

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И
СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»**

УТВЕРЖДАЮ
ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И
СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

профессор _____ Р.А. ХАЛЬФИН

«__» _____ 2008 г.

ОЦЕНКА БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Методические указания

МОСКВА - 2008

Составители:

д.б.н. И.Б. Бондарева
проф. Н.Д. Бунятян
проф. В.П. Жердев
д.б.н. Колыванов Г.Б.
д.ф.н. С.Н. Кондратенко
акад. РАМН В.Г. Кукес
д.б.н. А.А. Литвин
к.б.н. А.С. Насонов
с.н.с. Ю.А. Портной
к.х.н. В.В. Писарев
проф. Г.В. Раменская
к.б.н. Д.В. Рейхарт
проф. А.К.Сариев
д.б.н. А.В. Соколов
проф. А.К. Стародубцев
к.м.н. Е.А. Сокова
проф. А.А. Фирсов
акад. РАМН В.П. Фисенко
д.ф.н. В.В. Чистяков
проф. Е.В. Ших

Рецензенты:

акад. РАМН А.П. Арзамасцев
акад. РАМН Р.Г. Глушков
акад. РАМН Ф.И. Комаров
акад. РАМН С.Б. Середенин

Ответственные за выпуск:

акад. РАМН В.Г. Кукес
проф. А.А. Фирсов
проф. В.П.Жердев
проф. А.К.Стародубцев

Содержание

СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
1. ТЕРМИНОЛОГИЯ	7
2. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	8
3. ИСПЫТУЕМЫЕ	9
3.1. Критерии включения добровольцев в исследования.....	9
3.2. Критерии исключения добровольцев из исследований.....	9
3.3. Этические аспекты оценки биоэквивалентности.....	10
3.4. Группа исследователей–клиницистов	10
3.5. Формирование банка добровольцев	11
3.6. Формирование группы добровольцев для проведения оценки биоэквивалентности конкретного лекарственного средства	11
3.7. Скрининговое обследование добровольцев до начала исследований	12
3.8. Подготовка клинического блока	13
3.9. Организация питания добровольцев.....	13
3.10. Отбор проб крови.....	13
3.11. Динамическое наблюдение за добровольцами в ходе исследования	14
3.12. Интервал между периодами исследования	15
3.13. Дублеры добровольцев.....	15
4. РЕГЛАМЕНТ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	15
4.1. Общая схема исследований.....	15
4.2. Число испытуемых.....	15
4.3. Доза лекарственного вещества	16
4.4. Интервал времени между приемом лекарственных средств.....	17
4.5. Виды биологического материала, используемого для определения концентрации лекарственного вещества	17
4.6. Схема отбора проб	17
5. АНАЛИТИЧЕСКИЙ МЕТОД.....	18
6. АНАЛИЗ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ.....	18
6.1. Однократное введение лекарственных средств.....	19
6.2. Многократное введение лекарственных средств.....	19
7. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ	20
8. ИСКЛЮЧЕНИЕ РЕЗКО ВЫДЕЛЯЮЩИХСЯ НАБЛЮДЕНИЙ	21

9. ГРУППА ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ–СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ	21
10. ПРОГРАММА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	21
11. ОТЧЕТНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ	22
ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА	23
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	25
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	26
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	28
ПРИЛОЖЕНИЕ 4.....	32

Список обозначений

AUC - площадь под кривой “концентрация лекарственного вещества - время”;

AUC_t - площадь под кривой “концентрация лекарственного вещества - время” в интервале времени от 0 до момента (t) отбора последней пробы биоматериала;

AUC_∞ - площадь под кривой “концентрация лекарственного вещества - время” в интервале времени от 0 до ∞ ;

$AUC_{\tau,ss}$ - площадь под кривой “концентрация лекарственного вещества - время” в пределах интервала дозирования в стационарных условиях (ss) при многократном введении лекарственного средства;

C - концентрация лекарственного вещества;

C_{max} - максимальная концентрация лекарственного вещества;

C_{min} - минимальная концентрация лекарственного вещества;

C_{ss} - средняя концентрация лекарственного вещества в стационарных условиях;

C_t - концентрация лекарственного вещества в момент t ;

CV - коэффициент вариации;

f - относительная степень всасывания (относительная биодоступность) лекарственного вещества, определяемая отношением $AUC_{\infty,T}/AUC_{\infty,R}$;

f' - относительная степень всасывания лекарственного вещества, определяемая отношением $AUC_{t,T}/AUC_{t,R}$ или $AUC_{\tau,ss,T}/AUC_{\tau,ss,R}$.

f'' - отношение $C_{max,T}/C_{max,R}$;

k_{el} - константа элиминации лекарственного вещества;

R - препарат сравнения;

T - исследуемый препарат;

t - время от момента приема (введения) лекарственного средства;

t_{max} - время достижения максимальной концентрации лекарственного вещества;

$T_{1/2}$ - период полувыведения лекарственного вещества;

$T > C_{ss}$ - период времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает C_{ss} ;

$T > 75\% C_{max}$ - период времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от C_{max} ;

μ_T - генеральное среднее показателя для исследуемого лекарственного средства;

μ_R - генеральное среднее показателя для препарата сравнения;

σ^2 - средний квадрат “ошибки”, или остаточная внутрииндивидуальная вариация;

τ – интервал дозирования.

Введение

Оценка биоэквивалентности (“фармакокинетической эквивалентности”) лекарственных средств является основным видом медико-биологического контроля качества воспроизведенных (генерических) средств, содержащих такое же количество лекарственного вещества, как в соответствующем оригинальном лекарственном средстве. Оценка биоэквивалентности позволяет сделать обоснованные заключения о качестве сравниваемых лекарственных средств по относительно меньшему объему первичной информации и в более сжатые сроки, чем при проведении клинических исследований.

Настоящие методические указания разработаны в соответствии со ст.21 Конституции Российской Федерации (РФ), Федеральным законом «О лекарственных средствах» от 22.06.1998 №86-ФЗ, Федеральным законом «О техническом регулировании» от 27.12.2002 №184-ФЗ, Правилами клинической практики в РФ (утверждены приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 19.06.2003 №266, Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (редакция, одобренная 52 сессией Генеральной ассамблеи в Эдинбурге, Шотландия, 2000).

В настоящей редакции методических указаний уточнена терминология, применяемая при оценке биоэквивалентности, оговорены особенности проведения исследований лекарственных средств, прием которых может вызывать серьезные побочные эффекты, и т.д.

1. Терминология

Биодоступность

Биодоступность - относительное количество лекарственного вещества, которое достигает системного кровотока (степень всасывания), и скорость, с которой этот процесс происходит (скорость всасывания).

Абсолютная биодоступность – то же при условии, что количество лекарственного вещества, всосавшегося после внесосудистого введения в изучаемой лекарственной форме, соотносится с количеством лекарственного вещества, поступившего в системный кровоток после внутрисосудистого введения в той же дозе.

Относительная биодоступность – то же при условии, что количество лекарственного вещества, всосавшегося после внесосудистого введения изучаемого лекарственного средства, соотносится с количеством лекарственного вещества,

всосавшегося после внесосудистого введения лекарственного средства (препарат сравнения).

Биоэквивалентность

Два лекарственных препарата биоэквивалентны, если они обеспечивают одинаковую биодоступность лекарственного вещества.

Лекарственные средства, являющиеся фармацевтически эквивалентными (одинаковое количество одного и того же лекарственного вещества в одной и той же лекарственной форме) или фармацевтически альтернативными (одно и то же лекарственное вещество в разных химических формах или в разных лекарственных формах) могут быть, а могут и не быть биоэквивалентными. Поскольку фармацевтическая эквивалентность или альтернативность не гарантирует эквивалентности фармакокинетической, исследования фармацевтической эквивалентности не рассматриваются как альтернатива испытаниям биоэквивалентности. С другой стороны, биоэквивалентность лекарственных средств предполагает, что фармакокинетически эквивалентные (биоэквивалентные) оригиналу препараты обеспечивают одинаковую эффективность и безопасность фармакотерапии, т.е. что они терапевтически эквивалентны.

2. Объекты исследований

Объектами исследований являются воспроизведенные дозированные лекарственные средства, предназначенные для внесосудистого (прием внутрь, кожная аппликация, ректальное введение и др.), но не парентерального введения, при условии, что их действие опосредовано появлением лекарственного вещества в системном кровотоке. Оценка биоэквивалентности проводится для всех лекарственных форм, обеспечивающих немедленное или постепенное высвобождение лекарственного вещества или лекарственных веществ (для комбинированных лекарственных средств).

Исследования проводятся в том случае, когда при регистрации лекарственного средства не представлены исчерпывающие данные об его биоэквивалентности или, когда представленные данные признаны неудовлетворительными специализированной Комиссией по клинической фармакологии ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». В том случае, когда лекарственное средство не зарегистрировано в стране-производителе, необходимым условием для принятия решения о проведении оценки биоэквивалентности в РФ является наличие положительных результатов доклинического изучения биодоступности лекарственного средства.

В качестве препарата сравнения следует использовать соответствующее оригинальное лекарственное средство, если оно зарегистрировано в РФ, или его аналог, биоэквивалентность которого оригинальному лекарственному средству установлена ранее и который успешно применяется в медицинских учреждениях РФ. Необходимым условием приемлемости результатов оценки биоэквивалентности лекарственного средства, зарегистрированного в стране-производителе, является использование в качестве препарата сравнения оригинального лекарственного средства.

Содержание лекарственного вещества в исследуемом лекарственном средстве и препарате сравнения не должно отличаться более чем на 5%.

3. Испытуемые

Оценка биоэквивалентности всех лекарственных средств за исключением ряда психотропных, противоопухолевых и средств, применяемых при ВИЧ-инфекциях, проводится на здоровых добровольцах. Соответствующие исследования лекарственных средств, относящихся к указанным фармакологическим группам, проводятся на больных, которым они показаны, если не рекомендовано иное Комиссией по клинической фармакологии. В тех случаях, когда оценка биоэквивалентности таких препаратов невозможна, решение об их регистрации принимается по результатам клинических испытаний.

3.1. Критерии включения добровольцев в исследования

В качестве здоровых добровольцев могут привлекаться лица обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет, отвечающие следующим критериям:

- верифицированный диагноз: «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования;
- масса тела не выходит за пределы $\pm 15\%$ по весо-ростовому индексу Кетле;
- для женщин - отрицательный тест на беременность и согласие придерживаться адекватных методов контрацепции; в случае использования гормональных контрацептивов, они должны быть отменены не менее чем за 2 месяца до начала исследования.

3.2. Критерии исключения добровольцев из исследований

- отягощенный аллергологический анамнез;
- лекарственная непереносимость;

- хронические заболевания сердечно-сосудистой, бронхолегочной, нейроэндокринной системы, а также заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, почек, крови;
- хирургические вмешательства на желудочно-кишечном тракте (за исключением аппендэктомии);
- острые инфекционные заболевания менее чем за 4 недели до начала исследования;
- регулярный прием лекарственных средств менее чем за 2 недели до начала исследования;
- прием лекарственных средств, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику, функцию печени и др. (барбитураты, омепразол, циметидин и т.д.), менее чем за 30 дней до начала исследования;
- донорство (450 мл крови или плазмы и более) менее чем за 2 месяца до начала исследования;
- прием более чем 10 ед. алкоголя в неделю (1 ед. алкоголя эквивалентна ½ л пива, 200 мл вина или 50 мл спирта) или анамнестические сведения об алкоголизме, наркомании, злоупотреблении лекарственными средствами;
- курение более 10 сигарет в день;
- участие в I фазе клинического испытания лекарственных средств менее чем за 3 месяца до начала исследования.

3.3. Этические аспекты оценки биоэквивалентности

Участие здоровых испытуемых и больных в оценке биоэквивалентности лекарственных средств является добровольным. Доброволец (волонтер) имеет право отказаться от участия в проводимых исследованиях на любой его стадии. Этические нормы проведения оценки биоэквивалентности регламентированы соответствующими документами. Этическую экспертизу клинической оценки биоэквивалентности лекарственных средств проводит Комитет по этике при федеральном органе контроля качества лекарственных средств. Добровольцы, включенные в исследование, подписывают письменное информированное согласие, один экземпляр которого выдается добровольцу наряду с «Информацией для добровольцев, участвующих в оценке биоэквивалентности лекарственного средства» (Приложения 1 и 2).

3.4. Группа исследователей–клиницистов

Для проведения исследования выделяются сотрудники, контролирующие состояние здоровья добровольцев, соблюдение режима, организацию питания, установку катетеров, отбор образцов крови и их обработку; оказывающие при необходимости экстренную

медицинскую помощь. В состав группы обязательно должны входить врач-исследователь (1-2) и медицинская сестра (1-2).

3.5. Формирование банка добровольцев

Банк добровольцев формируется в соответствии с критериями включения в исследование и исключения из исследования, указанными в разделах 3.1 и 3.2.

В беседе с врачом-исследователем доброволец должен получить следующую информацию:

- цель исследования;
- наличие разрешения на проведение исследования;
- длительность исследования;
- условия отбора проб крови;
- условия, в которых будет находиться доброволец во время исследований, пищевом и водном режиме;
- ограничения в приеме лекарств во время исследования;
- возможность оказания медицинской помощи во время и после исследований;
- условия страхования и вознаграждения.

Если доброволец включается в банк данных, на него заводится индивидуальная карта, где указываются:

- Ф.И.О., возраст, адрес, телефон, паспортные данные;
- медицинский анамнез (с указанием хронических заболеваний и аллергологический анамнез);
- перенесенные заболевания, по поводу которых доброволец находился на стационарном лечении.

В индивидуальной карте регистрируется участие добровольца во всех клинических исследованиях лекарственных средств.

3.6. Формирование группы добровольцев для проведения оценки биоэквивалентности конкретного лекарственного средства

За 1 неделю до начала испытаний добровольцы, привлекаемые к исследованиям конкретного лекарственного средства, приглашаются в исследовательский центр. Врач-исследователь проводит с ними беседу, в ходе которой повторно собирается медицинский анамнез и проводится оценка соответствия добровольцев критериям включения в исследование (в соответствии с пп. 3.1 и 3.2.).

Затем добровольцу предоставляется информация о:

- фармакологической группе, к которой относится исследуемое лекарственное средство;
- механизме его действия;
- показаниях к применению лекарственного средства;
- возможных нежелательных эффектах;
- пути введения и дозе;
- режиме питания перед началом исследования;
- режиме дня во время проведения исследования;
- времени прибытия в исследовательский центр;
- длительности исследования;
- размере вознаграждения за участие в исследовании;
- условиях страхования, компенсации и лечения в случае причинения ущерба здоровью в связи с проведением исследования.

Добровольцу гарантируют, что при необходимости ему будет оказана квалифицированная медицинская помощь, как во время, так и после проведения исследования, а так же о том, что информация о нем, полученная в ходе исследования, будет иметь конфиденциальный характер. После этого доброволец для участия в исследовании должен подписать «Информированное согласие добровольца», копия которого выдается добровольцу наряду с «Информацией для добровольцев, участвующих в оценке биоэквивалентности лекарственного средства».

3.7. Скрининговое обследование добровольцев до начала исследований

После подписания информированного согласия проводится клиническое и параклиническое обследование добровольцев, включающее врачебный осмотр с учетом особенностей ожидаемого действия изучаемого лекарственного средства, а также следующие лабораторные тесты:

- клинический анализ крови;
- клинический анализ мочи;
- биохимический анализ крови (общий белок, билирубин, креатинин, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, глюкоза, холестерин);
- анализ крови на ВИЧ, сифилис, вирусный гепатит В и С;
- ЭКГ;
- для женщин тест на беременность.

Если известно, что исследуемое лекарственное вещество подвергается биотрансформации, контролируемой генетически полиморфными изоферментами цитохрома P-450 (CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6), для снижения вариабельности фармакокинетических параметров целесообразно генотипирование добровольцев с целью исключения участия в исследовании лиц с генотипами "медленного" и "быстрого" метаболизма.

Результаты обследования заносятся в индивидуальные карты добровольцев. По результатам клинического осмотра и лабораторных тестов врач-исследователь делает заключение, на основании которого доброволец допускается или не допускается к исследованию. Врач-исследователь составляет список добровольцев и передает его лицу, ответственному за проведение исследования. Проводится рандомизация добровольцев, после чего каждому из них присваивается номер, регистрируемый в индивидуальной карте.

3.8. Подготовка клинического блока

Клинический блок, где будут находиться добровольцы, должен включать следующие помещения: палаты для проживания добровольцев, процедурная, столовая, комната отдыха, душевая и туалет. Перед госпитализацией в указанных помещениях должна быть проведена санитарная обработка. Обязательным требованием к проведению исследований биоэквивалентности является наличие блока интенсивной терапии или реанимационного отделения.

3.9. Организация питания добровольцев

Добровольцы в ходе исследования должны получать доброкачественное, сбалансированное питание. Как правило, в меню включаются диетические блюда, исключаются жирная и жареная пища и напитки, содержащие кофеин. Меню составляется накануне исследования и подается в пищеблок. Указывается время, к которому должна быть готова пища, название блюд и количество порций.

3.10. Отбор проб крови

При отборе проб крови должны соблюдаться следующие условия:

- кровь отбирается из локтевой вены через кубитальный катетер;
- первая порция крови (исходная, т.е. до приема препарата) берется утром, натощак, через 5-10 минут после установки катетера;
- испытуемый принимает исследуемый препарат или препарат сравнения, запивая его 200 мл кипяченой воды;
- время отбора последующих проб соответствует программе исследования;

- пробирки для отбора проб должны иметь маркировку с указанием шифра испытуемого, номера пробы и названия препарата;
- образцы биологической жидкости должны храниться при температуре не выше -20°C ;
- первый прием пищи должен быть не ранее, чем через 4 ч после приема лекарственного средства;
- при возникновении экстремальной ситуации (ухудшение самочувствия, психические нарушения, желание испытуемого выйти из исследования) отбор проб прекращается;
- при возникновении непредвиденных ситуаций, исключающих возможность отбора крови в установленном временном интервале, работа с данным испытуемым продолжается, но шифрованная пробирка остается пустой;
- пробы крови с сопроводительным направлением, в котором указываются ФИО испытуемого, пол, возраст, масса тела, рост, соответствующие шифру на пробирке, предоставляются в фармакокинетическую лабораторию.

3.11. Динамическое наблюдение за добровольцами в ходе исследования

Динамическое наблюдение за добровольцами в период отбора образцов крови осуществляется врачом-исследователем и включает:

- клинический осмотр каждые 3-8 ч (в зависимости от фармакологических особенностей препарата);
- измерение уровней артериального давления и частоты сердечных сокращений.

Результаты обследования заносятся в индивидуальные карты добровольцев.

По окончании первого периода исследования после удаления катетеров проводится заключительный врачебный осмотр добровольцев. При отсутствии отклонений в состоянии добровольцев их отпускают домой до начала второго периода исследования.

Перед вторым периодом исследования проводится повторное обследование добровольцев, включающее врачебный осмотр, и при необходимости, клинко-инструментальные исследования (ЭКГ и другие) и лабораторные тесты:

- клинический анализ крови;
- клинический анализ мочи;
- биохимический анализ крови;
- для женщин тест на беременность;
- и другие.

На основании результатов обследования врач-исследователь допускает или не допускает добровольцев ко второму периоду исследования.

Наблюдение за добровольцами в течение второго периода отбора образцов крови осуществляется так же, как и в первом периоде.

После завершения второго периода исследования проводится заключительный врачебный осмотр. При отсутствии отклонений в состоянии добровольцев, их отпускают домой.

Для обеспечения безопасности исследования врачом-исследователем проводится мониторинг нежелательных явлений. Случаи возникновения нежелательных явлений регистрируются в индивидуальной карте добровольца и соответствующей форме.

3.12. Интервал между периодами исследования

В интервале времени между первым и вторым периодами исследования добровольцы должны соблюдать установленные правила. Продолжительность интервала определяется в зависимости от фармакокинетических свойств изучаемого лекарственного средства (обычно 7-14 дней).

3.13. Дублеры добровольцев

В ходе подготовки к исследованию осуществляется также подбор дублеров на случай замены выбывших из исследования добровольцев. Дублеры до начала исследования должны подписать информированное согласие и пройти обследование в том же объеме, что и добровольцы. Число дублеров составляет 4-6 человек.

4. Регламент фармакокинетического исследования

4.1. Общая схема исследований

Исследования лекарственных средств осуществляются по открытой, рандомизированной и перекрестной сбалансированной схеме - каждый испытуемый последовательно получает исследуемое лекарственное средство (Т) и препарат сравнения (R) или наоборот (схема "RT/TR").

4.2. Число испытуемых

В исследование должно быть включены испытуемые в количестве достаточном для обеспечения статистической значимости исследования. При этом мощность статистического теста для проверки биоэквивалентности должна поддерживаться на уровне не меньше 80% для выявления 20%-ных различий между показателями сравнения. Минимальное число включенных испытуемых - 18 человек. Большее число испытуемых может потребоваться для сравнения препаратов, обладающих значительной

вариабельностью фармакокинетических параметров. При планировании эксперимента априорные значения вариации основных показателей сравнения (AUC и C_{max}), необходимые для расчета числа испытуемых, могут быть оценены по результатам сходных исследований, литературным данным, результатам пилотного исследования, а предварительная оценка необходимого числа испытуемых может быть получена с помощью таблицы.

Если при проведении статистического сравнения уровень мощности теста оказался ниже 80%, в тех случаях, когда сравниваемые препараты оказались небиоэквивалентными, для принятия обоснованного заключения о небиоэквивалентности необходимо включить в исследование большее число испытуемых.

Подробнее эти вопросы рассмотрены в Приложении 3.

Таблица. Число испытуемых, необходимых для обеспечения 80%-ой мощности статистического критерия в случае лог-нормального распределения (границы доверительного интервала 0,80 - 1,25; уровень значимости - 5%)

Коэффициент вариации CV* (%)	μ_T/μ_R							
	0,85	0,90	0,95	1,00	1,05	1,10	1,15	1,20
5	12	6	4	4	4	6	8	22
7,5	22	8	6	6	6	8	12	44
10,0	36	12	8	6	8	10	20	>48
12,5	>48	16	10	8	10	14	30	>48
15	>48	22	12	10	12	20	42	>48
17,5	>48	30	16	14	16	26	>48	>48
20,0	>48	38	20	16	18	32	>48	>48
22,5	>48	46	24	20	24	40	>48	>48
25,0	>48	>48	28	24	28	48	>48	>48
27,5	>48	>48	34	28	34	>48	>48	>48
30,0	>48	>48	40	32	38	>48	>48	>48

*CV = $[\exp(\sigma^2) - 1]^{0,5}$, где σ^2 – средний квадрат “ошибки” или остаточная внутрииндивидуальная вариация, определяемая при дисперсионном анализе после логарифмической трансформации значений показателя;
 μ_T - генеральное среднее показателя сравнения для исследуемого препарата;
 μ_R - генеральное среднее показателя сравнения для препарата сравнения.

4.3. Доза лекарственного вещества

Оценка биоэквивалентности проводится с одной дозой данного воспроизведенного лекарственного вещества в данной лекарственной форме, даже если для регистрации она заявлена в нескольких дозировках, при соблюдении следующих условий:

- качественный состав лекарственной формы, содержащей различное количество лекарственного вещества, одинаков;
- соотношение между содержанием лекарственного вещества и вспомогательных веществ в лекарственной форме, содержащей различное количество лекарственного вещества, одинаково (в случае препаратов, содержащих малые количества лекарственного вещества (менее 5%), - между содержанием вспомогательных веществ);
- технология производства лекарственных средств, содержащих различное количество лекарственного вещества, одинакова;
- кинетика растворения лекарственного вещества для лекарственных средств с различной дозировкой должна быть эквивалентной (Приложение 4);
- фармакокинетика лекарственного вещества линейна в терапевтическом диапазоне.

Если в последствии тем же производителем лекарственное средство заявляется для регистрации в новой дозировке (в пределах разрешенного диапазона доз), и все перечисленные выше условия соблюдены, оценка биоэквивалентности не проводится.

Биоэквивалентность лекарственных средств в лекарственных формах пролонгированного действия оценивается для каждой дозы.

В исследованиях с многократным введением лекарственного средства схема его дозирования не должна отличаться от рекомендованной(ых) в инструкции по медицинскому применению.

4.4. Интервал времени между приемом лекарственных средств

Интервал времени между приемом лекарственных средств зависит от длительности циркуляции лекарственного вещества в организме, определяемой периодом полувыведения ($T_{1/2}$), и должен составлять не менее $6 T_{1/2}$.

4.5. Виды биологического материала, используемого для определения концентрации лекарственного вещества

При проведении оценки биоэквивалентности концентрация лекарственных веществ определяется в плазме, сыворотке или цельной крови, если не рекомендовано иное Комиссией по клинической фармакологии.

4.6. Схема отбора проб

Схема отбора проб определяется формой кривой "концентрация лекарственного вещества - время". Выбор моментов времени отбора проб должен обеспечивать получение нескольких точек для каждого фрагмента фармакокинетической кривой - не менее 3 - для

фазы первоначального возрастания концентрации и не менее 5 - для фазы ее снижения.

В случае лекарственных форм, обеспечивающих быстрое высвобождение лекарственного вещества, общая продолжительность наблюдения за его концентрацией при однократном приеме должна быть не менее чем в 4 раза больше периода полувыведения. В случае лекарственных форм пролонгированного действия продолжительность наблюдения должна обеспечивать сравнение лекарственных средств в период, когда концентрация лекарственного вещества постоянна (относительно постоянна), а также в период последующего снижения его концентрации. Время наблюдения за уровнями лекарственного вещества в этой фазе должно быть в 4 раза больше периода его полувыведения). При однократном приеме длительность наблюдения считается достаточной, если для усредненного фармакокинетического профиля величина площади под кривой “концентрация - время” в пределах от нуля до момента отбора последней пробы составляет не менее 80% от полной площади. При многократном приеме лекарственного средства длительность наблюдения за стационарными уровнями концентрации лекарственного вещества определяется интервалом дозирования.

5. Аналитический метод

Для определения концентрации лекарственных веществ в плазме, сыворотке или цельной крови могут быть использованы различные методы (физико-химические, иммунологические, микробиологические и др.), обеспечивающие возможность получения достоверных данных о концентрации лекарственного вещества при выбранных условиях фармакокинетического исследования, в частности, его длительности, и отвечающие общим требованиям селективности, точности, воспроизводимости.

Если вследствие пресистемной элиминации лекарственного вещества, оно не обнаруживается в крови в неизменном состоянии и (или) не обладает биологической активностью (пролекарство), необходимо определять концентрацию биологически активного метаболита. При оценке биоэквивалентности комбинированных лекарственных средств следует определять концентрацию каждого лекарственного вещества, входящего в состав препарата, если не рекомендовано иное Комиссией по клинической фармакологии.

6. Анализ фармакокинетических данных

Оценка биодоступности лекарственного вещества или его основного биологически активного метаболита (если изучаемые лекарственные средства представляют собой

пролекарства) основывается на сравнении значений фармакокинетических параметров, оцененных непосредственно по данным "концентрация (C) - время (t)" для исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения.

6.1. Однократное введение лекарственных средств

Индивидуальные значения площади под кривыми "концентрация - время" - AUC (как в пределах длительности наблюдения за концентрацией лекарственного вещества - AUC_t , так и в пределах от 0 до ∞ - AUC_∞), максимальной концентрации (C_{max}) и времени ее достижения (t_{max}) следует оценить внемодельными методами по данным "концентрация - время", установленным у каждого испытуемого для каждого из изучаемых лекарственных средств. Значения параметров C_{max} и t_{max} оценивают как наибольшее из измеренных значений концентрации и соответствующее время наблюдаемого максимума. Величину AUC_t рассчитывают при помощи метода обычных или логарифмических трапеций. Значения AUC_∞ определяют по формуле: $AUC_\infty = AUC_t + C_t/k_{el}$, где C_t и k_{el} - расчетные значения концентрации лекарственного вещества в последней пробе и константы элиминации, соответственно. Для вычисления C_t и k_{el} конечный (моноэкспоненциальный) участок фармакокинетической кривой описывают с помощью нелинейного регрессионного анализа.

При достаточной длительности наблюдения, когда $AUC_t > 80\% AUC_\infty$ (см. раздел 4.6), для оценки полноты всасывания исследуемого лекарственного средства следует использовать значения AUC_t , а при условии, что $AUC_t < 80\% AUC_\infty$, - значения AUC_∞ .

Последующий анализ фармакокинетических данных предусматривает вычисление индивидуальных отношений AUC_t или AUC_∞ (соответственно f' и f - оценки относительной степени всасывания) и C_{max} (f'') - для любых лекарственных форм, отношений C_{max}/AUC_t или C_{max}/AUC_∞ как характеристик скорости всасывания - для обычных форм, а для форм пролонгированного действия - продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает 75% от C_{max} ($T > 75\% C_{max}$).

6.2. Многократное введение лекарственных средств

В тех случаях, когда ввиду недостаточной чувствительности аналитического метода получить полноценные фармакокинетические профили после однократного введения лекарственного средства невозможно, а также когда внутрииндивидуальная вариабельность концентрации лекарственного вещества при однократном введении выше,

чем при его длительном введении, оценка биоэквивалентности лекарственных средств проводится после их многократного введения.

В стационарных условиях (ss), реализующихся при повторяющемся введении лекарственных средств в одинаковой дозе с одним и тем же интервалом дозирования (τ), индивидуальные фармакокинетические профили следует охарактеризовать значениями площади под кривой "концентрация - время" в пределах интервала дозирования после установления стационарного распределения лекарственного вещества - $AUC_{\tau,ss}$, C_{max} , $C_{max}/AUC_{\tau,ss}$, значениями минимальной концентрации (C_{min} – концентрация в конце интервала дозирования), а также разности между значениями C_{max} и C_{min} , отнесенной к средней стационарной концентрации ($C_{ss} = AUC_{\tau,ss}/\tau$). Также вычисляют индивидуальные значения отношений $AUC_{\tau,ss}$ и C_{max} для исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения (соответственно f' и f'').

Для форм пролонгированного действия рассчитываются продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного вещества превышает среднее стационарное значение C_{ss} ($T > C_{ss}$), а также $T > 75\%C_{max}$.

7. Статистическая оценка биоэквивалентности

Оценка биоэквивалентности проводится по параметрам сравнения, выбранным в соответствии со схемой введения лекарственного средства (однократное и многократное введение) и его лекарственной формой (обычная или пролонгированного действия).

Статистический анализ проводят в предположении о лог-нормальном распределении параметров AUC , C_{max} и C_{max}/AUC и нормальном распределении остальных параметров за исключением t_{max} . В предположении о лог-нормальном распределении, сравнение средних значений параметров для исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения проводится на основе мультипликативной модели, а доверительные интервалы строятся для отношений соответствующих средних значений. После проведения логарифмического преобразования эти показатели анализируются с помощью дисперсионного анализа (ANOVA; параметрический метод).

Для обычной рандомизированной перекрестной схемы статистическая модель дисперсионного анализа должна включать следующие факторы, вносящие вклад в наблюдаемую вариацию данных:

- различия между лекарственными средствами,
- различия между испытуемыми (межиндивидуальные различия),
- последовательность приема лекарственных средств,

- периоды исследования.

Дисперсионный анализ применяется для проверки гипотез о статистической значимости вклада каждого из указанных факторов в наблюдаемую вариабельность. Полученная с помощью дисперсионного анализа оценка остаточной вариации используется при расчете доверительного интервала для отношения средних значений соответствующего параметра.

Процедура статистического сравнения состоит в вычислении параметрических двусторонних 90%-ные доверительных интервалов для отношений соответствующих средних значений для исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения. Лекарственные средства считаются биоэквивалентными, если границы оцененного доверительного интервала для AUC_t или AUC_∞ , а также $AUC_{\tau,ss}$ находятся в пределах 80 – 125%. Для показателей C_{max} и C_{max}/AUC_t , C_{max}/AUC_∞ или $C_{max}/AUC_{\tau,ss}$, характеризующихся большей вариабельностью, эти пределы составляют 75 – 133%.

8. Исключение резко выделяющихся наблюдений

При проведении оценки биоэквивалентности может быть обнаружено, что у одного или нескольких испытуемых различия между параметрами или их отношениями значимо отличаются от таковых у основной группы (резко выделяющиеся наблюдения – “outliers”). Выявление таких наблюдений проводится при помощи специальных статистических тестов. Для демонстрации наличия таких наблюдений приводятся графики индивидуальных стандартизованных различий (центрированных по среднему значению и нормированных по стандартному отклонению).

Резко выделяющиеся наблюдения могут не приниматься в расчет при оценке биоэквивалентности при условии, что справедливость исключения этих данных доказана.

9. Группа исследователей–специалистов в области фармакокинетики

Для проведения исследования выделяются сотрудники, обладающие профессиональным опытом в области количественного анализа лекарственных веществ в биоматериале и математического анализа фармакокинетических данных.

10. Программа проведения исследований

В программе должны быть отражены:

- сведения об изучаемых лекарственных средствах (лекарственная форма, содержание лекарственного вещества, фирма-производитель);
- сведения об испытуемых и об их количестве;
- план рандомизации;
- доза и режим дозирования,
- интервал времени между приемом лекарственных средств;
- биоматериал, в котором предполагается определять концентрацию лекарственного вещества;
- схема отбора проб, условия их хранения;
- сведения об аналитическом методе;
- сведения о методах фармакокинетического анализа;
- сведения о критериях биоэквивалентности.

11. Отчетная документация

В отчете об оценке биоэквивалентности должны быть представлены:

- утвержденная программа проведения исследования;
- названия исследуемых лекарственных средств;
- наименование фирм-изготовителей;
- номера серий исследуемых лекарственных средств, данные о сроке их годности;
- сведения о содержании лекарственного вещества в изученных лекарственных средствах;
- демографические и антропометрические данные испытуемых;
- клинические данные (если исследование биоэквивалентности проведено на больных), в которых указывается анамнез заболевания, диагноз, характер поражения внутренних органов и их функциональное состояние на момент проведения исследования;
- способ введения лекарственных средств и дозы;
- план рандомизации;
- методика отбора биоматериала и его предварительной обработки, условия хранения проб;
- описание аналитического метода, включающее метрологические характеристики и демонстрационные хроматограммы, если использованы хроматографические методы;
- описание процедур фармакокинетического анализа и оценки биоэквивалентности с указанием использованных программных средств;

- результаты определения содержания лекарственного вещества в биопробах, соответствующие средние значения и величины стандартных отклонений;
- индивидуальные фармакокинетические профили;
- усредненные фармакокинетические профили;
- индивидуальные значения параметров фармакокинетики, соответствующие средние значения и величины стандартных отклонений;
- средние геометрические значения лог-нормально распределенных параметров фармакокинетики, соответствующие интервальные оценки;
- результаты дисперсионного анализа, значения соответствующих коэффициентов вариации;
- статистические критерии, использованные для оценки биоэквивалентности, и результаты этой оценки;
- выводы.

Основная литература

1. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Сариев А.К. – Гармонизация проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов: вопросы и их возможное решение. Эксперим. и клинич. фармакол. 2003, №2, с. 60-64.
2. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. – «Корреляция *in vitro* – *in vivo*»: может ли тест «Растворение» заменить исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов. Фарматека, 2003, №3, с. 109-114.
3. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филов В.А. - Фармакокинетика (руководство). Медицина, М., 1980, 423 с.
4. Фирсов А.А., Пиотровский В.К. - Фармакокинетические методы в биоинформации. Итоги науки и техники, ВИНТИ, М. 1984, т.14, с.114 - 227.
5. Bioequivalence Assessment. Methods and Applications, Ed. Steinijans V. W. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. and Toxicol., Vol. 30 (Suppl. 1), 1992, pp. 1-66.
6. Investigation of Bioavailability and Bioequivalence - Commission of the European Communities, III/54/89-EN, December 1991, pp. 1-20.
7. In vivo bioequivalence guidances - U.S. Pharmacopeia 27-NF 22, 2004, pp. 2056-2098.
8. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence. – The European Agency for the Evaluation of Medical Products, Committee for Proprietary Medicinal Products, London, July 2001, pp. 1-18.
9. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. – U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, January 2001.
10. Waiver of *in vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. – U.S. Department

of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, August 2000.

11. Diletti E., Hauschke D., Steijnen V. W. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. and Toxicol.* Sample size determination for bioequivalence assessment by means of confidence intervals. 1991, Vol. 29, pp. 1-8.
12. Hauschke D., Steijnen V. W., Diletti E. A. Distribution-free Procedure for the Statistical Analysis of Bioequivalence Studies. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 1990, Vol. 28, pp. 72-78.
13. Hills M., Armitage P. The Two-Period Cross-Over Clinical Trial. *Br. J. Clin. Pharmac.* 1979, Vol. 8, pp. 7-20.
14. Lund R. E. Tables for an Approximate Test for Outliers in Linear Models. *Technometrics.* 1975, Vol. 17, pp 473-476.
15. Schuirman D. J. A comparison of the two one-side tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1987, Vol. 15, pp. 657-680.
16. Shein-Shung Chow, Jen-Pei Liu. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalent Studies.* Marcel Dekker, New York, 1992.
17. Steijnen V. W., Diletti E. Statistical Analysis of Bioavailability Studies: Parametric and Nonparametric Confidence Intervals. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1983, Vol. 24, pp 127-136.
18. Steijnen V. W., Sauter R., Jonkman H. G., et al. Bioequivalence Studies: Single vs Multiple Dose. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 1989, Vol. 27, pp. 261-266.
19. Wijnand H. P. Bioequivalence assessment of drug formulations. Non-parametric versus parametric analysis. Doctor's thesis. Leiden, 1994, pp. 1 - 60.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Основные принципы составления информации для добровольца с формой информированного согласия

Форма информированного согласия добровольца (волонтера) на участие в оценке биоэквивалентности лекарственного средства

Я, _____, проживающий по адресу _____, тел. _____.

Паспорт: серия _____ № _____, выдан _____, ознакомился с информацией о целях предстоящей оценке биоэквивалентности лекарственного средства _____ и получил копию данного документа. Я имел возможность обсудить с врачом-исследователем все интересующие меня вопросы и получил удовлетворяющие меня ответы.

Я предупрежден о том, что оценка биоэквивалентности лекарственного средства _____ будет вызывать некоторый дискомфорт, а также не исключена возможность вредного влияния изучаемого лекарственного средства на мое здоровье или самочувствие.

Я добровольно соглашаюсь принять участие в оценке биоэквивалентности вышеупомянутого лекарственного средства, извещен, что имею право отказаться или в любой момент прекратить участие в данном исследовании, что не повлечет за собой изменения отношения ко мне медицинского персонала.

Я знаю, что если я решу прервать свое участие в исследовании, я должен буду информировать об этом врача-исследователя для того, чтобы предоставить ему возможность оценить мое состояние и дать необходимые рекомендации.

Я согласен выполнять инструкции, добросовестно сотрудничать с врачом-исследователем и немедленно сообщать ему о любого рода изменениях моего здоровья.

Я извещен, что информация, полученная в ходе исследования является конфиденциальной. Я согласен с тем, чтобы она использовалась в полной мере и передавалась в регуляторные органы и официальные медицинские инстанции, а также уполномоченным лицам и представителям спонсора.

Я извещен, что если моему здоровью будет причинен ущерб, связанный с моим участием в исследовании, страховая компания выплатит мне компенсацию. Сумма компенсации может быть пересмотрена в случае моей вины в возникновении ухудшения здоровья.

Ф.И.О. добровольца _____

Подпись добровольца: _____ Дата _____

Ф.И.О. врача-исследователя _____

Подпись врача-исследователя: _____ Дата _____

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Информация для добровольцев, участвующих в оценке биоэквивалентности лекарственного средства

Оценка биоэквивалентности лекарственных средств - это сравнительное фармакокинетическое изучение лекарственных средств, выпускаемых разными фирмами и имеющими в своем составе одно и то же лекарственное вещество.

Исследования проводятся на здоровых добровольцах.

Для определения состояния здоровья добровольца проводится полное обследование, включающее клинические и лабораторные тесты (анализы крови, мочи, исследование на ВИЧ, RW, вирусный гепатит В и С, ЭКГ). Если нет противопоказаний, доброволец включается в группу испытуемых.

Доброволец подписывает информированное письменное согласие, в котором он дает свое согласие на участие в исследовании.

Доброволец обязуется выполнять следующие правила:

- в течение недели до исследования и во время исследования доброволец не принимает лекарственные средства. При необходимости приема лекарственных средств следует проконсультироваться с врачом-исследователем;
- накануне исследования и во время исследования доброволец не употребляет кофеинсодержащие продукты (чай, кофе и др.);
- за семь дней до исследования и во время проведения исследования доброволец не употребляет алкоголь и ограничивает себя в курении;
- накануне исследования последний прием пищи должен заканчиваться не позднее 19 часов, ужин не должен включать жирную пищу;
- исследование проводится в стационарных условиях, доброволец обязан соблюдать правила пребывания в стационаре.

Принципиальная схема оценки биоэквивалентности лекарственного средства:

- Во время исследования добровольцы находятся в специальном блоке, где им созданы необходимые гигиенические условия и будет предложено 3-4 разовое питание. В случае необходимости добровольцам оказывается квалифицированная медицинская помощь.
- Исследование состоит из двух равнозначных периодов.
Каждый из этих периодов начинается в ____ часов утра, когда добровольцу устанавливают в одну из вен руки катетер, через который в процессе исследования по заранее представленной схеме будет проводиться отбор крови. Всего будет взято не более 150 – 200 мл крови. При необходимости (в случае тромбоза катетера, выхода катетера из вены и др.) катетер будет переставлен в другую вену.
- После первого отбора крови доброволец должен принять исследуемое лекарственное средство или его аналог. Последовательность приема лекарственных средств будет случайной.
- После отбора последней пробы крови у добровольца будет удален внутривенный катетер, и он будет отпущен домой до следующего периода исследования.
- В случае возникновения нежелательных явлений добровольцу будет оказана квалифицированная медицинская помощь.
- Перерыв между периодами исследований составляет ____ дней. Доброволец в промежутке между ними должен соблюдать вышеизложенные требования.
- В случае неявки добровольца на 2-ой период исследований, он исключается из исследований и лишается права на вознаграждение.

Условиями прекращения участия в исследовании добровольца являются:

- желание испытуемого

- несоблюдение правил проведения исследования
- медицинские показания

На время исследования добровольцы страхуются на случай возникновения возможных нежелательных явлений, связанных с применением лекарственных средств.

При возникновении любых вопросов, связанных с проведением исследования или изменением в состоянии здоровья, следует обращаться к врачу

_____ Контактный телефон _____

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Вопросы планирования оценки биоэквивалентности лекарственных средств.

Особенности статистического анализа оценки биоэквивалентности связаны со структурой перекрестной схемы RT/TR. При планировании исследования возникает проблема определения минимального числа пациентов, необходимого для получения статистически значимого заключения в соответствии с данными методическими указаниями, а после завершения статистического анализа полученных данных - проблема оценки мощности теста.

Пусть μ_T и μ_R – генеральные средние показатели сравнения для испытуемого лекарственного средства и препарата сравнения, соответственно. Гипотеза о биоэквивалентности может быть сформулирована в терминах отношения сравниваемых параметров или в терминах их абсолютных различий. Для параметров, связанных с определением концентрации лекарственного вещества (AUC, C_{\max} , C_{\max}/AUC и пр.), принято сравнение отношений (в предположении об лог-нормальном распределении и мультипликативной модели данных). Если Q_1 и Q_2 - нижняя и верхняя принятые допустимые границы биоэквивалентности, нулевая гипотеза об отсутствии эквивалентности может быть записана как:

$$H_0 : \mu_T / \mu_R < Q_1 \text{ или } \mu_T / \mu_R > Q_2,$$

а соответствующая альтернативная гипотеза о наличии биоэквивалентности формулируется как:

$$H_A : Q_1 \leq \mu_T / \mu_R \leq Q_2.$$

В случае проведения логарифмического преобразования формулировка гипотез также трансформируется:

$$H'_A : \delta_1 \leq \mu_T - \mu_R \leq \delta_2,$$

где $\delta_i = \ln(Q_i)$, при $i = 1, 2$; в этом случае $\mu_T - \mu_R$ – разность средних значения показателей сравнения, соответствующая логарифмической трансформации. Такой же вид гипотезы соответствует тестированию абсолютных различий в случае, если

предполагается нормальное распределение показателя сравнения и аддитивная модель данных. Допустимые значения границ зафиксированы в настоящих Рекомендациях.

Вывод об эквивалентности в результате тестирования гипотез может быть сделан, если $100 \cdot (1 - 2 \cdot \alpha)\%$ доверительный интервал для разницы (или отношения) средних значений полностью располагается внутри выбранного интервала эквивалентности.

Необходимость определения необходимого числа испытуемых диктуется экономическими и этическими соображениями. Число испытуемых, необходимое для получения статистически значимого заключения о биоэквивалентности исследуемых лекарственных средств, зависит от уровня значимости (α), мощности теста ($1 - \beta$), допустимой величины различий ε и величины дисперсии данных σ . Три первые величины регламентированы настоящими Рекомендациями. Вариация данных оценивается либо по прошлому опыту проведения аналогичных исследований, либо по литературным данным, либо по пилотному исследованию. Чем более переменчивы данные, тем больше испытуемых потребуется для демонстрации биоэквивалентности лекарственных средств.

При проведении оценки биоэквивалентности в соответствии с обычным перекрестным дизайном в предположении об отсутствии влияния периода наблюдения вычисление доверительных интервалов базируется на парном критерии Стьюдента. Поэтому самым простым способом оценки необходимого числа испытуемых (n) будет расчет по следующей формуле в предположении равенства средних значений $\mu = \mu_R = \mu_T$:

$$n = \frac{2\sigma^2(t(f, \alpha) + t(f, \beta))^2}{\varepsilon^2}, \quad (1)$$

где ε - величина допустимых различий между средними значениями, число степеней свободы $f = n - 1$ в случае вычисления доверительных интервалов на базе парного критерия Стьюдента, $f = n - 2$ в случае, если учитывается влияние периода наблюдений и доверительный интервал строится на базе подходящей процедуры дисперсного анализа. В любом случае получается, что для определения по таблицам значения коэффициента Стьюдента $t(f, \alpha)$ необходимо знать число включенных добровольцев n , а именно его мы и пытаемся рассчитать по формуле. Для разрешения этого противоречия обычно применяют итерационную процедуру, а в качестве первоначальной оценки значения коэффициента Стьюдента берется его соответствующее значение при бесконечном числе степеней свободы, то есть соответствующее значение стандартного нормального распределения Z_α . В качестве значения σ в случае учета влияния периода наблюдений обычно используют среднее квадратичное отклонение, оцененное с помощью анализа вариации для

перекрестного дизайна (оценка значения σ - квадратный корень из среднего квадрата “ошибки”, или остаточной внутрииндивидуальной вариации).

Последнее уравнение может быть модифицировано и выражено в терминах коэффициента вариации, $CV = \sigma/\mu$ и $\Omega = \varepsilon/\mu$ как:

$$n = 2 \cdot \frac{CV^2 \cdot (t(f, \alpha) + t(f, \beta))^2}{\Omega^2}. \quad (2)$$

В соответствии с настоящими рекомендациями при этом определении величина Ω не должна превышать значение 0,2 (20%).

Приведенные формулы для оценки необходимого числа испытуемых применимы как в случае аддитивной, так и в случае мультипликативной модели данных. Различия заключаются в оценки величины дисперсии σ^2 , или коэффициента вариации CV. Так, в случае предположения о лог-нормальном распределении данных и сравнения отношения средних значений коэффициент вариации оценивается по значению среднего квадрата ошибки σ^2 , полученному в результате дисперсионного анализа для трансформированных данных ($CV = \sqrt{\exp(\sigma^2) - 1}$). Если квадрат CV достаточно мал, $CV \approx \sigma$.

Рассмотрим случай, когда известно, что предположение о равенстве средних значений показателей $\mu = \mu_R = \mu_T$ нарушается. Пусть теперь $\delta = \mu_T - \mu_R$. Поскольку кривые мощности процедуры проверки двух односторонних тестов симметричны относительно нуля, рассмотрим случай $0 < \delta = \delta_0 < 0,2\mu_R$.

Тогда необходимое число испытуемых в исследовании для поддержания мощности на уровне 80% и допустимых различиях $\Omega\%$ (обычно 20%) определяется по формуле:

$$n(\delta_0) \geq 2 \cdot \frac{CV^2 \cdot (t(f, \alpha) + t(f, \beta))^2}{[\Omega - \delta'_0]^2}, \quad (3)$$

где $\delta'_0 = 100 \cdot \frac{\delta_0}{\mu_R}$, CV – коэффициент вариации данных ($CV = 100 \cdot \frac{\sigma}{\mu_R}$), t – критическая точка распределения Стьюдента, f – число степеней свободы ($f = n-1$). Наличие в правой части формулы значения n опять приводит к необходимости применения итерационной процедуры поиска.

Может быть также решена и обратная задача – по числу испытуемых n , коэффициенту вариации CV, величине различий Ω и уровня значимости α оценить мощность статистического теста оценки биоэквивалентности. Для этого, пользуясь таблицей распределения Стьюдента, определяют вероятность ошибки второго рода β по

значению коэффициента Стьюдента, вычисленного по следующей формуле (в предположении равенства средних значений показателя сравнения):

$$t(f, \beta) = \frac{\Omega}{CV} \sqrt{\frac{n}{2}} - t(f, \alpha).$$

В случае нарушения предположения о равенстве средних значений последняя формула может быть записана как:

$$t(f, \beta) = \frac{[\delta'_0] - \Omega}{CV} \sqrt{\frac{n}{2}} - t(f, \alpha).$$

Мощность статистического теста должна быть не меньше 80%.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Исследования кинетики растворения лекарственных веществ

Для лекарственного средства, заявленного для регистрации в нескольких дозировках, проводится оценка эквивалентности кинетики перехода лекарственного вещества в раствор для каждой дозировки. Методически степень перехода лекарственного вещества в раствор определяют в условиях, описанных для данного лекарственного средства в соответствующей фармакопейной статье, для нескольких (не менее трех) временных точек, расположенных равномерно в интервале времени исследования. Последняя точка профиля должна соответствовать моменту перехода в раствор не менее 90% лекарственного вещества или фазе насыщения процесса.

Эквивалентность кинетики растворения лекарственного вещества оценивают, исходя из фактора сходимости (f_2), который рассчитывают по уравнению:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \right] \times \sum_{i=1}^{i=n} (\bar{R}_i - \bar{T}_i)^2 \right\}^{0.5} \times 100;$$

где n - число временных точек;

\bar{R}_i - количество лекарственного вещества, перешедшее в раствор из препарата сравнения в i -той временной точке (в среднем, в процентах);

\bar{T}_i - количество лекарственного вещества, перешедшее в раствор из исследуемого лекарственного средства в i -той временной точке (в среднем, в процентах).

Оценку эквивалентности кинетики растворения проводят при следующих условиях:

- для каждой временной точки для каждого лекарственного средства проводят не менее 6 параллельных определений;
- только одно из рассчитанных средних значений для каждого лекарственного средства может быть больше 85%;
- величина стандартного отклонения для каждого среднего значения, за исключением первой временной точки, не должна быть больше 10%.

Кинетика растворения лекарственного вещества считается эквивалентной, если значение f_2 лежит в пределах от 50 до 100. В том случае, когда более 85% лекарственного вещества переходит в раствор в течение 15 мин, кинетика растворения считается эквивалентной без математической оценки.