1 Химические свойства, производство и контроль.....	27
2.3.2 Доклинические исследования	36
2.3.3 Вопросы клинических исследований	42
2.4 Заключение.....	44
2.5 Глоссарий.....	44
РАЗДЕЛ 3. Общие вопросы для рассмотрения в отношении лекарственных нанопрепаратов для парентерального введения, покрытых оболочкой.....	45
3.1. Введение	45
3.2. Обсуждение.....	47
3.2.1. Общие положения.....	47
3.2.2. Характеристика препарата	48
3.3. Заключение.....	49
РАЗДЕЛ 4. Предоставление и оценка данных по нанокolloидным препаратам железа для внутривенного введения, разработанным в качестве воспроизведенных	49
4.1. Введение	50
4.2. Предмет.....	52

4.3. Обсуждение	52
4.3.1. Исследование качества.....	52
4.3.2. Доклинические исследования.....	59
4.3.3. Клинические исследования.....	63

РАЗДЕЛ 1. Предоставление и оценка данных по липосомальным препаратам для внутривенного введения, разработанным как аналоги оригинальных липосомальных препаратов

1.1 Введение

Одна из стратегий разработки систем доставки лекарственных препаратов с целью усовершенствования специфичной для каждого заболевания направленности действия, контроля за скоростью высвобождения действующего вещества и (или) получения лекарственной формы, пригодной для клинического применения, заключается во включении (инкапсулировании) действующего вещества (веществ) в водную фазу липосомы или ее встраивание (связывание) в липидный компонент. В классическом определении липосомы — это искусственно созданные везикулы, состоящие из одного или нескольких концентрических липидных бислоев, содержащих в себе одну или несколько водных камер (компарментов). К ним относятся моно- и многоламеллярные липосомы, мультивезикулярные липосомы, липосомы, покрытые полимерной оболочкой.

В любом препарате часть действующего вещества может находиться вне липосом — в свободной форме в основном растворе.

Первые парентеральные липосомальные препараты проявляли ряд критических фармакокинетических свойств, включая быстрое распознавание и элиминацию моноцитарно-фагоцитарной системой (МФС) и преждевременное высвобождение действующего вещества (нестабильность). Также было установлено, что такие физико-химические свойства липосом, как размер частиц, текучесть (жидкость) мембраны, поверхностный заряд, и состав являются значимыми факторами подобного поведения *in vivo*. Свойства некоторых препаратов улучшались после добавления стеролов (например, холестерина), уменьшения размера и модификации поверхности с помощью ковалентного связывания с полимерами (например, полиэтиленгликолем [ПЭГ]).

В противоположность препаратам, в которых действующее вещество находится в форме простого раствора, липосомальные препараты обладают характеристиками распределения после внутривенного введения, зависимиыми от состава и специфики процесса производства. Поэтому аналогичные плазменные концентрации их действующих веществ могут не коррелировать с терапевтической активностью. Даже в случаях явно идентичного состава, изменения в производстве, контроле технологии производства и контроле качества препарата могут приводить к различной терапевтической активности препаратов. Залогом безопасного и эффективного применения нового липосомального препарата является исчерпывающее установление характеристик его стабильности и фармакокинетики (включая распределение в тканях). Это обусловлено тем, что различия между препаратом заявителя и оригинальным препаратом в части стадий процесса производства и состава могут значимо влиять на эффективность/безопасность вследствие изменения взаимодействия липосома–клетка и характеристик распределения липосом, которые невозможно обнаружить с помощью обычных исследований биоэквивалентности. При составлении программы доклинических и клинических исследований липосомальных препаратов, разрабатываемых в качестве аналогов конкретного оригинального препарата, следует учитывать цели разработки последнего, а также данные, обосновывающие его применение.

Липосомальный препарат сравнения, используемый в исследованиях сопоставимости, должен быть зарегистрирован в Евразийском экономическом союзе; его следует использовать в качестве контроля во всех предлагаемых фармацевтических испытаниях показателей качества, а также опорных доклинических и клинических исследованиях сопоставимости.

В настоящем документе рассматриваются принципы оценки липосомальных препаратов, разрабатываемых в качестве аналогов оригинальных липосомальных препаратов, однако в нем отсутствует требование к выбору

какой-либо конкретной аналитической, доклинической или клинической стратегии.

1.2 Сфера применения

Настоящий раздел направлен на содействие получению необходимых данных по качеству, доклиническим и клиническим исследованиям, требуемых для обоснования регистрации внутривенных липосомальных препаратов, разрабатываемых в качестве аналогов оригинальному липосомальному препарату. В связи с этим настоящий документ должен способствовать принятию решения по следующим вопросам:

- фармацевтическим данным, необходимым для подтверждения сопоставимости исследуемого препарата по отношению к препарату сравнения или после изменения липосомального препарата в целях обоснования сопоставимой безопасности и эффективности;
- необходимости проведения доклинических и клинических исследований и обстоятельств, позволяющих отказаться от проведения определенных исследований;
- вопросам дизайна релевантных доклинических исследований *in vivo* и потенциальной роли моделей *in vitro*.

Принципы, изложенные в настоящем разделе, также могут быть применимы к другим новым видам «липосомально-подобных» и везикулярных препаратов, которые могут находиться в разработке, включая вводимые путями, отличными от внутривенного. Системы на основе фосфолипидов, в которых не затрагивается высвобождение действующего вещества, т.е. в которых липидная система служит лишь растворителем действующего вещества, не подпадают под эту категорию и находятся вне сферы применения настоящего документа.

1.3. Обсуждение

1.3.1. Фармацевтическое качество

Критичные показатели качества липосомальных препаратов могут оказывать большое влияние на фармакокинетические и фармакодинамические свойства *in vivo*:

- скорость высвобождения действующего вещества из липосом может влиять на фармакокинетику (ФК) и фармакодинамику (ФД) и, таким образом, на профиль безопасности и эффективности лекарственного препарата;
- связанное действующее вещество может не обладать биологической доступностью и может быть защищено от деградации, а также от метаболизма при нахождении в липосоме
- ФК инкапсулированного вещества может контролироваться ФК носителя (т.е. липосом), на которую влияют физико-химические свойства липосом, физико-химическое состояние инкапсулированного действующего вещества и взаимодействия между компонентами липосомы и биологической средой, или которая определяется ими;
- состав препарата может влиять на поглощение и распределение действующего вещества в тканях.

Перед началом доклинической и клинической разработки следует подтвердить фармацевтическую сопоставимость между регистрируемым препаратом и оригинальным препаратом. Вследствие сложности состава липосомальных препаратов изолированное подтверждение фармацевтической сопоставимости с препаратом сравнения не может заменить собой доклинические и (или) клинические данные, но может служить обоснованием сокращения объема таких исследований. Объем и сложность доклинических и клинических исследований должны определяться результатами исследований сопоставимости на каждой стадии.

1.3.1.1. Установление характеристик качества

Критичным для обеспечения качества липосомального препарата является правильное определение его значимых физико-химических свойств. При подаче досье на всех виды липосомальных препаратов необходимо изучить следующие общие параметры:

- критический анализ липидных компонентов (описание, источник и установление характеристик, производство, количественное определение, профиль примесей, изомеры и характеристики стабильности);
- качество, чистота и стабильность прочих критичных вспомогательных веществ;
- идентификация и контроль ключевых промежуточных продуктов процесса производства;
- соответствие отношения «действующее вещество/липидные компоненты» на значимых стадиях производства допустимому диапазону — в целях обеспечения постоянства функциональных характеристик препарата;
- морфология, средний размер и распределение по размеру липосом, наличие агрегации;
- доля инкапсулированного действующего вещества (отношение свободного к инкапсулированному);
- стабильность действующего вещества, липидов и функциональных вспомогательных веществ в готовом препарате, включая количественное определение критичных продуктов деградации (например, лизофосфатидилхолина, окисленных/гидролизированных фрагментов);
- скорость высвобождения действующего вещества из липосомы *in vitro* в физиологических/клинических значимых средах. Необходимо разработать надежные и обладающие дискриминирующей способностью валидированные методы оценки высвобождения *in vitro* в целях:
- мониторинга имитации высвобождения действующего вещества из липосом в физиологических/клинически значимых средах. При наличии обоснований допустимо испытание на утечку (leakage test) *in vitro* в релевантной среде в различных условиях (например, в диапазоне температур и значений pH);
- мониторинга стабильности при хранении; он должен быть достаточно чувствительным, чтобы обеспечивать постоянство серий;

- исследования стабильности в предполагаемых условиях применения;
- устойчивость процесса восстановления и (или) приготовления в аптеке.

Качество и чистота исходных липидных материалов — основополагающий фактор качества лекарственного препарата, в связи с этим особенно важным является надлежащее установление качественных характеристик и составление спецификаций на липидный исходный материал. Необходимо должным образом проанализировать характеристики, определяющие функциональность, в соответствии со статьей 5.15 Фармакопеи Союза «Функциональные характеристики вспомогательных веществ». Объем представляемых сведений в составе досье зависит от сложности вспомогательных веществ. Необходимо учитывать принципы, изложенные в *Руководстве по вспомогательным веществам в регистрационном досье на лекарственный препарат*. Использование нескольких источников (например, животных, растительных, синтетических) или поставщиков липидных компонентов потребует дополнительного проведения исследований по установлению характеристик и сопоставимости. В зависимости от конкретной функции липосом (например, модификация распределения действующего вещества путем инкапсуляции в целях улучшения профиля безопасности или модификация фармакокинетики липосом посредством пэгилирования), в досье следует также осветить следующие дополнительные параметры:

- поддержание целостности липосомальной готовой формы в плазме;
- характеристика процесса фазового перехода липидного бислоя (например, температура и энтальпия переходов);
- определение «поверхностного» заряда липосом;
- рН внутренней камеры липосом, наполняемых по градиенту рН;

- если значимо, установление характеристик физического состояния действующего вещества внутри липосомы (например, в случае доксорубицина — образование осадка);
- распределение действующего вещества внутри липосомы (например, на поверхности, в бислое, внутренней среде и т.д.);
- в отношении конъюгированных (например, пэгилированных) липосомальных препаратов:
 - качество и чистота пэгилированного исходного материала является основополагающим фактором качества лекарственного препарата;
 - химические сведения о достижении конъюгации (такие как ПЭГ-липиды или аналогичные конструкции с ПЭГ или без него);
 - молекулярная масса конъюгированного липида и распределение по размеру (дисперсность);
 - расположение ПЭГ на поверхности;
 - стабильность конъюгата.

Необходимо определить перечень испытаний, которым планируется подвергать липосомальный препарат рутинно, он должен основываться на параметрах, использованных для характеристики препарата в соответствии с вышеописанным.

1.3.1.2. Установление фармацевтической сопоставимости

Качественный и количественный состав разрабатываемого препарата должен быть идентичным или практически совпадать с препаратом сравнения.

Общепризнано, что заявитель липосомального препарата, разрабатываемого по аналогии с оригинальным препаратом, обычно не имеет доступа к сведениям о процессе производства этого препарата сравнения. Следовательно, в целях получения высокой степени убедительности того, что характеристики сопоставимы, необходимо прибегнуть к обширным испытаниям, используя передовые методы установления характеристик,

проводя их с обоими препаратами параллельно. В эти исследования необходимо включить все значимые испытания, упомянутые в разделе 1.3.1.1.«Установление характеристик качества», подходящих для правильной характеристики исследуемого липосомального препарата и липосомального препарата сравнения, в особенности, влияющих на их функциональные характеристики *in vivo*. Необходимо проанализировать значимость выбранных испытаний для подтверждения эквивалентности функциональных характеристик лекарственного препарата *in vivo*. Все различия между препаратами, обнаруженные в рамках исследований сопоставимости, необходимо принять во внимание и детально оценить и обосновать их с точки зрения влияния на безопасность/эффективность.

Помимо исследований по установлению характеристик, проведенных в нормальных условиях, в целях сравнения физической и химической деградации необходимо провести сравнительные стресс-испытания обоих препаратов.

Все серии препарата сравнения, использованные в исследованиях по установлению характеристик, необходимо подвергнуть анализу в пределах их срока годности, их хранение перед анализом следует осуществлять в рекомендуемых условиях.

1.3.1.3. Фармацевтическая разработка препарата заявителя

В целях обеспечения производства препарата с приемлемым качеством на постоянной основе необходимо располагать хорошо описанным процессом производства с удовлетворительным контролем процесса. Вместе с тем известно, что небольшие изменения в липосомальных препаратах могут существенно повлиять на их функциональные характеристики. Подходы к определению влияния какого-либо изменения процесса производства зависят от конкретного процесса производства, препарата, объема знаний и опыта, полученного производителем в отношении процесса, а также представленных данных по разработке. При изменении процесса производства на этапе разработки, а также на

пострегистрационном этапе (например, при масштабировании) необходимо провести сравнительные исследования (см. раздел 1.3.1.1. «Установление характеристик качества»).

Если результаты физико-химических испытаний свидетельствуют об изменении свойств препарата, могут потребоваться исследования *in vivo*, направленные на подтверждение, что никакие изменения не повлияли на профиль безопасности и эффективности.

Заявителю рекомендуется принять во внимание базовые принципы, изложенные в разделе 1.4 Главы 9.1 Правил исследования биологических лекарственных средств в Евразийском экономическом союзе.

1.3.2. Доклинические и клинические исследования

1.3.2.1. Общие положения

Документация, необходимая для регистрации липосомального препарата, разрабатываемого в качестве аналога оригинального препарата, должна быть достаточно детализирована, чтобы гарантировать обоснованность заключения об эквивалентной эффективности и безопасности по отношению к препарату сравнения. Доклинические исследования, подлежащие проведению перед клиническими исследованиями, как правило, предусматривают сравнительное изучение ФК (включая распределение в тканях), токсикологию и ФД. Однако сложность конкретного липосомального препарата определяет возможность снижения объема сравнительных доклинических исследований и, при наличии такой возможности, исключение конкретных исследований определяется в индивидуальном порядке.

При всесторонней оценке нового липосомального препарата данные, полученные по результатам фармацевтических, доклинических и клинических исследований, следует анализировать как единое целое.

Например, если по результатам доклинических исследований выявлены какие-либо значимые отличия липосомального препарата, разрабатываемого в качестве аналога оригинального препарата, рекомендуется провести

критическую переоценку физико-химических характеристик препарата, чтобы до начала клинических исследований выяснить возможные причины таких отличий. Различия между оригинальным и исследуемым препаратом в данных, полученных в целях обоснования аналогичности препаратов, отвергают подход аналогичности и могут являться источником серьезных регуляторных опасений.

Когда действующее вещество вводится в виде липосомального препарата, обнаруживаются существенные изменения фармакокинетических характеристик: так объем распределения и клиренс могут снижаться, а период полувыведения увеличиваться. Клиренс липосомального действующего вещества зависит от:

1. клиренса самого липосомального носителя,
2. скорости высвобождения связанного действующего вещества из липосомального носителя ,
3. клиренса и метаболизма неинкапсулированного действующего вещества после его высвобождения.

Скорость и место высвобождения действующего вещества *in vivo* — ключевой параметр, влияющий на токсичность и эффективность.

Следовательно, ФК разрабатываемого липосомального препарата следует всегда сравнивать с таковой препарата сравнения. Применимы лишь некоторые аспекты традиционного подхода к изучению биоэквивалентности, а в некоторых случаях необходимо вводить дополнительные требования, определяемые в индивидуальном порядке.

В сравнительных фармакокинетических исследованиях необходимо подтвердить не только аналогичность общей экспозиции неинкапсулированного и инкапсулированного в липосому действующего вещества (ниже указаны аналиты, подлежащие определению в доклинических и клинических исследованиях), с помощью них необходимо также подтвердить аналогичность параметров распределения и клиренса.

1.3.2.2. Методы анализа

Помимо традиционных методов определения общего содержания действующего вещества и его метаболитов в крови/плазме и тканях, в целях сравнения с липосомальным препаратом сравнения потребуется разработать и валидировать аналитические методы количественного определения инкапсулированного и неинкапсулированного действующего вещества в крови/плазме и неинкапсулированного действующего вещества в тканях. Раздельное количественное определение неинкапсулированного и инкапсулированного действующего вещества обуславливает необходимость использования методологий разделения, которые в целях проверки их надежности требуют особого внимания. В каждом образце крови/плазмы в целях независимой проверки надежности методологии разделения необходимо определить общее содержание действующего вещества без разделения его на инкапсулированное и неинкапсулированное. Несмотря на выполнимость количественного определения неинкапсулированного, инкапсулированного и суммарного действующего вещества в крови/плазме, признается, что процесс обработки тканей, вероятнее всего, приведет к разрушению липосом. При определении содержания неинкапсулированного действующего вещества в тканях следует особо тщательно подойти к выделению неинкапсулированного действующего вещества до процедур обработки тканей, которые, вероятнее всего, приведут к разрушению липосом. В ходе разработки метода необходимо уделить особое внимание влиянию всех процедур пробоподготовки, прибегая к методологиям верификации пригодности и интерпретируемости всех биоаналитических результатов.

Необходимо описать методы анализа, используемые для количественного определения действующего вещества (суммарного, неинкапсулированного и инкапсулированного) и метаболитов в плазме и тканях и их валидацию. Необходимо указать нижние пределы количественного определения и извлечения действующего вещества из

плазмы, тканей и, если применимо, отдельных интересующих тканей, например, опухолевых.

1.3.2.3. Доклинические исследования

Доклинические фармакодинамические исследования

Доклинические фармакодинамические исследования должны предусматривать:

- по возможности, разработку *in vitro* испытаний, способных охарактеризовать любое взаимодействие между липосомами и клетками-мишенями или иными клетками, взаимодействие с которыми токсикологически значимо. Несмотря на наличие возможности охарактеризовать фармакодинамический профиль только с помощью этих исследований, признается, что текущий объем знаний об испытаниях *in vitro* ограничен и на сегодняшний день высока вероятность того, что потребуется проведение исследований *in vivo*;
- подтверждение аналогичности фармакодинамического ответа с использованием надлежащих *in vivo* моделей и при разных выбранных дозах с учетом чувствительности модели.

Доклинические фармакокинетические исследования

Некоторые фармакокинетические параметры липосомальных препаратов с позиции их функциональных характеристик у человека можно спрогнозировать на животных и, если применимо, — моделях на основе клеток. Однако выбор релевантных видов животных и моделей в целях изучения высвобождения действующего вещества из липосом *in vivo* необходимо обосновать, уделяя отдельное внимание таким областям, как кумуляция и удержание в органах-мишенях, фармакокинетика и распределение. Помимо системной экспозиции, необходимо подтвердить аналогичность распределения и элиминации. Эти исследования дают опорное подтверждение сопоставимости ФК липосомальных лекарственных препаратов, поскольку невозможно получить полную картину распределения у человека, опираясь только на данные по крови/плазме. По этой причине

исследования необходимо проводить в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) на видах животных, подходящих с точки зрения фармакологии и безопасности препарата. Исследуемый препарат необходимо произвести с помощью окончательного процесса производства, оптимально использовать ту же серию, которая будет изучена в опорных клинических исследованиях. Необходимо тщательно продумать выбор временных точек и продолжительности взятия образцов, чтобы можно было точно количественно определить динамику изменения концентрации неинкапсулированного и суммарного содержания действующего вещества и метаболита в тканях, уравнивая необходимость количественного определения раннего высвобождения действующего вещества из липосом (например, в течение первых 15 минут) с необходимостью изучения персистенции действующего вещества в определенных тканях. Если из аналитических соображений свободную концентрацию измерить невозможно, необходимо предпринять попытки сравнения концентрации метаболитов в органах-мишенях. Поскольку такие исследования предполагают разрушение образцов при отборе, число животных, подлежащих включению в исследование, зависит от числа временных точек отбора образцов, вариабельности тканевого распределения действующего вещества между особями и вариабельности, обусловленной проведением эксперимента (иссечение ткани, взвешивание, гомогенизация и пробоподготовка, а также биоаналитические источники вариабельности). Тщательный выбор времени отбора образцов повысит прецизионность получаемых результатов. Во избежание неудачных опорных исследований и неинтерпретируемости их результатов, в целях установления правильных доз, необходимой стратегии взятия образцов и числа используемых животных рекомендуется проводить пилотные исследования. К анализируемым тканям следует отнести ткани, определяющие безопасность и эффективность препарата, а также ткани, участвующие в значительном процессинге/элиминации липосом.

В связи с ограниченностью опыта проведения таких исследований невозможно дать конкретные критерии сопоставимости распределения действующего вещества в тканях. Рекомендуется использовать повторные (репликативные) дизайны исследований, в которых репликативно вводится по меньшей мере препарат сравнения, иначе любые различия между исследуемым препаратом и препаратом сравнения не поддадутся интерпретации. В целях снижения вариабельности результатов следует предусмотреть использование правильно выбранного внутреннего стандарта. Полученные данные следует представлять различными способами, в том числе приводя различия в фармакинетических параметрах и отношения фармакокинетических параметров между препаратами, а также визуальные сравнения профилей «концентрация–время» для каждого вида ткани и для каждого аналита. Все оценки и способы представления данных необходимо сопровождать вычислением неопределенности, например, доверительными интервалами. Необходимо проанализировать клинические последствия всех выявленных различий в распределении действующего вещества в тканях между исследуемым препаратом и препаратом сравнения.

Доза, подлежащая изучению

В обоснование аналогичной фармакокинетики могут потребоваться исследования с однократным и многократным введением нескольких уровней доз. При выборе доз следует исходить из концентрации в крови у человека при введении терапевтических доз. В целях установления правильной дозы рекомендуется использовать аллометрические уравнения и ФКОФ-моделирование (PBPK modelling).

Аналиты, подлежащие определению

Необходимо изучить кинетику (включая тканевое распределение и экскрецию) как неинкапсулированного действующего вещества, так и инкапсулированного, если это выполнимо.

Токсикологические исследования

Токсикологические исследования, в целом, могут не потребоваться. Вместе с тем, в зависимости от исхода изучения фармацевтической сопоставимости и характера токсичности препарата в целях обоснования эквивалентности в контексте известной токсичности для органов-мишеней могут потребоваться испытания функций органов, например, в случае подозрения на кардиотоксичность может оказаться целесообразным такое функциональное испытание, как оценка функции сердца путем измерения конечно-диастолического давления в левом желудочке у крыс.

В целях оценки потенциала развития нежелательных явлений необходимо предусмотреть использование *in vitro* и *in vivo* испытания на иммунную реактогенность, такие как определение активации комплемента (и (или) макрофагов/базофилов) и испытание на обусловленную активацией комплемента псевдоаллергию (ОАКПА, CARPA) на чувствительных моделях животных.

1.3.2.4. Клинические исследования

Сравнительные фармакокинетические исследования

Доза, подлежащая изучению

Фармакокинетические свойства нередко зависят от дозы, поэтому в отсутствие подтверждения линейности новый препарат и препарат сравнения следует сравнивать в рекомендуемом диапазоне доз. В отсутствие надлежащих литературных данных заявляемую линейность потребуются подтвердить для инкапсулированного, неинкапсулированного и суммарного действующего вещества.

При нелинейности достаточно подтверждения биоэквивалентности для наибольшей и наименьшей доз, даже если различные дозы применяются при разных показаниях. В таких случаях дополнительные клинические исследования не требуются. В некоторых случаях из этических или иных соображений некоторые дозы невозможно изучить в исследованиях биоэквивалентности. В этих случаях оценка терапевтической

эквивалентности по каждому показанию к применению требует индивидуального подхода.

Вопросы дизайна исследований

Здоровые добровольцы могут плохо переносить действующее вещество. В этом случае фармакокинетическое исследование можно провести у пациентов. Если исследование с однократным дозированием у пациентов невыполнимо, допустимо проведение фармакокинетических исследований с многократным введением доз.

Аналиты, подлежащие определению

Валидированный биоаналитический метод должен позволять надежное количественное определение суммарного, инкапсулированного и неинкапсулированного действующего вещества. Поскольку метаболизм действующего вещества начинается только после его высвобождения из липосом, количественное определение по меньшей мере одного метаболита, независимо от его фармакологической активности, может способствовать оценке и сравнению скорости высвобождения действующего вещества из липосомального препарата. При наличии нескольких метаболитов, при выборе одного из них следует руководствоваться кинетическими соображениями. Если один или несколько метаболитов обладают значимой клинической активностью, может потребоваться также сравнение и их кинетики.

Фармакокинетические параметры, подлежащие определению и документированию

Изученные фармакокинетические параметры суммарного, инкапсулированного и неинкапсулированного действующего вещества должны обеспечить сравнение скорости, с которой действующее вещество высвобождается из липосом, поскольку она будет определять начало и продолжительность терапевтического эффекта. Вместе с тем такие стандартные фармакокинетические параметры, как AUC и C_{max} , могут недостаточно характеризовать скорость высвобождения в тканях-мишенях. В

связи с этим в целях описания других фармакокинетических процессов, например, распределения и элиминации, в дополнение к скорости и степени высвобождения необходимо представить данные об изучении дополнительных фармакокинетических параметров. Если это значимо, необходимо сравнить скорость и степень экскреции действующего вещества в мочу.

В целях обеспечения сопоставимости раннего клиренса ретикуло-эндотелиальной системой необходимо предусмотреть ранние временные точки отбора образцов во время и немедленно после завершения инфузии препарата.

Если скорость элиминации неинкапсулированного и инкапсулированного действующего вещества различается, что характерно для липосом с более длительным высвобождением действующего вещества, необходимо представить дополнительные фармакокинетические параметры, такие как клиренс, объем распределения, терминальный период полувыведения и частичные AUC (например, 0–24 ч, 24–48 ч и т.д.). Эти параметры необходимо оценить описательно. Это может потребовать дальнейшей характеристики целостности липосом и их захвата периферическими тканями/ретикулоэндотелиальной системой. Кроме того, можно предусмотреть дополнительные описательные параметры, например, межкамерный клиренс и объем периферической и центральной камеры.

Рекомендуется определять динамику отношения концентрации неинкапсулированного и инкапсулированного действующего вещества.

Критерии приемлемости

Необходимо подтвердить аналогичность концентрации суммарного, инкапсулированного и неинкапсулированного действующего вещества. Доверительные интервалы для отношений C_{\max} , AUC_{∞} и AUC_t должны, как правило, укладываться в диапазон 80–125 %. В отдельных случаях к дополнительным параметрам относят частичные AUC или критерии приемлемости для фармакокинетических параметров метаболита.

Оценка эффективности

Необходимость проведения клинического(их) исследования(ий) эффективности, в дополнение к обязательным клиническим фармакокинетическим исследованиям, как правило, определяется в индивидуальном порядке, в зависимости от способности доклинических моделей и клинических фармакокинетических данных обнаруживать различия между -+оригинальным липосомальным препаратом и препаратом, разрабатываемым с ним по аналогии, а также сложности состава.

Если препараты различаются по качественному составу, высоко вероятно, что потребуются дополнительные исследования терапевтической эквивалентности. В качестве примера необходимости проведения клинических исследований, включая исследования терапевтической эквивалентности, являются случаи соединения полимеров с липидами с помощью различных способов связывания. Вместе с тем, вследствие относительной нечувствительности клинических исследований к обнаружению различий, обусловленных различиями в составах препаратов, этот подход не является предпочтительным. В связи с этим, при разработке липосомального препарата как аналога оригинальному препарату необходимо предпринять все возможные усилия по подтверждению эквивалентности фармацевтического качества препаратов и аналогичности в доклинических фармакокинетических и фармакодинамических, а также клинических фармакокинетических исследованиях. Различия между оригинальным и исследуемым препаратом, обнаруженные в данных, полученных в обоснование аналогичности препарата, будут противоречить подходу аналогичности, и могут быть источником серьезных регуляторных опасений.

Вопросы безопасности

Относительно распространены острые инфузионные реакции на липосомальные препараты. Однако ожидается, что частота таких нежелательных реакций будет сопоставимой, если только исследуемые

препараты не различаются по качественному составу (например, различные вспомогательные вещества) или методам производства. Однако в настоящем разделе рекомендуется, чтобы качественный и количественный состав разрабатываемого препарата был идентичен или максимально совпадал с препаратом сравнения. Вместе с тем в целях минимизации частоты развития острых инфузионных реакций требуется проводить *in vitro* и *in vivo* испытания на иммунную реактогенность, рассмотренные в разделе по токсикологическим исследованиям. При наличии какого-либо признака, что новый липосомальный препарат может приводить к повышенному риску развития этих реакций, следует проанализировать разработку препарата с целью выяснения их причин. Более того, инфузионные реакции необходимо тщательно оценить в исследованиях биоэквивалентности и, снова, при выявлении каких-либо различий следует проанализировать сведения и данные по разработке препарата. Не предполагается, что на момент регистрации потребуются полномасштабные клинические исследования, однако клиническую безопасность аналогичных липосомальных препаратов следует строго отслеживать в соответствии с действующим законодательством Союза, включая Правила надлежащей практики фармаконадзора.

1.4. Заключение

Опыт разработки липосомальных препаратов как аналогов оригинальным препаратам ограничен. Как следствие, в настоящем разделе приведены лишь общие рекомендации, в связи с чем по частным вопросам относительно требований к данным при подтверждении сопоставимости липосомальных препаратов компаниям возможно обращаться за специализированной научной консультацией.

Глоссарий

Связанное или инкапсулированное действующее вещество (*entrapped or encapsulated active substance*) – действующее вещество, находящееся внутри

липосомы и отделенное от биологической матрицы одной или более липидной мембраной.

Несвязанное, неинкапсулированное или свободное действующее вещество (unentrapped, unencapsulated or free active substance) – действующее вещество, находящееся вне липосомы. В контексте настоящего раздела свободная концентрация равнозначна концентрации несвязанного (неинкапсулированного) действующего вещества, независимо от того, связано ли действующее вещество с плазменными или иными тканевыми белками.

Общая концентрация действующего вещества (total concentration of active substance) – суммарная концентрация связанного с липосомами и несвязанного (неинкапсулированного) с липосомами действующего вещества;

«Текучесть мембраны» (membrane fluidity) – способность большей части липидов и белков, входящих в состав мембраны, диффундировать в пределах ее липидного бислоя.

РАЗДЕЛ 2. Разработка лекарственных препаратов на основе мицелл блок-сополимеров

2.1 Введение

Возник большой интерес к разработке технологий доставки лекарств с целью обеспечения улучшенной доставки малорастворимых, высокотоксичных и (или) нестабильных лекарств, для повышения адресной тканевой доставки и (или) повышения эффективности цитозольной доставки макромолекулярных лекарств. Одной из разрабатываемых стратегий является использование блок-сополимерных мицелл. Блок-сополимерные мицеллы — это самоорганизующиеся мицеллы, которые, как правило, получают из АВ-блок-сополимеров. Предложены другие более сложные композиции. Действующее вещество погружают во внутреннее ядро блок-сополимерного мицеллярного препарата посредством химической конъюгации или физического захвата. Блок-сополимеры с амфифильными свойствами

спонтанно организуются в полимерные мицеллы в водной среде; подобная самоорганизация, как правило, происходит за счет гидрофобных взаимодействий. Вместе с тем для стимулирования мицеллообразования и повышения стабильности мицелл можно использовать другие движущие силы. Например, электростатические взаимодействия между заряженными блок-сополимерами и противоположно заряженными действующими веществами, образование комплексов полимер–металл и водородные связи. В отдельных случаях возможно придание системе дополнительных функциональных свойств, например, за счет прицельной конъюгации молекул с блок-сополимером или за счет добавления другого гомополимера или дополнительного стабилизатора для стабилизации мицеллы, для модификации скорости высвобождения и (или) для повышения нагрузки действующего вещества. Действующее вещество любого препарата может находиться частично в свободном состоянии (т.е. не погруженным в мицеллу) в общей массе раствора.

Необходимо подчеркнуть, что блок-сополимерные мицеллярные препараты (описанные выше) имеют тщательно спланированную структуру: их внутреннее ядро, как правило, служит резервуаром действующего вещества и окружено наружной оболочкой из гидрофильных полимеров. Такие блок-сополимерные мицеллы можно наделить дополнительными химическими свойствами, чтобы обеспечить их высокую стабильность после разведения при введении вследствие низкой критической концентрации ассоциации (кка), оптимизировать фармакокинетику (ФК) (адресная доставка) и контроль высвобождения лекарства и т.д. Таким образом, можно обеспечить медленную кинетическую диссоциацию таких блок-сополимерных мицелл. Эти свойства отличны от традиционных сурфактантных мицелл, используемых для захвата/солюбилизации/облегчения транспорта лекарств. Более того, блок-сополимерный мицеллярный препарат в своем ядре может содержать

дополнительные компоненты, включая химически связанное действующее вещество, которое в определенных случаях может быть ковалентно связано.

Кроме того, в доклинических исследованиях показано, что блок-сополимерные мицеллы способны преимущественно накапливаться в солидных опухолях вследствие сверхпроницаемости микрососудистого русла и нарушения лимфатического дренажа (называемых эффектом повышенной проницаемости и удержания (EPR)) в них. Отдельные физико-химические свойства блок-сополимерных мицелл, такие как их размер, поверхностный заряд, состав и стабильность, могут быть важными параметрами безопасности и эффективности при всех предлагаемых назначениях.

В настоящее время в доклинической и клинической разработке находятся несколько блок-сополимерных мицеллярных препаратов, например, препараты, содержащие противоопухолевые средства или белки. Поскольку блок-сополимерные мицеллярные препараты имеют наноразмеры, содержат несколько компонентов и прицельно спроектированы для конкретного клинического применения, их можно рассматривать в качестве нанолекарств.

В настоящем Руководстве рассматриваются общие принципы оценки блок-сополимерных мицеллярных препаратов, однако оно не предписывает какую-либо конкретную стратегию оценки качества, доклинических или клинических характеристик.

В соответствующих случаях оно неразрывно связано со следующими нормативн-правовыми актами и руководствами:

- Требования к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций Евразийского экономического союза
- Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (главы 6, 9)
- Руководство по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата

- Руководство по фармацевтической разработке лекарственных средств

- ICH Разработка и производство лекарственных веществ (химические соединения и биотехнологические/биологические соединения)

Q11

- Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов (ЕЭК, проект) - ICH M3(R2)

- ICH Руководства по токсикокинетике и фармакокинетике S3A и S3B

- ICH Длительность испытания хронической токсичности у животных (испытание токсичности на грызунах и не грызунах) S4

- ICH Доклиническая оценка безопасности биотехнологических лекарственных препаратов S6(R1)

- ICH Исследования фармакологической безопасности лекарственных препаратов для медицинского применения S7A

- ICH Доклиническая оценка потенциала замедлять реполяризацию желудочков (удлинять интервал QT) лекарственными препаратами для медицинского применения S7B

- ICH Исследования иммунотоксичности лекарственных препаратов для медицинского применения S8

- ICH Доклиническая оценка противоопухолевых лекарственных препаратов S9

2.2 Сфера применения

- Настоящий раздел содержит базовые сведения о фармацевтической разработке, а также доклинических и ранних клинических исследованиях блок-сополимерных мицеллярных лекарственных препаратов, созданных для *in vivo* модификации ФК, стабильности и распределения погруженных или конъюгированных действующих веществ. Несмотря на то что основное

внимание уделяется препаратам для внутривенного введения, принципы, изложенные в настоящем Руководстве, также допускается применять к блок-сополимерным мицеллярным лекарственным препаратам, разработанным для других путей введения. Действующее вещество может быть низкомолекулярным химическим соединением, нуклеиновой кислотой или биологическим либо биотехнологическим соединением, включая, например, пептиды и белки.

- В силу сложности системы, независимо от химической связанности действующего вещества и (или) использования дополнительных стабилизаторов, рекомендуется наладить ранний диалог с регуляторами для обсуждения потенциальных критичных показателей каждого блок-сополимерного мицеллярного препарата. Во время этого диалога спонсорам рекомендуется согласовывать новые появляющиеся методы для характеристики качественных и доклинических свойств, значимых для предлагаемого клинического назначения.

- Настоящий документ неразрывно связан с руководствами ИСН (перечисленными выше)¹.

2.3 Обсуждение

2.3.1 Химические свойства, производство и контроли

2.3.1.1 Фармацевтическое качество

Необходимо определить критичные показатели качества блок-сополимерных мицеллярных препаратов, которые будут оказывать большое влияние на *in vivo* ФК- и фармакодинамические (ФД) свойства, способные повлиять на безопасность и эффективность. Для обеспечения качества блок-сополимерного мицеллярного препарата критически важно правильно определить параметры, определяющие его значимые физико-химические свойства.

¹ Пострегистрационные вопросы не обсуждаются. В настоящем письме также не рассматриваются лекарственные препараты, в которых блок-сополимеры используются в качестве покрытия для наночастиц других материалов, таких как гомополимеры или металлы.

В следующих подразделах будут рассматриваться дополнительные параметры, которые могут оказаться критичными для показателей качества блок-сополимеров.

2.3.1.2 Описание и состав

Типичными компонентами блок-сополимерных мицеллярных препаратов являются действующее вещество, блок-сополимер и, в определенных случаях, другие компоненты, такие как стабилизаторы.

Необходимо тщательно определять критичные показатели качества блок-сополимерных мицеллярных препаратов, исходя из свойств конкретного препарата. Особо важными могут оказаться:

- содержание блок-сополимера и действующего вещества в блок-сополимерном мицеллярном препарате. Их необходимо указывать как в молярном отношении, так и по массовой доле каждого;
- состав, средняя молекулярная масса и полидисперсность полимеров (гомополимеры, сополимеры и т.д.), используемых для синтеза блок-сополимеров (или конъюгатов «блок-сополимер–действующее вещество»);
- состав, средняя молекулярная масса и полидисперсность блок-сополимеров, используемых для создания блок-сополимерной мицеллы.

Необходимо всесторонне обосновать все приведенные диапазоны.

2.3.1.3 Установление характеристик качества

Ниже приведены типичные примеры свойств, определяемых:

Компонентами, содержащими блок-сополимеры

Химический состав блок-сополимеров сильно влияет на движущую силу, лежащую в основе самоорганизации полимера и, следовательно, характеристик размеров и физико-химических характеристик, а также *in vitro* и *in vivo* стабильности образующихся мицелл. Ключевыми свойствами являются:

- химическая структура блок-сополимеров;
- химическая природа и стабильность химической связи в случае конъюгата «блок-сополимер–действующее вещество»;

- профиль примесей (например, макромолекулярных примесей).

Блок-сополимерными мицеллярными препаратами

Свойства, значимые для установления характеристик готового препарата, разнообразны и включают в себя:

Свойства, опосредованные блок-сополимерной мицеллой

- размер блок-сополимерной мицеллы (среднее значение и профиль распределения);
- морфология;
- зета-потенциал;
- остальные поверхностные свойства (например, лиганд для таргетирования);
- ассоциационное (агрегационное) число;
- концентрационная зависимость наноструктуры (в некоторых случаях ее иногда выражают в виде критической концентрации мицеллообразования (ккм) или критической концентрации ассоциации (кка). Следует отметить, что у некоторых блок-сополимеров эти параметры очень низкие и не поддаются определению с использованием современных аналитических методов);
- лекарственная нагрузка;
- свойства поверхности;
- химическая структура;
- физическое состояние фармацевтической субстанции;
- *in vitro* стабильность блок-сополимерной мицеллы в плазме и (или) значимой среде;
- *in vitro* высвобождение действующего вещества из блок-сополимерного мицеллярного препарата в плазме и (или) значимой среде;
- *in vitro* деградация блок-сополимера в плазме и (или) значимой среде.

Свойства, опосредованные процессом производства:

- валидированный процесс восстановления;
- валидированный процесс обеспечения стерильности.

Свойства, обусловленные *in vivo* поведением:

- осмолярность;
- доля действующего вещества, связанная (ассоциированная) с поверхностью;
- скорость и место высвобождения действующего вещества;
- скорость и место деградации блок-сополимера.

С целью прогнозирования *in vivo* стабильности необходимо разработать надежные и дискриминирующие валидированные методы *in vitro* высвобождения, позволяющие моделировать высвобождение действующего вещества из блок-сополимерной мицеллы в физиологически/клинически значимых средах. Необходимо в достаточной степени подтвердить ценность подобного высвобождения лекарства *in vitro* в качестве испытания для контроля качества. Вместе с тем признается, что не всегда удается установить *in vitro-in vivo* корреляцию.

Если блок-сополимерный компонент (а не действующее вещество) обладает собственной биологической активностью, которая будет оказывать влияние на клиническую эффективность и (или) безопасность, в рамках установления характеристик необходимо оценить его активность и физико-химические свойства, критичные для его биологической активности.

Заявитель обязан определить перечень валидированных испытаний, подлежащих использованию на рутинной основе в отношении блок-сополимерного мицеллярного препарата, он должен основываться на параметрах, выбранных для характеристики лекарственного препарата, включая описанные выше, сообразно обстоятельствам.

Разработка дискриминирующих биорелевантных методов *in vitro* высвобождения важна для целей:

- определения высвобождения действующего вещества или конъюгата «блок-сополимер–действующее вещество» из блок-сополимерной мицеллы во время его циркуляции;

- определения высвобождения действующего вещества или конъюгата «блок-сополимер–действующее вещество» из блок-сополимерной мицеллы в целевом участке действия. Предлагаемые среды должны отражать физиологическое окружение блок-сополимерной мицеллы во время ее применения;

- определения стабильности при хранении.

Используемые методы должны быть достаточно чувствительными для обеспечения постоянства серий.

Ее особенно важно отслеживать в случае конъюгата «блок-сополимер–действующее вещество».

2.3.1.4 Процесс производства и контроль процесса

Для обеспечения получения на постоянной основе приемлемого препарата необходимо располагать устоявшимся процессом производства и связанными с ним контролями. Известно, что небольшие изменения блок-сополимерных мицеллярных препаратов способны значительно влиять на их функциональные характеристики.

- Для обеспечения постоянства функциональных характеристик препарата с позиций его безопасности и эффективности необходимо контролировать процесс производства. Необходимо представить данные, свидетельствующие о постоянстве качества и контролей критичных стадий. Помимо сведений, рекомендованных в Руководстве по фармацевтической разработке лекарственных средств, ниже приведены рекомендации, специфичные для блок-сополимерных мицеллярных препаратов.

Компоненты, содержащие блок-сополимеры и (или) конъюгаты «блок-сополимер–действующее вещество»

Необходимо представить подробное описание процесса синтеза, экстрагирования и процедур очистки согласно обстоятельствам.

Необходимо представить источник и спецификации на все исходные материалы. В частности, необходимо четко описать молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение полимерных исходных материалов. Необходимо четко перечислить такие примеси, как производственные примеси и побочные продукты макромолекулярных реакций.

Необходимо определить и контролировать ключевые промежуточные продукты процесса производства.

- Биотехнологические соединения и (или) соединения биологического происхождения, используемые в качестве исходных материалов или действующего вещества, должны соответствовать требованиям, предъявляемым к их медицинскому применению, содержащимся в Правилах проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза.

Для определения влияния изменения процесса производства, например, изменения его масштаба, необходимо провести тщательную оценку всех прогнозируемых последствий для препарата, включая валидацию/оценку процесса.

Блок-сополимерные мицеллярные препараты

В процессе производства блок-сополимерных мицеллярных препаратов критичным является процесс мицеллообразования. Если образование мицелл происходит спонтанно, процесс мицеллообразования будет соответствовать процессу диспергирования блок-сополимера. Если для мицеллообразования нужны другие методы, необходимо контролировать критичные показатели качества, обусловленные процессом (например, размер мицелл и прозрачность раствора).

Блок-сополимерные мицеллярные препараты содержат высоко функциональные полимеры, поэтому для определения их качества одних лишь испытаний конечного продукта недостаточно. В связи с этим настоятельно рекомендуется осуществлять соответствующий контроль

качества промежуточных продуктов (т.е. блок-сополимера) и (или) процесса производства на основании концепции проектирования качества-

2.3.1.5 Спецификация препарата

- Относительно составления приемлемой спецификации на блок-сополимерный мицеллярный препарат (см. Руководство по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата), заявителю рекомендуется вступить в ранний диалог с регуляторами. Могут потребоваться дополнительные испытания, специфичные для блок-сополимерных мицеллярных препаратов.

Компоненты, содержащие блок-сополимеры

Необходимо представить подробное описание испытаний, методик и критериев приемлемости блок-сополимеров и (или) конъюгатов «блок-сополимер–действующее вещество». Необходимо выполнить оценку сополимера, например, его среднюю молекулярную массу или ее распределение. Необходимо также определить состав каждого компонента.

Блок-сополимерные мицеллярные препараты

Поскольку лекарственные препараты, основанные на блок-сополимерах, являются функциональными полимерными структурами, необходимо определить критичные показатели качества для функций, значимых для целевого назначения. К таким показателям относятся размер частиц, скорость высвобождения действующего вещества из мицеллы и активность действующего вещества, если оно является биотехнологическим/биологическим. При наличии необходимо обосновать состав относительно среднего числа молекул таргетирования, конъюгированных с полимерной мицеллой с целью содействия активной адресной доставке.

- Необходимо отметить, что блок-сополимерные мицеллярные препараты могут представлять собой смесь блок-сополимерных мицелл и блок-сополимерных юнимеров (связанных или несвязанных с действующим веществом) в зависимости от используемых индивидуальных характеристик

блок-сополимеров, действующего вещества и условий испытаний. В связи с этим аналитические испытания необходимо проводить с учетом формы препарата, в соответствующих условиях испытаний и используя соответствующие методики. Необходимо тщательно подбирать испытуемую концентрацию, поскольку разведение блок-сополимерных мицеллярных препаратов может приводить к диссоциации мицелл и образованию повышенной доли юнимеров.

- Анализ подлинности и чистоты должен принимать во внимание как действующее вещество, так и блок-сополимеры. Необходимо оценить примеси, включая возможные побочные продукты синтеза макромолекул. Нежелательные агрегаты, преципитаты и продукты деградации также рассматриваются в качестве примесей.

- Активность, если действующее вещество является биотехнологическим/биологическим соединением.

Другие показатели:

- физико-химические свойства блок-сополимерных мицеллярных препаратов, признанных в качестве критичных для качества препарата. Вместе с тем включать все испытания на установление характеристик в спецификацию не требуется (см. раздел 3.1.3 по физико-химическим характеристикам блок-сополимерных мицелл);

- количественное определение инкорпорированного (или конъюгированного) и неинкорпорированного (или неконъюгированного) действующего вещества;

- количественное определение блок-сополимеров или массовой доли действующего вещества.

Стабильность необходимо рассматривать в контексте предлагаемого клинического применения и обосновывать в спецификации.

2.3.1.6 Стабильность

К планированию исследований стабильности блок-сополимерных мицеллярных препаратов применяются принципы Требований к

исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций Евразийского экономического союза, главы 8 Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза

Исследования стабильности, в целом, должны быть нацелены на физическую и химическую стабильность действующего вещества, блок-сополимеров (и, при наличии, конъюгатов «блок-сополимер–действующее вещество») и образующихся мицелл. К типичным оцениваемым показателям относятся (но не ограничиваются ими):

Физическая стабильность:

- средний размер блок-сополимерной мицеллы;
- высвобождение инкорпорированного (или конъюгированного) действующего вещества;
- вторичная агрегация.

Химическая стабильность:

- стабильность действующего вещества;
- стабильность компонентов блок-сополимеров (например, деградация полимеров);
- стабильность конъюгатов «блок-сополимер–действующее вещество» при их наличии.

Необходимо использовать *in vitro* методы, включая условия, значимые для предлагаемого применения, для определения:

- скорости высвобождения действующего вещества, заключенного в блок-сополимерные мицеллы;
- скорости высвобождения действующего вещества, химически связанного с блок-сополимерными мицеллами.

2.3.1.7 Изменения производства во время разработки

В случае изменений критических параметров процесса производства или оборудования, используемого в производстве, может в индивидуальном

порядке потребоваться полное установление характеристик блок-сополимерного мицеллярного препарата. Подходы к определению влияния каждого изменения процесса варьируют в зависимости от конкретного процесса производства, препарата, объема знаний и опыта производителя относительно процесса и представленных данных о разработке.

- Также необходимо предусмотреть применение принципов оценки исследований сопоставимости препаратов до и после изменений, внесенных в процесс производства, аналогично разработанным в отношении биологических лекарственных препаратов. Принципы исследований сопоставимости изложены в Правилах проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза.

2.3.2 Доклинические исследования

2.3.2.1 Общие вопросы

При введении действующего вещества в виде блок-сополимерного мицеллярного препарата могут происходить существенные изменения его фармакокинетических характеристик, например, могут измениться объем распределения и клиренс, удлиниться его период полувыведения измениться тканевое распределение. Если действующее вещество вводится в виде блок-сополимерного мицеллярного препарата, могут измениться не только его ФК-характеристики, но также его ФД и безопасность. Более того, отмечено, что некоторые блок-сополимеры (не содержащие действующего вещества) могут проявлять собственную биологическую активность, которая будет оказывать влияние на клиническую эффективность и (или) безопасность. Клеточный захват действующего вещества, заключенного в блок-сополимерную мицеллу, может быть ограничен эндоцитозом.

ФК-характеристики блок-сополимерного мицеллярного препарата могут зависеть от:

- скорости клиренса блок-сополимерной мицеллы, содержащей заключенное в себе или химически связанное действующее вещество;

- скорости диссоциации блок-сополимерной мицеллы. Это может приводить к высвобождению блок-сополимерных юнимеров (связанных или не связанных с действующим веществом), которые будут иметь меньшую молекулярную массу (меньшие размеры), проявляя другие характеристики клиренса;
- скорости высвобождения действующего вещества, заключенного в блок-сополимерную мицеллу;
- скорости высвобождения действующего вещества, химически связанного с блок-сополимерным юнимером;
- скорости деградации блок-сополимера;
- клиренса и метаболизма свободного действующего вещества;
- распределения блок-сополимерной мицеллы;
- взаимодействия блок-сополимерной мицеллы с плазменными или сывороточными белками либо клетками крови.

Скорость и место *in vivo* высвобождения действующего вещества является ключевым параметром, часто определяющим токсичность и эффективность. Необходимо предпринимать усилия по разработке методологии, необходимой для определения характеристик высвобождения действующего вещества.

Все доклинические исследования необходимо проводить, используя хорошо охарактеризованный блок-сополимерный мицеллярный препарат; для выбранных условий испытаний должны быть известны скорость диссоциации мицелл и стабильность препарата.

2.3.2.2 Доклиническая фармакокинетика

Аналитические методы

Необходимо разработать валидированные аналитические методики, способные определять концентрации действующего вещества как общей, так и свободной формы в крови, плазме или сыворотке, а также общей концентрации действующего вещества в органах и (или) тканях.

Фармакокинетика

Поскольку ФК-поведение блок-сополимерных мицеллярных препаратов может сильно отличаться от такового действующего вещества, вводимого без блок-сополимерного мицеллярного носителя, что способно существенно влиять на эффективность и безопасность, ФК требует характеристики *in vivo*. Выбор соответствующих видов и моделей для изучения ФК, а также высвобождения действующего вещества *in vivo* необходимо обосновать с позиций предлагаемого клинического назначения и состава блок-сополимерной мицеллы.

Поскольку такие физико-химические параметры, как размер, поверхностный заряд и морфология, способны влиять на распределение блок-сополимерного мицеллярного препарата, для обоснования спецификации на препарат необходимо показать влияние вариабельности этих параметров на распределение. В связи с этим, помимо рекомендаций, содержащихся в **Руководствах:**

ICH S3 (S3A и S3B) Руководства по токсикокинетике и фармакокинетике, S6(R1) – Руководство по доклинической оценки безопасности биотехнологических лекарственных препаратов и

M3(R2) - Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов (ЕЭК, проект),

необходимо оценить следующие параметры, специфичные для блок-сополимерной мицеллы:

- такие ФК-параметры, как C_{max} , период полувыведения и AUC блок-сополимерного мицеллярного препарата как для общего, так и свободного действующего вещества в крови, плазме или сыворотке;

- ФК-параметры надлежит определять при разных дозах и в соответствующие временные точки;

- распределение блок-сополимерных мицеллярных препаратов в органах и (или) тканях, значимых для предлагаемого клинического

назначения и пути введения. В частности, может потребоваться общее количество действующего вещества — см. «Аналитические методы». Необходимо определить профиль распределения во времени, используя множество временных точек, с обоснованием продолжительности исследования;

- в целях правильной количественной характеристики динамики изменения как общей, так и свободной концентрации действующего вещества и его метаболитов в крови, плазме или сыворотке, а также общей концентрации действующего вещества и его метаболитов в органах и (или) тканях, необходимо тщательно подбирать временные точки взятия проб и его продолжительность. При планировании режима взятия проб необходимо учитывать ряд факторов, например, стабильность блок-сополимерных мицелл после введения и профиль локализации в отдельных органах и (или) тканях. В частности, пробы, взятые в начальную фазу распределения (например, <15 минут), считаются высокоинформативными для расчета объема распределения с целью оценки стабильности блок-сополимерных мицелл в кровотоке;

- определение метаболитов действующего вещества в крови, плазме или сыворотке и, возможно, органах и (или) тканях особенно важно, если метаболит является основным действующим соединением. Если один или несколько метаболитов обладают существенной клинической активностью, для определения накопления после многократного дозирования может потребоваться сравнить их кинетику и, при необходимости, токсикокинетику;

- рекомендуется сравнить ФК блок-сополимерного мицеллярного препарата и действующего вещества, вводимого в чистом виде. Такие сравнительные исследования также ценны для подтверждения заявленного фармакокинетического преимущества блок-сополимерного препарата над действующим веществом, вводимом в чистом виде;

- может также потребоваться учесть взаимодействие внутривенно вводимых блок-сополимерных мицелл с белками и клетками, поскольку эти факторы известны своей способностью влиять на распределение, стабильность и безопасность нанолекарств.

Необходимо определить пути метаболизма и выведения действующего вещества после введения блок-сополимерного препарата, а также всесторонне охарактеризовать их. Более того, пути метаболизма и выведения компонентов мицелл сами по себе представляют интерес. В отсутствие обоснования обратного требуется подробное установление их характеристик. При наличии опасений, что блок-сополимерные мицеллярные лекарственные препараты могут вызывать лекарственные взаимодействия, например, модулируя такие мембранные переносчики, как р-гликопротеин, необходимо скрупулезно провести соответствующую оценку.

2.3.2.3 Доклиническая фармакодинамика

Исследования доклинической фармакодинамики должны предусматривать подтверждение фармакодинамического ответа на в достаточной степени обоснованных *in vitro* (по возможности) и *in vivo* моделях. *In vivo* оценка должна предусматривать соответствующий путь введения, обоснованные дозы и обоснованный режим дозирования в зависимости от предлагаемого клинического применения. Необходимо проанализировать пригодность фармакологической модели с точки зрения ФК блок-сополимерного мицеллярного препарата, а также ФД и ФК действующего вещества при его введении в чистом виде.

Химический состав и физико-химические свойства (включая размер и поверхностный заряд, а также скорость высвобождения действующего вещества) блок-сополимерного мицеллярного препарата влияют на его фармакодинамические свойства. К некоторым факторам, требующим учета при планировании исследований для установления механизма действия, относятся:

- судьба действующего вещества (*in vivo* локализация и скорость высвобождения действующего вещества);

- судьба мицелл (блок-сополимеров или других стабилизирующих компонентов) после введения и (или) проникновения в клетку с помощью эндоцитоза или других механизмов.

ФД-эффект мицелл необходимо оценивать, используя *in vitro* и *in vivo* фармакодинамические модели. Заявитель обязан подробным образом обосновать невозможность использования как *in vitro*, так и *in vivo* моделей для оценки ФД-эффектов мицелл.

2.3.2.4 Фармакологическая безопасность

Если применимо (например, блок-сополимерные мицеллярные лекарства, не входящие в сферу применения ICH S9), необходимо в соответствии с ICH M3(R2), ICH S7A и ICH S7B провести основную батарею исследований фармакологической безопасности.

2.3.2.5 Токсикология

При доклинической оценке токсичности блок-сополимерных мицеллярных препаратов необходимо следовать рекомендациям руководств ICH по безопасности, особенно S4, S6(R1) и S9, а также M3(R2).

Необходимо провести соответствующие токсикологические исследования блок-сополимерного мицеллярного препарата с целью оценки как токсикологического профиля, так и зависимости экспозиция–эффект в соответствии с руководствами ICH по безопасности.

Токсикокинетика

Помимо концентрации в крови, плазме или сыворотке, действующее вещество необходимо определять в ткани(ях)-мишени(ях) и органах, токсикологически значимых с позиций предлагаемого клинического применения.

Дополнительные исследования

В зависимости от физико-химических и (или) фармакокинетических характеристик блок-сополимерного мицеллярного препарата и (или) блок-сополимера, используемого для его производства, может потребоваться оценка функции органов-мишеней.

Определенные нанолекарства способны вызывать инфузионные реакции. В зависимости от характеристик блок-сополимерного мицеллярного препарата необходимо предусмотреть проведение исследований, направленных на изучение активации комплемента, гематотоксичности, антигенности и (или) иммунотоксичности (ICH S8).

2.3.3 Вопросы клинических исследований

Блок-сополимерные мицеллярные препараты часто создают для изменения распределения действующего вещества. В связи с этим, помимо сведений, рекомендуемых ICH S3 (S3A и S3B), S6(R1), M3(R2) и PMFS/ELD Notification NO. 0402-1, 2 апреля 2012 или EMA/CHMP/SWP/28367/2007 (сообразно обстоятельствам), при планировании исследований, впервые проводимых у человека, необходимо в обязательном порядке проанализировать доклинические фармакокинетические данные, специфичные для блок-сополимерного мицеллярного препарата, например, блок-сополимерную мицеллу, действующее вещество, предлагаемое клиническое назначение и путь введения, используя временные точки и продолжительность взятия проб, тщательно подобранные для правильной количественной характеристики временного профиля блок-сополимерных мицеллярных препаратов по общему содержанию действующего вещества и свободным действующему веществу и метаболитам следующим образом:

- такие ФК-параметры, как C_{max} , период полувыведения и AUC блок-сополимерных мицеллярных препаратов как для общего, так и свободного действующего вещества в крови, плазме или сыворотке;
- необходимо взять достаточное число проб для полноценного описания профиля «плазменная концентрация–время». Для получения надежных сведений о процессе начального распределения целесообразно

частое взятие проб в ранние временные точки. Режим взятия проб, в целом, должен также охватывать кривую «плазменная концентрация–время», достаточную для получения надежной оценки степени общей экспозиции;

- распределение блок-сополимерных мицеллярных препаратов в очаге-мишени и основных органах; в частности, общее количество действующего вещества в очаге-мишени и основных органах и их временные профили во множестве временных точек в течение достаточного времени.

Стартовую дозу в исследованиях, впервые проводимых у человека, необходимо определять в соответствии с ICH M3(R2) и региональными руководствами, а также после тщательного анализа всех значимых доклинических данных, включая критичные показатели препарата, фармакологическую зависимость «доза–ответ», ФК и фармакологический/токсикологический профиль в соответствии с рассмотренным в разделах 3.1 и 3.2.

Дозолимитирующую токсичность у человека можно определить аналогично традиционным лекарствам, за исключением реакций гиперчувствительности, поскольку эти реакции не всегда дозозависимы.

Необходимо идентифицировать потенциальные критичные показатели качества каждого блок-сополимерного мицеллярного препарата и использовать их для оценки постоянства свойств в соответствии с рассмотренным в разделе 3.1. Необходимо подтвердить постоянство показателей качества между препаратами, использованными в доклинических исследованиях, и таковыми, используемыми в исследованиях, впервые проводимых у человека; аналитические методики необходимо разработать до начала исследований, впервые проводимых у человека. Если процесс производства, используемый для приготовления блок-сополимерного мицеллярного препарата для доклинических исследований, изменяется до начала исследований, впервые проводимых у человека, необходимо подтвердить сопоставимость или иным образом обосновать ее.

Необходимы данные о стабильности, подтверждающие стабильность блок-сополимерной мицеллы на протяжении исследований, впервые проводимых у человека.

2.4 Заключение

Учитывая сложность блок-сополимерных мицеллярных препаратов и тот факт, что опыт применения таких препаратов ограничен, компаниям возможно обращаться за препарат-специфичной научной консультацией относительно конкретных требований, предъявляемых к данным.

2.5 Глоссарий

Цель настоящего глоссария заключается в описании понятий, используемых в настоящем документе.

1) Действующее вещество (active substance) — соединение, проявляющее основной терапевтический эффект.

2) Блок-сополимер (block copolymer) — более двух видов полимеров, соединенных серийно, например, АВ-блок-сополимер или АВА-блок-сополимер (или другие). Блок-сополимер также называется юнимером; минимальная единица, из которого изготавливается блок-сополимерная мицелла. Действующее вещество может быть химически связано с юнимером.

3) Блок-сополимерная мицелла (block copolymer micelle) — мицелла, состоящая из блок-сополимеров. Действующие вещества могут быть инкорпорированы во внутреннее ядро блок-сополимерной мицеллы посредством химической конъюгации (включая ковалентную конъюгацию) или физического захвата.

4) Блок-сополимерный мицеллярный препарат (block copolymer micelle product) — лекарственный препарат, содержащий действующее вещество, блок-сополимеры и, в определенных случаях, другие ингредиенты.

5) Свободное действующее вещество (free active substance) — действующее вещество, содержащееся в лекарственном препарате, которое не инкорпорировано в блок-сополимерную мицеллу посредством химической

конъюгации или физического захвата. Свободное действующее вещество может высвободиться из блок-сополимерного мицеллярного препарата после его введения. В настоящем Руководстве понятие «свободный» не подразумевает под собой действующие вещества, не связанные с белками плазмы и сыворотки.

б) Биологическая активность (biological activity) — специфическая способность или свойство препарата оказывать определенный биологический эффект.

7) Активность (potency) (выражаемая в единицах) — если действующее вещество является белком, это количественная мера биологической активности, основанная на характерном признаке препарата, связанном с соответствующими его биологическими свойствами, тогда как количество (выражаемое по массе) — есть физико-химическая мера содержания белка.

РАЗДЕЛ 3. Общие вопросы для рассмотрения в отношении лекарственных нанопрепаратов для парентерального введения, покрытых оболочкой

3.1. Введение

«Искусственно созданная» поверхность нанопрепарата взаимодействует с биологической средой, конкретные свойства которой зависят от предполагаемого клинического применения и пути поступления препарата в организм, например, с плазмой крови после внутривенного введения. Большинство нанопрепаратов, одобренных для применения или находящихся на стадии разработки, в качестве интегрального компонента структуры имеют либо нековалентно, либо ковалентно связанную оболочку. Такая оболочка, как правило, используется для минимизации агрегации и улучшения стабильности (например, растворов железа для лечения анемии) или, в некоторых случаях, для минимизации клиренса препарата ретикуло-эндотелиальной системой (РЭС) после внутривенного введения с целью удлинения времени циркуляции вещества в плазме и возможности улучшения направленной доставки к специфическим клеточным мишеням (например, пегилирование в случае с пегилированными липосомами).

Оболочки также используют для гемосовместимости и ограничения антигенности. Данные явления могут возникнуть в связи со специфическим физико-химическим составом нанопрепарата или из-за поверхностной адсорбции биомолекул из биологической среды, в которой они находятся, например, взаимодействие белков плазмы, в результате которого образуется так называемая «белковая корона».

Очевидно, что наличие покрытия обладает потенциалом воздействия на важнейшие свойства нанопрепаратов с точки зрения безопасности и эффективности. Физико-химическая природа оболочки, равномерность покрытия оболочки и стабильность оболочки (как в плане приверженности и склонности к деградации) будут регулировать фармакокинетику, био-распределение препарата и его внутриклеточный путь. Помимо этого, клинически наблюдаемые реакции на некоторые покрытые оболочкой нанопрепараты, связанные с их инфузией, (например, растворы железа и пегилированные липосомы) могут быть обусловлены вследствие физико-химических свойств материала оболочки, специфического биомолекулярного взаимодействия с покрытыми оболочкой нанопрепаратами (например, активации комплемента) и (или) клеточного взаимодействия. В некоторых случаях материал оболочки может вызывать новые биореакции, не отмечавшиеся для материала оболочки или немодифицированной поверхности по отдельности.

Продолжающиеся исследования быстро приводят к появлению более сложных модификаций поверхностей и некоторых продуктов наномедицины уже в стадии клинической разработки (например, липосомы, предназначенные для рецептор-опосредованного наведения). В этой связи, использование лигандов (например, белков) для продвижения рецептор-опосредованного наведения, требует тщательного изучения химического механизма, используемого для их прикрепления. Контроль лигандной ориентации важен, поскольку неоднородность будет влиять на фармакокинетику и био-распределение нанопрепарата. Кроме того,

случайная ориентация может привести к новой модели биомолекулярной ассоциации с поверхностью нанопрепарата, что, в свою очередь, может повлиять на его безопасность.

Вышеприведенные наблюдения подчеркивают необходимость тщательного изучения как ковалентно так и нековалентно связанных оболочек с точки зрения их потенциального влияния на безопасность и эффективность нанопрепарата. В данном документе освещаются вопросы, требующие рассмотрения процесса разработки и жизненного цикла нанопрепаратов, покрытых оболочкой, предназначенных для парентерального введения.

3.2. Обсуждение

3.2.1. Общие положения

Общие вопросы для рассмотрения в процессе разработки нанопрепаратов с ковалентно или нековалентно связанной оболочкой включают:

- влияние оболочки на стабильность ЛС (например, липосомы с полимерным покрытием);
- влияние оболочки на фармакокинетику и биораспределение ЛС (например, липосомы с полимерным покрытием);
- влияние оболочки (физико-химические характеристики) на биомолекулярные взаимодействия (включая опсонизацию), и клеточное взаимодействие в биологической среде предполагаемого применения;
- возможность материала оболочки вызывать неспецифическую (как правило, зарядово-зависимые и гидрофобные взаимодействия) и/или рецептор-опосредованную клеточную направленную доставку (например, рецепторы полисахаридов (глюкозы)). Например, изменение в структуре клеток печени (клетки Купфера: соотношение гепатоцитов), было описано для растворов железа, содержащихся в различных оболочках;
- вероятность влияния оболочки на метаболический путь инкапсулированного активного вещества.

3.2.2. Характеристика препарата

Рассмотрение качества, данных доклинических и клинических исследований играют важную роль при определении важнейших характеристик нанопрепаратов, покрытых оболочкой. Важность представляют:

- Полное описание материала оболочки, включая его состав и контроль.
- В случае если сам покрывающий агент (или при добавлении специфического к определенным мишеням лиганда) включает в себя сложную молекулу (например, белки или антитела), то для их совместимости и воспроизводимости могут потребоваться дополнительные характеристики.
- Полная валидация этапов покрытия оболочкой, включая описание химических веществ, отвечающих за прикрепление нековалентных оболочек или конъюгацию ковалентно связанного материала оболочки. Также важно определение физико-химических свойств поверхности, к которой оболочка присоединяется или ковалентно связывается.
- Важно учитывать потенциальное влияние неоднородности покрытия оболочки на безопасность и эффективность препарата.
- Ориентация и конформационный статус любого лиганда должны быть определены для тех препаратов, которые вовлечены в активное таргетирование остатков на поверхности.
- Стабильность оболочки (устойчивость при хранении и в процессе применения). Способность оболочки к отделению и (или) разрушению (деградации).
- Определение *in vitro* физико-химической стабильности оболочки в отношении предполагаемого использования, на условиях, соответствующих для способа введения, фармакокинетики и биораспределения и таргетного заболевания.
- Преждевременное отделение материала оболочки и (или) разрушение (деградация) оболочки может иметь возможность для открытия

новых функциональных групп на поверхности нанопрепарата. Возможные последствия с точки зрения эффективности и безопасности должны быть рассмотрены.

- Воздействие *in vivo* различных покрывающих материалов (покрытий поверхности) на фармакокинетику и биораспределение должны быть рассмотрены.

- Кроме того, важно изучить биораспределение при выпуске материала оболочки и его метаболитов.

Контроль и обеспечение качества нанопрепаратов, покрытых оболочкой, не могут осуществляться только на основании ряда технических условий (тестовых спецификаций) готового препарата. Требуется четко определенный и контролируемый производственный процесс, дополняемый соответствующей стратегией контроля (адекватный процесс контроля критических этапов производства, включая процесс покрытия оболочкой).

3.3. Заключение

При разработке нанопрепаратов, покрытых оболочкой, необходимо тщательное рассмотрение возможного влияния оболочки на эффективность и безопасность препарата. Данная информация имеет решающее значение при оценке исследований, разработанных для подтверждения клинической оценки первого применения препарата у человека, для до - и пост - регистрационных разрешений при изменении производства покрытых оболочкой нанопрепаратов, и для демонстрации аналога последующего, покрытого оболочкой нанопрепарата, разработанного со ссылкой на оригинальный препарат.

РАЗДЕЛ 4. Предоставление и оценка данных по нанокolloидным препаратам железа для внутривенного введения, разработанным в качестве воспроизведенных

Резюме

При сравнении нанокolloидных препаратов железа для внутривенного введения, разработанных в качестве воспроизведенных препаратов, научные

данные и нормативная практика определения характеристик нанокolloидных препаратов показывают, что определение характеристик качества само по себе не является достаточной гарантией подобия двух лекарственных средств, даже если их подобие было установлено на основании качественного анализа. Для исследования препаратов железа требуется «подход, основанный на весомости доказательств» и включает данные исследований качества, доклинических исследований и исследований фармакокинетики у человека.

4.1. Введение

В настоящих рекомендациях изложены требования к данным по нанокolloидным препаратам железа для внутривенного введения, разработанным на основании оригинального препарата, для лечения состояний, связанных с дефицитом железа.

Препараты железа, применяемые для лечения дефицита железа, состоят из многоядерного ядра, содержащего атомы железа, преимущественно в виде оксигидроксида железа (III), стабилизированного углеводным комплексом, что обуславливает их нанокolloидную структуру.

При парентеральном введении комплексы наножелеза попадают в клетки путем эндоцитоза, т.е. через клетки ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). После внутривенного введения различных препаратов железа отмечалось, что они обнаруживаются в макрофагах печени или гепатоцитах.

Высвобождение железа, по-видимому, зависит от размера и свойств поверхности коллоидного комплекса железа и матрицы. Кроме того, подверженность углеводов к внутриклеточному распаду (высокая скорость распада) также может оказывать влияние на высвобождение железа. Транспорт и/или аккумуляция препаратов железа в клетках любого типа может стать причиной рисков применения.

Сложность исчерпывающего описания и определения частиц комплексов железа только с помощью методов качественного анализа наряду с неопределенностью характера взаимосвязи качественных показателей с

показателями *in vivo* ведет к необходимости проведения дополнительных исследований. Таким образом, сопоставимости качества и подтверждения подобия концентраций железа в плазме, то есть общепринятого исследования биоэквивалентности, оказывается недостаточно для подтверждения сопоставимости метаболических путей *in vivo*, а следовательно, токсических и фармакологических действий двух препаратов. В связи с этим в дополнение к клиническим данным по фармакокинетике требуются доклинические данные. Требуемый объем дополнительных доклинических и клинических данных описывается ниже в настоящем документе и зависит от точности, с которой результаты физико-химических и доклинических исследований позволяют прогнозировать различия, которые могут повлиять на эффективность и безопасность лекарственного средства. Дальнейшие клинические исследования могут потребоваться в случае, если результаты исследований качества, фармакокинетики у человека и доклинических исследований не предоставят весомые доказательства подобия препаратов.

По возможности настоящее Руководство следует рассматривать вместе с такими нормативными руководствами, как:

- Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического Союза – (главы 9,15)
- Разделами 1 и 4 (4.3) настоящего Руководства
- Руководство по вспомогательным веществам в регистрационном досье на лекарственный препарат
- Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1) Draft (EMA/CHMP/BWP/247713/2012)
- Guideline on the Investigation of Bioequivalence (CPMP/QWP/EWP/1401/98/Rev. 1)
- Guideline on Reporting the Results of Population Pharmacokinetic Analyses (CHMP/EWP/185990/06) should be consulted for more detail of expectations regarding reporting of modelling and simulation.

- Guideline on the Investigation of Drug Interactions (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1) describes general expectations around PBPK modelling and simulation.

- Concept paper on qualification and reporting of physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modelling and analyses (EMA/CHMP/211243/2014).

4.2. Предмет

Настоящие рекомендации призваны помочь в сборе актуальных сравнительных данных исследований качества, доклинических и клиническо-фармакокинетических исследований для регистрации нанокolloидного препарата железа для внутривенного введения, разработанного на основании оригинального лекарственного средства. Таким образом, данный документ должен способствовать принятию решения по следующим вопросам:

- по фармацевтическим данным, необходимым для подтверждения подобия испытываемого и оригинального препаратов, из которого следуют их сравнительные безопасность и эффективность;

- по выбору типов доклинических и клинических исследований, необходимых для подтверждения данных, доказывающих подобие препаратов.

Изложенные принципы следует учитывать при установлении требований к данным, на основании которых вносятся изменения в производственный процесс и систему контроля существующих нанокolloидных препаратов железа.

4.3. Обсуждение

4.3.1. Исследование качества

Обширное исследование сопоставимости с оригинальным лекарственным средством необходимо для подтверждения высокой степени подобия профилей качества нанокolloидного препарата железа и референтного препарата. Оно должно включать всесторонний прямой анализ испытываемого и референтного препаратов с использованием чувствительных

методов для определения не только подобных свойств, но и потенциальных различий в характеристиках качества. Потенциальное влияние каких-либо различий в характеристиках качества на безопасность и эффективность препарата должно быть надлежащим образом установлено. Если существенные различия в качестве подтвердятся, довольно проблематично будет заявить о подобии испытуемого препарата оригинальному, а значит, предпочтительнее будет рассматривать препарат как оригинальный. Как вариант, заявитель может отдать предпочтение пересмотру производственного процесса с целью устранения установленных различий.

Описание химических и физических свойств является важным инструментом для установления сопоставимости испытуемого препарата с референтным. Необходимо гарантировать постоянное качество комплексных препаратов железа за счет четкого определения и контроля производственного процесса и всестороннего описания свойств препарата. Результаты могут отличаться в зависимости от используемых методов, и по возможности следует использовать два и более дополняющих друг друга аналитических метода для подтверждения сопоставимости и гарантии постоянства характеристик.

Характеристики качества нанокolloидных препаратов железа, которые могут оказывать существенное влияние на эффективность и безопасность, включают:

- стабильность железо-углеводного комплекса, т.е. фракция лабильного железа, высвобождаемая в момент введения препарата, и ее краткосрочная стабильность в плазме, поскольку лабильное железо оказывает прямые токсические эффекты и может влиять на фармакокинетику и распределение препарата в организме;
- физико-химические свойства углеводной матрицы, связанные с вероятностью возникновения анафилактических (псевдоанафилактических) реакций;
- влиянием на фармакокинетику и распределение в организме;

образованием специфических продуктов распада углеводной оболочки;

- физико-химические свойства железа и железо-углеводного комплекса, включая размер железосодержащего ядра, и размер железо-углеводного комплекса и его распределение по размеру.

Описание характеристик качества испытуемого препарата

Корректное определение параметров, описывающих релевантные физико-химические свойства нанокolloидного препарата железа, исключительно важно для гарантии его качества. Следующие общие параметры необходимо принимать во внимание при оформлении заявки на любой тип данных препаратов:

- стандарт качества для углеводов, используемых в производстве фармацевтических субстанций и готовых препаратов (описание, источник и характеристика, производство, количественный анализ, состав примесей и характеристики стабильности);

- строение и состав углеводной матрицы;

- спектроскопические свойства (например, ПМР на ядрах ^1H , ЯМР на ядрах ^{13}C , ИК-спектроскопия, оптическая спектроскопия, масс-спектрометрия, рентгенодифракционный анализ);

- Определение и контроль ключевых промежуточных продуктов в производственном процессе;

- Размер железосодержащего ядра;

- Объем лабильного железа, высвобождаемый из препарата при введении;

- Полиморфные формы железа, составляющего ядро;

- Примеси, например, соотношение двухвалентного и трехвалентного железа;

- Морфология, например, микроскопический анализ поверхности;

- Соотношение связанных углеводов и железа;

- Размер частиц, распределение по размеру, заряд и свойства поверхности железо-углеводных комплексов;
- Путь распада железо-углеводного комплекса;
- По возможности должен быть разработан надежный дифференциальный метод для определения кинетики распада (для ряда препаратов ранее проводилось изучение деградации молекул в кислой среде);
- Стабильность препарата при хранении;
- Стабильность препарата при применении (включая восстановленный вариант рекомендуемыми растворителями для применения) с учетом указаний по применению, изложенным в типовой клинико-фармакологической статье лекарственного средства, например, в определенной концентрации.

От качества и чистоты исходного материала углеводов в большой степени зависит качество готового препарата, следовательно, исключительно важно осуществлять надлежащее описание характеристик и спецификаций исходного материала. В некоторых случаях исходный материал углеводов в дальнейшем модифицируют. Зачастую углеводы активируют для инициирования их связывания. Обработка при высоких температурах или даже стерилизация паром готового препарата (по возможности) могут повлиять на состав углеводной матрицы. Необходимо контролировать различные типы углеводов и их уровни в исходном материале. Исходные материалы должны отвечать фармакопейным требованиям, если на них есть фармакопейные статьи, и зачастую могут требоваться более детальные спецификации отдельных параметров для подтверждения соответствия оригинальному лекарственному средству. При использовании компонентов из разных источников потребуется дополнительное описание характеристик и исследование сопоставимости.

Должен быть утвержден список необходимых плановых испытаний препаратов железа с учетом соответствующих фармакопейных статей. Данный список должен быть составлен на основании параметров,

используемых для описания характеристик лекарственной формы, как описано выше. Необходимо разработать аналитические методы для описания характеристик и контрольных испытаний для гарантии целостности и стабильности комплексов железа в процессе аналитических исследований, например, отсутствия изменений размеров комплекса при разбавлении.

Для обеспечения безопасности препаратов железа для внутривенного введения и исключения рисков, связанных с лабильным железом, важным этапом является разработка методов определения лабильного железа *in vitro*, которые послужат для подтверждения подобия препаратов, гарантии однородности выпускаемых серий и определения влияния вносимых изменений на производственные процессы. Измерение содержания лабильного железа может осуществляться несколькими методами, но на присутствие лабильного железа указывают два следующих метода:

1) Исследование кинетики восстановления железа (III) при деструкции под действием кислоты и УФ-измерение. Данные исследования также должны входить в спецификацию к препаратам железа для внутривенного введения. Допустимые пределы (как нижний, так и верхний) должны устанавливаться на основании характеристик серий, которые демонстрируют высвобождение необходимого объема лабильного железа в испытаниях *in vitro*.

2) Отдача лабильного железа *in vitro* для измерения прямой отдачи лабильного железа трансферрину *in vitro* путем добавления препарата железа для внутривенного введения в раствор трансферрина или сыворотки крови (человека или животного). Данные исследования могут использоваться для подтверждения сопоставимости испытуемого препарата с оригинальным. Исследования отдачи лабильного железа *in vitro* должны быть включены в спецификацию лекарственного препарата изначально, до накопления производственного опыта, после чего допустимо сокращение интервалов между испытаниями.

Установление фармацевтической сопоставимости между испытуемым и референтным препаратами

Состав разработанного препарата по качественным и количественным характеристикам должен быть идентичен или практически идентичен составу референтного препарата. Для осуществления всестороннего анализа и составления показательного профиля качества следует использовать несколько различных серий референтного лекарственного средства. Для установления целевого профиля качества необходимо также учитывать дату производства отдельных серий референтного лекарственного средства.

Необходимо описать химический состав углеводов и сравнить его с составом оригинального препарата в рамках обсуждения химического подобия препарата. Любые различия в составе углеводной матрицы могут привести к повышению требований к данным с целью демонстрации подобия испытуемого и референтного препаратов, а также могут привести к возникновению серьезных проблем с регуляторным органом при рассмотрении подобия химического состава.

Как правило, заявитель не имеет доступа к сведениям о процессе производства референтного препарата. Следовательно, необходимо провести всесторонние исследования с помощью самых современных методов описания характеристик параллельно для обоих препаратов с целью предоставления полной гарантии, что их характеристики сопоставимы. Такие исследования должны включать все испытания, приводимые в разделе «Описание характеристик качества» данного документа, необходимые для адекватного описания испытуемого и референтного препаратов. Следует рассмотреть пригодность отобранных испытаний для установления эквивалентности действия лекарственного препарата *in vivo*. Любые различия между препаратами, установленные в процессе исследований сопоставимости, должны быть рассмотрены, детально проанализированы и обоснованы в рамках их потенциального влияния на безопасность (эффективность).

Четко определенный производственный процесс с надлежащим контролем требуется для обеспечения производства препарата надлежащего качества на постоянной основе. Критические параметры производственного процесса должны определяться на основании подходящей стратегии контроля.

Некоторые критические характеристики, связанные с показателями *in vivo*, невозможно точно оценить, используя только один критерий (например, размер частиц, форма, площадь поверхности и ее свойства). В таком случае по возможности предпочтительно использовать два и более дополняющих аналитических метода, основанных на разных принципах, с целью подтверждения большей сопоставимости двух препаратов.

Помимо исследований характеристик в нормальных условиях необходимо также проводить ускоренные испытания стабильности препаратов с целью сравнения их физического и химического распада.

Все серии референтного препарата, участвующие в исследованиях характеристик, должны быть проанализированы до истечения срока их годности и до проведения анализа должны храниться при рекомендуемых условиях.

Любые отличия от референтного препарата, установленные в ходе исследований сопоставимости, должны быть исследованы и детально проанализированы. Рекомендуется руководствоваться общими принципами, изложенными в главе 9 Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза, для принятия решения о дальнейших исследованиях, требуемых для подтверждения подобия терапевтического действия препаратов.

Подход к определению влияния любых изменений зависит от конкретного производственного процесса, препарата, опытности и компетентности производителя и собранных данных по разработке. Необходимо проводить сравнительные исследования при внесении изменений в производственный процесс на этапе разработки, а также после

получения регистрационного удостоверения лекарственного средства, например, для увеличения объемов производства. Сравнительные исследования также должны проводиться в случае смены места производства.

4.3.2. Доклинические исследования

Методы анализа

Для сравнения испытуемого препарата с референтным требуется разработка и валидация аналитических методов подсчета количества аналитов в крови (плазме) и в тканях. С особым вниманием необходимо изучить влияние всех процедур обработки образцов в процессе разработки методов, применяя методологии для подтверждения пригодности и интерпретируемости всех результатов биоанализа.

Должны быть приведены нижние пороги количественного определения и степени извлечения для плазмы, тканей и, при необходимости, отдельных исследуемых тканей, например, см. таблицу 1 ниже.

Исследования биораспределения

Доклинические исследования планируют с целью подтверждения сопоставимости испытуемого и референтного препаратов. Исследования должны проводиться в соответствии с GLP, если надлежащим образом не обосновано иное (например, необходимость использования специализированных тест-систем). Доклинические исследования испытуемого и референтного препаратов проводят после детального описания их характеристик (см. раздел 2.1 настоящего руководства). Испытуемый препарат должен быть изготовлен в ходе окончательно утвержденного производственного процесса и предпочтительно взят из той же серии, что и препарат, участвовавший в клинических исследованиях, описанных в разделе ниже.

Считается, что при парентеральном введении наночастицы железа распознаются ретикулоэндотелиальной системой (РЭС) (печень, селезенка, лимфатические узлы, костный мозг, легкие и т.д.) и подвергаются

фагоцитозу макрофагами, но также могут перерабатываться эндотелиальными или эпителиальными клетками (например, гепатоцитами) путем эндоцитоза. Интернализация железа может проходить разными путями в зависимости от свойств поверхности наночастиц и адсорбции белков (формирование короны). Следовательно, фагоцитоз, вызываемый явлениями, подобными опсонизации, будет проходить разными путями и с разной скоростью, что, с большой долей вероятности, приведет к существенной межвидовой вариативности.

Некоторые аспекты фармакокинетики препаратов наножелеза у человека могут быть смоделированы на основании животных и клеточных моделей. При этом исследования биораспределения в подходящей животной модели имеют принципиальное значение для оценки распределения, метаболизма и выведения данных наночастиц и продуктов их распада *in vivo* или растворения. Особое внимание необходимо уделять распределению, аккумуляции и удерживанию, как минимум, в трех «депо»: плазме крови, ретикулоэндотелиальной системе (РЭС) и тканях (органах) - мишенях (Таблица 1). В ходе данных исследований должны быть получены критически важные доказательства сопоставимости распределения, метаболизма и выведения *in vivo* препаратов наножелеза, поскольку невозможно полностью изучить распределение препарата в организме человека, исходя только из данных по крови (плазме).

Анализ распределения у грызунов следует начинать с исследований с подбором дозы для установления ее размеров, которые могут быть точно измерены (для определения чувствительности метода) или для определения стратегии выбора наиболее подходящих моментов времени отбора проб для отражения поступления и выведения железа через соответствующую ткань. Подходящие моменты времени должны быть детально проанализированы и подобраны таким образом, чтобы полностью описывать профиль «концентрация-время» для всех исследуемых тканей. Сведения о биораспределении референтного препарата, полученные ранее, также можно

использовать в процессе дизайна исследования. Ранние моменты времени отбора пробы (например, ранее, чем через 24 часа) также должны быть включены в исследование для подтверждения сопоставимости в отношении клиренса ретикулоэндотелиальной системой на ранних стадиях.

Основное исследование распределения у одного или обоих полов с дозой одного или двух размеров и однократным введением, может быть достаточным.

Таблица 1. Депо, задействованные в распределении препаратов наножелеза для внутривенного введения для лечения дефицита железа

1. Плазма (или сыворотка) и эритроциты

2. РЭС: макрофаги

например, в селезенке, печени (клетки Купфера)

3. Ткани-мишени

3.1 Фармакологические ткани-мишени

например, костный мозг

3.2 Токсикологические ткани-мишени

например, почки, печень (гепатоциты), легкие, сердце

При выборе органов и тканей-мишеней для измерения содержания аналитов следует рассматривать, как минимум, органы, идентифицированные по модели распределения референтного препарата и испытуемого препарата по трем указанным выше депо (см. Таблицу 1). Для депо РЭС предпочтительным органом для измерения концентраций железа является селезенка. Прочие методы измерения распределения, такие как технологии визуализации, также допустимы, если доказана их эффективность.

Поскольку покрытые оболочкой наночастицы подвергаются распаду постепенно, измерение общей концентрации железа не отразит физиологический уровень железа или степень окисления. Однако зависящее от времени высвобождение железа, хранящегося в определенном депо,

отражает процесс распада препарата и его биологическое значение. Следовательно, измерение зависящего от времени общего содержания железа в различных тканях может оказаться достаточным для установления профиля распада наночастицы.

В этом контексте распределение испытуемого препарата по отдельным депо должно быть установлено хотя бы на клеточном уровне, помимо уровня тканей или органов. Очевидно, что важным этапом является установление модели клеточного распределения железа, то есть куда распределяется препарат в печени: в клетки Купфера или гепатоциты.

Для измерения концентрации железа в тканях применяют, например, масс-спектрометрию ИСП-МС, или атомно-эмиссионную спектрометрию ИСП-АЭС, или даже фотометрию. Помимо этого, в качестве дополнительного метода используют гистологическое определение железа в тканях. В любом случае, можно применять менее чувствительный метод, поскольку увеличение концентрации железа при внутривенном введении, как правило, и так довольно существенно. Предпочтительно предоставлять данные о количестве вещества на грамм ткани, а также о процентном содержании вещества в дозе (с определением массового баланса).

Рекомендуется разработка дополнительных и более точных методов анализа процесса распада наночастиц. Например, системы клеточных и тканевых культур могут использоваться для изучения механизма поглощения наночастиц и продуктов их распада или растворения ретикулоэндотелиальной системой, макрофагами или гепатоцитами (клетками) Купфера.

На данный момент весомый регуляторный опыт применения результатов сравнительных доклинических исследований биораспределения для подтверждения подобия нанокolloидных препаратов железа отсутствует. В частности, отсутствует опыт применения статистических методов анализа с целью установления эквивалентности (подобия). Данные, получаемые в результате подобных опытов, должны иметь сложную структуру (данные

длительного наблюдения за множеством конечных показателей различных камер). Тем не менее, рекомендуется стремиться к применению количественных статистических методов, разработанных для подтверждения эквивалентности. Кроме того, спонсору исследований настоятельно рекомендуется четко определить и обосновать критерии сопоставимости распределения и клиренса для сравнения с референтным препаратом до начала исследований. Заявителям возможно обращаться за научной консультацией. Клинические проявления любого из установленных различий в распределении препарата в тканях между испытуемым и референтным препаратом должны детально обсуждаться.

Помимо этого, данные, полученные в ходе исследования биораспределения, могут быть проанализированы бескамерным методом с учетом выборочного (с разрушением образца) отбора пробы для получения общих параметров C_{\max} (или максимального количества), t_{\max} (момента максимальной концентрации или количества) и AUC (или площади под кривой зависимости концентрации от времени). Моделирование с применением физиологически обоснованной фармакокинетической модели (ФОФМ) или эмпирических моделей также может использоваться для дополнения бескамерного анализа данных концентрации (или количества) вещества в жидкости (ткани). Общие параметры (C_{\max} , t_{\max} , AUC) должны быть получены на основании обоих типов анализа: с использованием модели и бескамерного (см. примечания).

Исследования токсичности обладают недостаточной чувствительностью для установления различий между испытуемым и референтным препаратами. По этой причине они не подходят для этой цели и ведут к нерациональному использованию лабораторных животных. В случае специфических опасений насчет безопасности препарата для их проработки может быть достаточно указания соответствующих конечных точек безопасности, включенных в дизайн исследования биораспределения.

4.3.3. Клинические исследования

Исследования фармакокинетики

Фармакокинетику нанокolloидных препаратов железа всегда необходимо сравнивать с фармакокинетикой оригинального препарата. Для этого рекомендуется проводить параллельное или перекрестное исследование с однократным введением препаратов. Основными переменными в данном исследовании являются AUC_t и C_{max} общего и трансферрин-связанного железа. Поправка на фон рекомендуется для снижения межиндивидуальной вариативности. Кроме того, могут быть включены прочие значимые конечные точки. Разработка и валидация аналитических методов должна быть направлена на подтверждение отсутствия влияния со стороны процедур обработки образца и обеспечивать применение методологий верификации соответствия и интерпретируемости всех биоаналитических результатов.

Если используется повторный дизайн, допустимые диапазоны C_{max} могут быть расширены согласно Руководству по исследованию биоэквивалентности. В иных случаях 90 % доверительный интервал должен находиться в диапазоне 80 %–125 %. Период отбора образцов должен быть достаточно долгим, чтобы продемонстрировать, что концентрация железа снижается до исходного уровня. Обсуждение результатов должно затрагивать испытания по контролю качества *in vitro* (см. раздел 4.3.1.2).

Исследования эффективности и безопасности

При условии, что совокупность полученных данных (сравнение качества, доклинических данных и данных исследований фармакокинетики у человека) подтверждает подобие, дальнейшее исследование терапевтической эквивалентности для подтверждения сравнимой эффективности и безопасности, в целом, не требуется.

Различия с референтным препаратом, которые могут повлиять на эффективность и безопасность испытуемого препарата, представляют для регуляторного органа проблему, требующую решения.

Существенные различия в результатах исследований качества, доклинических исследований и исследований фармакокинетики у человека, демонстрируют отсутствие подобия, и полученные в ходе дальнейших исследований терапевтической эквивалентности данные никак не повлияют на устранение данных проблем.

При наличии в результатах проведенных исследований незначительных различий между двумя препаратами проведение исследования терапевтической эквивалентности может оказаться необходимым для решения вопроса о влиянии этих различий на эффективность и безопасность.

При выборе клинического испытания для подтверждения различий заявителю возможно обратиться за научной консультацией по поводу выбора конечных точек и дизайна исследования. Клинические испытания предпочтительно должны проводиться в течение минимум 3 месяцев с участием группы пациентов с анемией со схожей этиологией, например, пациентов с хронической почечной недостаточностью. Конечные точки для рассмотрения следующие:

- ферритин;
- насыщение трансферрина;
- гемоглобин;
- суммарная доза железа, полученная за исследование;
- суммарная доза эритропоэтина, полученная за исследование.

Конечные точки безопасности в таком исследовании должны быть сосредоточены на безопасности при кратковременном применении, изучении наиболее часто встречающихся нежелательных явлений, а также маркёров, которые могут указать на наличие нежелательных явлений в профиле безопасности. Среди них:

- частота псевдоанафилактических реакций;
- не связанное с трансферрином (свободное) железо;
- общая частота нежелательных явлений;
- маркеры оксидативного стресса и активность свободных радикалов.

Фармаконадзор / План управления рисками

Основные проблемы безопасности препаратов железа для внутривенного введения связаны с побочными эффектами, такими как реакции гиперчувствительности (анафилактические/псевдоанафилактические), а также передозировкой железом, ведущей к поражению органов.

Частота реакций гиперчувствительности в ходе кратковременного исследования фармакокинетики не отражает настоящую частоту данных реакций в ходе пострегистрационных исследований. Особое внимание в отношении безопасности вызывают реакции гиперчувствительности после внутривенного введения препаратов железа. В связи с этим, дополнительные меры по минимизации рисков должны быть включены в план управления рисками для всех препаратов для внутривенного введения, включая предоставление ежегодной сводной отчетности по безопасности.

Риск передозировки железом, ведущей к поражению органов, присущ всем препаратам железа для внутривенного введения. Данный риск может быть значительно снижен за счет четкого соблюдения показаний (противопоказаний) к применению и избегания применения препаратов не по назначению или по ошибочному назначению.

План управления рисками для препарата, разработанного на основании оригинального лекарственного средства, должен, в целом, совпадать с планом для референтного препарата в отношении важных идентифицированных и потенциальных рисков и недостающих сведений.