



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



PerLek

Частные требования к программе доклинических и клинических исследований отдельных групп биоаналогичных лекарственных препаратов

(на примере низкомолекулярных гепаринов)

Добровольский А.В., главный эксперт управления №2 по
эффективности и безопасности лекарственных средств
ЦЭК ГЛС ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
26 апреля 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

Предрегистрационное изучение биоаналогов



RegLec – ЕАЭС

Доклинические и клинические исследования биоаналогов





научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

Регуляторный статус в РФ (на 25 апреля 2022 года)



RegLec – EAES

Низкомолекулярные гепарины (НМГ)	Разрешены к применению	Находятся в процессе регистрации	Находятся на этапе клинического изучения
Эноксапарин натрия	11	3	3
Надропарин кальция	7	2	2
Далтепарин натрия	2	—	4
Бемипарин натрия	1	—	—
Парнапарин натрия	1	—	—



Глава 15.6. Доклинические и клинические исследования биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов на основе гепаринов низкой молекулярной массы

4. Доклинические исследования

Перед началом клинических исследований должны быть проведены доклинические исследования. Доклинические исследования носят сравнительный характер и направлены на выявление различий между фармакотоксикологическим действием биоаналогичного (биоподобного) лекарственного препарата и оригинального (референтного) низкомолекулярного гепарина, а не на изучение ответа на препарат как такового. Выбор подхода должен быть полностью обоснован в доклиническом обзоре.

Исследование фармакодинамики

Исследование in vitro

Для сопоставления разницы в активности подобного лекарственного препарата и оригинального (референтного) низкомолекулярного гепарина должны быть представлены **данные нескольких сравнительных биологических анализов** (на основании современных данных о клинически значимом фармакодинамическом влиянии низкомолекулярных гепаринов, включая как минимум оценку анти-Ха и анти-IIa активности). По возможности для измерения активности следует использовать стандартизированные методы (например, в соответствии с Фармакопеей Союза). Такие данные могут быть получены ранее в процессе изучения качества препарата.

Исследование in vivo

Если при характеристике физико-химических и биологических свойств с использованием высокочувствительных современных методов установлена высокая степень сходства биоаналогичного (биоподобного) и оригинального (референтного) препаратов, не требуется проведение исследований in vivo как части изучения сопоставимости. В остальных случаях in vivo сравнительное количественное изучение фармакодинамической активности биоаналогичного (биоподобного) и оригинального (референтного) низкомолекулярных гепаринов включает: использование фармакодинамической модели in vivo, разработанной с учетом самых современных данных о клинически значимых фармакодинамических эффектах низкомолекулярных гепаринов, в которую включена по меньшей мере оценка анти-Ха и анти-IIa активности, а также оценка степени высвобождения ингибитора пути тканевого фактора, и (или) использование подходящей модели либо венозного, либо артериального тромбоза на животных в соответствии с клиническими показаниями.



Глава 15.6. Доклинические и клинические исследования биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов на основе гепаринов низкой молекулярной массы

5. Клинические исследования

Исследование фармакокинетики и фармакодинамики

Гетерогенность низкомолекулярных гепаринов не позволяет проведение обычного исследования фармакокинетических свойств. Поэтому оценка всасывания и элиминации низкомолекулярных гепаринов проводится при изучении фармакодинамических свойств по показателям (включая анти-Ха и анти-IIa), которые могут быть использованы в качестве суррогатных маркеров концентрации препарата. При этом могут быть использованы и другие показатели, такие как активность ингибитора пути тканевого фактора и соотношение активности анти-Ха и анти-IIa факторов. Оценка данных показателей позволит в значительной степени охарактеризовать полисахаридный профиль препарата. Изучение подобия (сходства) биоаналогичного (биоподобного) и оригинального (референтного) препаратов по данным показателям (ФК-профили и ФД-профили) проводят в рандомизированном перекрестном исследовании в двух группах здоровых добровольцев при подкожном введении препаратов. Если оригинальный (референтный) препарат кроме подкожного пути введения зарегистрирован еще и для внутривенного или внутриартериального пути введения, то необходимо проведение дополнительного сравнительного исследования для данных путей введения. Выбранная доза должна соответствовать крутой части кривой зависимости "доза - эффект" и находиться в рекомендуемом для разных показаний диапазоне доз. Пределы эквивалентности также должны быть определены и должным образом обоснованы заранее.

Исследование эффективности

Как правило, для демонстрации сходства биоаналогичного (биоподобного) и оригинального (референтного) препаратов необходимо сравнительное изучение клинической эффективности. Сравнительные исследования эффективности могут не проводиться только в том случае, если биоаналогичный (биоподобный) и оригинальный (референтный) низкомолекулярный гепарины могут быть достоверно сопоставлены по своим физико-химическим характеристикам, биологической активности (силе действия) и характерному фармакодинамическому профилю, установленным с применением современных высокочувствительных и специфичных методов исследования..

Следует принимать во внимание, что это возможно в исключительном случае, при условии, что в регистрационном досье представлены данные значительного количества проведенных подтверждающих химико-аналитических и биоаналитических исследований.

Терапевтическая эквивалентность должна быть подтверждена в клиническом исследовании достаточной статистической мощности, рандомизированном, двойном слепом, проводимом в параллельных группах. Теоретически это можно осуществить при применении препарата для профилактики венозной или артериальной тромбоэмболии или при лечении венозной тромбоэмболии. При этом должна быть выбрана наиболее чувствительная модель для выявления различий эффективности между новым низкомолекулярным гепарином и оригинальным (референтным) лекарственным препаратом.



1. Проводятся **несколько** сравнительных ДКИ in vitro, включающих оценку физико-химических свойств (подлинность, молекулярно-массовое распределение, профиль распределения олигосахаридов, чистота и др.) и специфической фармакологической активности и позволяющие оценить сопоставимость физико-химических и биологических свойств биоаналогичного и оригинального (референтного) препарата
- 2 В случае неподтверждения высокой степени сходства физико-химических и биологических свойств in vitro, дополнительно проводятся сравнительные ДКИ фармакодинамической активности биоаналогичного и оригинального препаратов in vivo
3. Проводится сравнительное изучение фармакодинамических показателей (как минимум – анти-Ха и анти-IIa активность) биоаналогичного и оригинального препаратов в рандомизированном перекрестном КИ I фазы в двух группах здоровых добровольцев при подкожном (\pm внутривенном) введении

Если подтверждена сопоставимость биоаналогичного и оригинального препарата по физико-химическим характеристикам и биологической активности в ДКИ in vitro (\pm in vivo) и фармакодинамическому профилю в КИ I фазы у здоровых добровольцев, то сравнительные РКИ III фазы можно не проводить

4. В случае выявления существенной гетерогенности, для демонстрации сходства биоаналогичного и оригинального препаратов проводится сравнительное изучение клинической эффективности у чувствительной популяции пациентов в двойном заслепленном РКИ III фазы достаточной статистической мощности



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Доклинические исследования (ДКИ)



2.4.1. Обзор стратегии доклинических исследований

Биоаналоговый лекарственный препарат (ЛП) «Эноксапарин натрия» (МНН: эноксапарин натрия; ЛФ: раствор для инъекций; дозировка: 2000 анти-Ха МЕ/0,2 мл, 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл, 6000 анти-Ха МЕ/0,6 мл, 8000 анти-Ха МЕ/0,8 мл), предлагаемый к регистрации, относится к группе ЛП, представляющих собой растворы для инъекций (согласно классификации ЛФ для парентерального применения, приведенной в ОФС.1.4.1.0007.15. «Лекарственные формы для парентерального применения»). Согласно ч. 9 ст. 18 Федерального закона №61 «Об обращении лекарственных средств», в составе раздела фармакологической, токсикологической документации представлен обзор научных работ о результатах доклинических исследований эноксапарина натрия.



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Доклинические исследования *in vitro*



Пример №1

РЕЗЮМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено определение анти-Ха активности и анти-Па активности низкомолекулярного гепарина лекарственных препаратов Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти-Ха МЕ/мл, производитель [REDACTED] и препарата-сравнения Клексан®, раствор для инъекций 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл, производитель «САНОФИ-АВЕНТИС ФРАНС», Франция.

Определение активности гепарина проводили методом УФ-спектрофотометрии на планшетном спектрофотометре с использованием набора реагентов для определения активности низкомолекулярного гепарина.

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти-Ха МЕ/мл, производитель [REDACTED]

[REDACTED] составили:

- анти-Ха активность: 9969 МЕ/мл
- анти-Па активность: 2792 МЕ/мл
- соотношение анти-Ха/ анти-Па активностей: 3,57

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Клексан®, раствор для инъекций 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл, производитель «САНОФИ-АВЕНТИС ФРАНС», Франция составили:

- анти-Ха активность: 9986 МЕ/мл
- анти-Па активность: 2863 МЕ/мл
- соотношение анти-Ха/анти-Па активностей: 3,49

Рассчитанные величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения соответствовали нормам фармакопейных статей USP и EP на эноксапарин:

- от 9000 до 11000 анти-Ха МЕ в 1 мл препарата.
- от 2000 до 3500 анти-Па МЕ в 1 мл препарата.
- соотношение активностей анти-Ха/ анти-Па от 3,3 до 5,3.

Отчет об исследовании представлен на 18 страницах, содержит 10 таблиц и 2 рисунка.

РЕЗЮМЕ

Проведено определение анти-Ха активности и анти-Па активности низкомолекулярного гепарина в лекарственных средствах Надропарин кальция, раствор для подкожного введения 9500 анти-Ха МЕ/мл [REDACTED] серии: P10521, P20521, P30521) (далее - Надропарин-Т) и Фраксипарин, раствор для подкожного введения 5700 МЕ анти-Ха/0,6 мл (Аспен Фарма Трейдинг Лимитед, Ирландия, серии: 5320, 8128А, 8135) (далее - Надропарин-Р).

Определение активности гепарина проводили методом УФ-спектрофотометрии на планшетном спектрофотометре с использованием набора реагентов для определения активности низкомолекулярного гепарина.

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Надропарин-Т составили:

- 9052 МЕ/мл, 3137 МЕ/мл, 2,9 (серия P10521);
- 9058 МЕ/мл, 2903 МЕ/мл, 3,1 (серия P20521);
- 9000 МЕ/мл, 3095 МЕ/мл, 2,9 (серия P30521).

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Надропарин-Р составили:

- 9528 МЕ/мл, 3452 МЕ/мл, 2,8 (серия 5320);
- 9677 МЕ/мл, 3597 МЕ/мл, 2,7 (серия 8128А);
- 9097 МЕ/мл, 3227 МЕ/мл, 2,8 (серия 8135).

Указанные значения соотношений анти-Ха и анти-Па активностей соответствовали нормам (2,2-4,0).



Пример №2

РЕЗЮМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено определение подлинности (УФ-спектрофотометрия, качественная реакция на натрий) и чистоты - содержания свободных сульфатов (ионообменная хроматография) в лекарственных препаратах Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти-Ха МЕ/мл, производитель [REDACTED] и препарата сравнения Клексан®, раствор для инъекций 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл, производитель «САНОФИ-АВЕНТИС ФРАНС», Франция.

Определение показателей качества проводили в соответствии с монографиями Европейской Фармакопеи 0828 <Heparines, low-molecular mass>, 1097 <Enoxaparin sodium>, а также общими фармакопейными статьями ГФ РФ и Фармакопеи ЕАЭС.

Дополнительно структура фармацевтической субстанции, входящей в состав препарата Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти-Ха МЕ/мл, производитель [REDACTED] подтверждена производителем фармацевтической субстанции [REDACTED]

[REDACTED] методами ЯМР, ИК и УФ-спектроскопии. Материалы представлены в разделе 3.2.S.3.1 «Elucidation of Structure and other Characteristics» мастер-файла на субстанцию и включены в отчет в качестве приложения 1 к отчету. Фармацевтическая субстанция Эноксапарин натрия производителя [REDACTED] включена в реестр фармацевтических субстанции РФ, [REDACTED]

Молекулярно-массовое распределение олигосахаридов и содержание 1,6-ангидропроизводных также контролируется производителем фармацевтической субстанции в соответствии с монографией Европейской Фармакопеи 10.5. Сертификат качества (с переводом на русский язык) на серию фармацевтической субстанции (NES210802) с использованием которой была произведена серия 10121 исследуемого лекарственного препарата (планирующаяся к использованию в клиническом исследовании) представлен в приложении 2.



Пример №3

Для доказательства биоаналогичности были проведены тесты на доказательство подлинности, структуры, профиля примесей и активности активного фармацевтического компонента Эноксапарина натрия в препарате «Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти Ха МЕ/ 1,0 мл» [REDACTED]

Методы, подтверждающие подлинность:

- ИК спектрометрия;
- УФ спектрофотометрия;
- ЯМР-спектроскопия.

Методы, подтверждающие структуру:

- Молярное соотношение сульфатных и карбоксилатных групп методом кондуктометрического титрования;
- Содержание 1,6-ангидропроизводных методом ионообменной хроматографии.
- Сравнение распределения олигосахаридов методом капиллярного зонного электрофореза;
- Сравнительный анализ распределения по молекулярной массе методом гель-фильтрационной ВЭЖХ.

Методы, подтверждающие профиль примесей:

- Содержание свободных сульфатов» методом ионообменной хроматографии;

Методы, подтверждающие активность:

- Определение анти-Ха и анти-Па активности амидолитическим методом с использованием хромогенного субстрата.

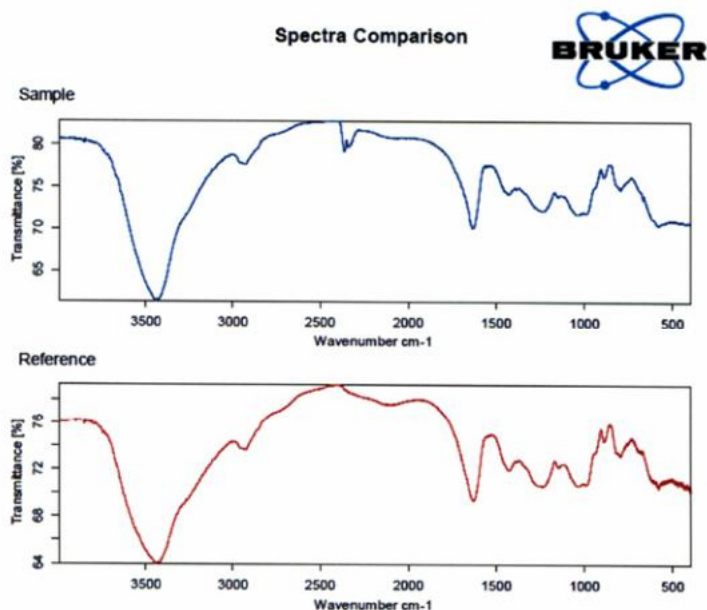
Результаты сравнительного анализа физико-химических свойств эноксапарина натрия [REDACTED] и препарата Клексан® представлены в таблице 43.

Таблица 43. Сравнительная характеристика

Показатели		Эноксапарин натрия, [REDACTED]	Препарат Клексан®, «Sanofi-Winthrop Industrie», Франция»
1	ИК спектр эноксапарина натрия	ИК спектр - соответствует спектру препарата Клексан®	
2	УФ-спектрофотометрия	УФ-спектр соответствует спектру препарата Клексан®	
3	Средняя молекулярная масса, распределение по молекулярным массам (метод гель-фильтрационной ВЭЖХ)	Соответствует препарату Клексан®	
4	Распределение олигосахаридов, определенное методом капиллярного зонного электрофореза	Соответствует препарату Клексан®	
5	Содержание свободных сульфатов (метод ионообменной хроматографии)	Соответствует требованиям. Содержание свободных сульфатов в препарате Эноксапарин достоверно меньше, чем в препарате Клексан®	
6	Молярное соотношение сульфатных и карбоксилатных групп	Соответствует препарату Клексан®	
7	Содержание 1,6-ангидропроизводных (методом ВЭЖХ)	Соответствует препарату Клексан®	
8.	Определение активности	Соответствует препарату Клексан®	



Пример №3 (продолжение)



Result: OK

Correlation: 97.42 %
Threshold: 95.00 %

Рис.3 Сопоставление полос поглощения препарата «Эноксапарин натрия, раствор для инъекций» [redacted] и препарата «Клексан®, раствор для инъекций» Sanofi-Winthrop Industrie, Франция серии 4LL26.

Correlation: 97.42 %

Sample: Enoxaparin sodium [redacted]

Reference: Klexan® 4LL26

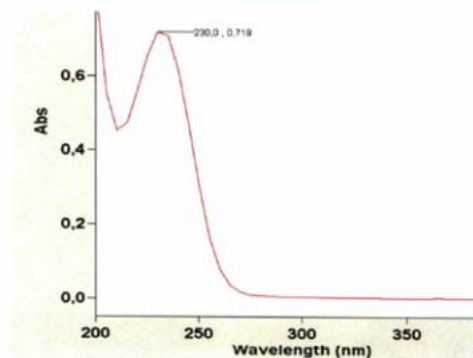


Рис.13 УФ - спектр поглощения образца «Клексан, раствор для инъекций, 10000 анти Ха МЕ/ 1,0 мл» серии 4LL26

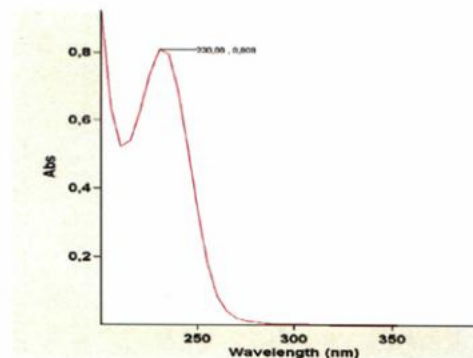


Рис.14 УФ - спектр поглощения образца «Эноксапарин натрия, раствор для инъекций, 10000 анти Ха МЕ/1,0 [redacted]



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Доклинические исследования *in vivo*



Пример №1

Изучение фармакологической активности (анти-Ха и анти-Па активности хромогенным методом)

1. Материалы и методы

Животные (тест-система)

Эксперименты выполнялись на белых крысах линии Wistar массой 220-280 г. Крысы поступили из питомника лабораторных животных [REDACTED] область.

Метод определения анти-Ха активности и анти-Па активности хромогенным методом в условиях in vivo.

Забор крови у крыс для определения анти-Ха и анти-Па активности проводился через 1 час (приблизительное T_{max} для крыс) после подкожного введения сравнимых препаратов в дозе 15 мг/кг.

Контролем служили интактные животные.

Венозную кровь брали в стеклянную силиконированную пробирку на 3.8 % (0.11 моль/л) цитрате натрия (9:1), центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин. плазму переносили в другую пробирку и повторно центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин. Сразу после центрифугирования плазму переносили в пробирку. Для анализов брали 0.2 мл плазмы.

Измеряли оптическую плотность образца против кюветы сравнения на спектрофотометре при длине волны 405 нм в соответствии с методическим руководством «Методы определения активности гепарина». Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Козлов А.А. Гематологический научный центр, Москва. 2011, 55 с.

2. Результаты исследования

Результаты измерения анти-Ха активности представлены в таблице 1, а результаты измерения анти-Па активности — в таблице 2. Соотношения величин анти-Ха активности и анти-Па активности представлены в таблице 3.

Таблица 1

Результаты измерения анти-Ха активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Надропарин»		«Фраксипарин®»	
	М	F	М	F	М	F
Анти-Ха активность (МЕ/мл)	0.17±0.02	0.17±0.02	0.86±0.08*	0.85±0.07*	0.85±0.09*	0.84±0.08*

*) — достоверные отличия от контроля (P<0.05)

Таблица 2

Результаты измерения анти-Па активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Надропарин»		«Фраксипарин®»	
	М	F	М	F	М	F
Анти Па-активность (МЕ/мл)	0.07±0.02	0.08±0.01	0.24±0.03*	0.26±0.04*	0.23±0.04*	0.24±0.05*

*) — достоверные отличия от контроля (P<0.05)

Таблица 3

Соотношение анти-Ха активности к анти-Па активности

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Надропарин»		«Фраксипарин®»	
	М	F	М	F	М	F
Соотношение	2.26	2.01	3.68	3.38	3.61	3.33

Как видно из представленных данных, оба сравниваемых препарата достоверно увеличивают анти-Ха активность и анти-Па активность по отношению к контролю (интактным животным) при подкожном введении. При этом уровень увеличения соответствует стандартным величинам. Достоверных различий между сравниваемыми препаратами не наблюдается.



Пример №2

4.2 Результаты изучения анти-Па и анти-Ха активности плазмы крови животных получавших изучаемые препараты

В эксперименте были использованы кролики самцы, все животные были разделены на 3 группы по 5 особей в каждой. Препараты вводили однократно, подкожно в дозе 0,15 мл/кг, животным контрольной группы вводили воду для инъекций. Результаты определения анти-Па и анти-Ха активности плазмы полученной из образцов приведены в таблицах 9 и 10. Анализ данных показал, что введение изучаемого препарата «Эноксапарин» и референтного препарата «Клексан» вызывает выраженное увеличение анти-Ха активности плазмы относительно значений в контрольной группе, при этом между группами получавшими эквивалентные дозы изучаемого и референтного препарата значимые различия отсутствовали. Анти-Па активности сыворотки крови животных всех групп на протяжении всего эксперимента была практически одинаковой, статистически значимые различия между группами отсутствовали.



Таблица 9. Результаты оценки анти-Ха активности (ед/мл) плазмы крови кроликов (M±Sd).

Время	Группы		
	Контроль	«Эноксапарин»	«Клексан»
1 час	0,60±0,13	0,85±0,33	1,11±0,01*
2 часа	0,61±0,12	0,95±0,24	1,14±0,04*
4 часа	0,57±0,07	0,89±0,13	1,03±0,05*
6 часов	0,69±0,16	0,80±0,27	0,87±0,05
24 часа	0,56±0,12	0,45±0,01	0,51±0,13

Примечание: * - различия с контрольной группой статистически значимы при P<0,05. Метод статистической оценки значимости различий: критерий Краскела-Уоллиса для независимых выборок.

Таблица 10. Результаты оценки анти-Па активности (ед/мл) плазмы крови кроликов (M±Sd).

Время	Группы		
	Контроль	«Эноксапарин»	«Клексан»
1 час	1,04±0,04	1,00±0,13	1,13±0,08
2 часа	1,08±0,17	1,16±0,09	1,15±0,09
4 часа	1,16±0,07	1,12±0,13	1,18±0,04
6 часов	1,16±0,07	1,12±0,13	1,03±0,15
24 часа	1,14±0,05	1,13±0,16	1,13±0,07



Пример №3

Таблица 14. Индивидуальные значения активностей (анти-Ха) эпоксапарина натрия после введения лекарственного средства

№ кролика	Время, ч									
	0	0,5	1	2	3	4	6	8	10	24
1	0,00	0,65	0,81	0,65	0,59	0,47	0,35	0,21	0,14	0,00
2	0,00	0,73	0,87	0,77	0,64	0,42	0,25	0,13	0,12	0,00
3	0,00	0,95	0,71	0,62	0,53	0,27	0,24	0,20	0,10	0,00
4	0,00	0,74	0,90	0,81	0,67	0,46	0,31	0,26	0,16	0,00
5	0,00	0,29	0,96	0,77	0,72	0,44	0,19	0,15	0,13	0,00
6	0,00	0,81	0,92	0,83	0,61	0,48	0,38	0,28	0,15	0,00
7	0,00	0,71	0,84	0,62	0,50	0,45	0,36	0,20	0,13	0,00
8	0,00	0,70	0,90	0,81	0,61	0,43	0,30	0,27	0,14	0,00
Mean	0,00	0,70	0,86	0,74	0,61	0,43	0,30	0,21	0,13	0,00
GMean	---	0,67	0,86	0,73	0,60	0,42	0,29	0,21	0,13	---
SD	---	0,19	0,08	0,09	0,07	0,07	0,07	0,05	0,02	---
CV	---	27,03	9,15	12,28	11,77	15,59	22,02	25,26	15,06	---
Median	---	0,72	0,89	0,77	0,61	0,45	0,30	0,21	0,14	---
Доверит	---	0,11	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,03	0,01	---
L-90%	---	0,59	0,82	0,68	0,57	0,39	0,26	0,18	0,12	---
U-90%	---	0,81	0,91	0,79	0,65	0,47	0,34	0,25	0,15	---

0,00-менее предела количественного определения

«---» - расчет величины не может быть произведен

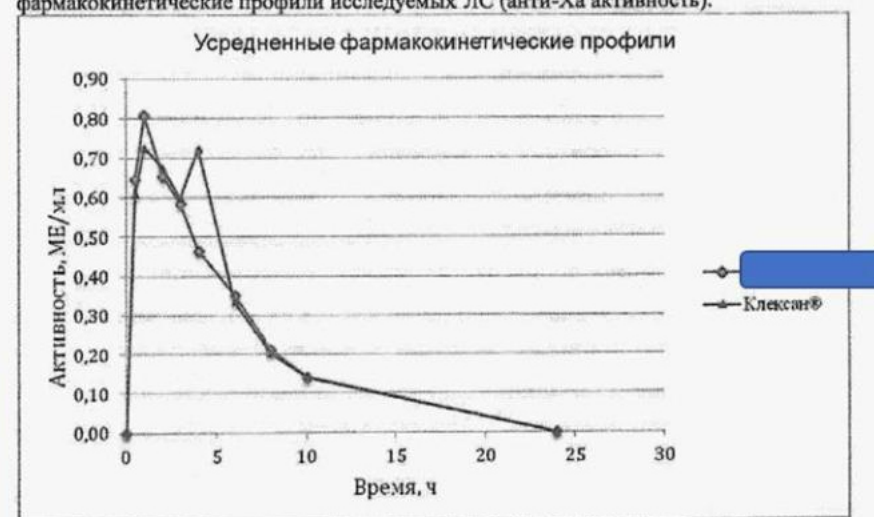
Таблица 15. Индивидуальные значения активностей (анти-Ха) эпоксапарина натрия после введения лекарственного средства Клексан®, МЕ/мл

№ кролика	Время, ч									
	0	0,5	1	2	3	4	6	8	10	24
1	0,00	0,36	0,77	0,84	0,66	0,76	0,42	0,26	0,11	0,00
2	0,00	0,82	0,73	0,83	0,69	0,91	0,38	0,22	0,16	0,00
3	0,00	0,48	0,61	0,49	0,64	1,02	0,34	0,18	0,15	0,00
4	0,00	0,71	0,74	0,66	0,45	0,56	0,28	0,25	0,15	0,00
5	0,00	0,54	0,67	0,67	0,62	0,59	0,19	0,15	0,14	0,00
6	0,00	0,63	0,98	0,61	0,53	0,61	0,36	0,20	0,13	0,00
7	0,00	0,82	0,68	0,85	0,51	0,41	0,29	0,17	0,10	0,00
8	0,00	0,51	0,64	0,45	0,68	0,92	0,41	0,20	0,18	0,00
Mean	0,00	0,61	0,73	0,68	0,60	0,72	0,33	0,20	0,14	---
GMean	---	0,59	0,72	0,66	0,59	0,69	0,33	0,20	0,14	---
SD	---	0,17	0,12	0,16	0,09	0,21	0,08	0,04	0,03	---
CV	---	27,47	15,99	22,98	14,71	29,39	22,90	18,71	18,92	---
Median	---	0,59	0,71	0,67	0,63	0,69	0,35	0,20	0,14	---
Доверит	---	0,10	0,07	0,09	0,05	0,12	0,04	0,02	0,02	---

Таблица 18. Параметры биоэквивалентности препаратов [redacted] и Клексан® (анти-Ха)

№ кролика	f'	f''	A _{max} /AUC
1	0,84	0,96	1,15
2	0,76	0,96	1,26
3	0,76	0,93	1,21
4	1,12	1,23	1,10
5	1,04	1,43	1,38
6	1,08	0,93	0,86
7	1,04	0,98	0,94
8	0,94	0,99	1,05
Mean	0,95	1,05	1,12
GMean	0,94	1,04	1,11
SD	0,14	0,18	0,17
CV, %	15,22	17,25	15,14
Median	0,99	0,97	1,12
Доверит	0,08	0,11	0,10
L-90	0,86	0,95	1,02
U-90	1,03	1,16	1,22

На рисунках с 5 по 24 представлены индивидуальные и усредненные фармакокинетические профили исследуемых ЛС (анти-Ха активность).





Пример №4

4.1 Результаты эксперимента по изучению антитромботической активности препаратов на модели венозного стаза у крыс

Исследование антитромботической активности на модели венозного стаза проводилось с использованием крыс-самцов, у которых тромбоз индуцировали внутривенным введением сыворотки крови человека с последующей перевязкой правой яремной вены. Результаты оценки интенсивности тромбоза, а также расчета процента предотвращения тромбоза, представлены в таблице 8. Изучаемый препарат «Эноксапарин» и референтный препарат «Клексан» продемонстрировали сходную и статистически значимую антитромботическую активность относительно контрольной группы. Процент предотвращения тромбоза в опытных группах, в 4 раза превосходил данный показатель рассчитанный для контрольной группы.

Таблица 8. Результаты оценки тромбоза (в баллах) и процент предотвращения тромбоза (%)

Экспериментальные группы	Интенсивность тромбоза	Предотвращение тромбоза
	Баллы	(%)
Контроль	3,2±0,8	20
«Эноксапарин» 0,1 мл/кг	0,7±0,5*	82,5
«Клексан» 0,1 мл/кг	0,9±0,3*	77,5

Примечание: * - различия с контрольной группой статистически значимы при $P < 0,05$. Метод статистической оценки значимости различий: критерий Краскела-Уоллиса для независимых выборок.



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – ЕАЭС

Доклинические наблюдения (случаи из практики)



Пример №1

Резюме

Проведено определение анти-Ха активности и анти-Па активности низкомолекулярного гепарина Эноксапарин натрия, раствор для инъекций 8000 анти-Ха МЕ/0,8 мл [REDACTED] серии: P10421, P20421, P30421) (далее - Эноксапарин) и Клексан®, раствор для инъекций 8000 анти-Ха МЕ/0,8 мл (Санофи-Авентис Франс, Франция, серии: 9L033С, 9L377А, 9L638С) (далее - Клексан®).

Определение активности гепарина проводили методом УФ-спектрофотометрии на планшетном спектрофотометре с использованием набора реагентов для определения активности низкомолекулярного гепарина.

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Эноксапарин составили:

- 9860 МЕ/мл, 2538 МЕ/мл, 3,9 (серия P10421);
- 9939 МЕ/мл, 2535 МЕ/мл, 3,9 (серия P20421);
- 9805 МЕ/мл, 2588 МЕ/мл, 3,8 (серия P30421);

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Клексан® составили:

- 9700 МЕ/мл, 2800 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L033С);
- 10228 МЕ/мл, 2914 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L377А);
- 10489 МЕ/мл, 3008 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L638С).

Указанные значения соотношений анти-Ха и анти-Па активностей соответствовали нормам (3,3-5,3).

[REDACTED]	Отчет о выполнении НИР
Сравнительное исследование специфической фармакологической активности <i>in vitro</i> (анти-Ха фактор, анти-Па фактор) препарата Эноксапарин натрия, раствор для инъекций 10000 анти-Ха МЕ/мл [REDACTED]	
Р [REDACTED]	Стр. 5 из 33

РЕЗЮМЕ

Проведено определение анти-Ха активности и анти-Па активности низкомолекулярного гепарина Эноксапарин натрия, раствор для инъекций 10000 анти-Ха МЕ/мл [REDACTED] серии: 10619, 20619, 30619) (далее - Эноксапарин-Т) и Клексан®, раствор для инъекций 8000 анти-Ха МЕ/0,8 мл (Санофи-Авентис Франс, Франция, серии: 9L033С, 9L377А, 9L638С) (далее - Клексан®-R).

Определение активности гепарина проводили методом УФ-спектрофотометрии на планшетном спектрофотометре с использованием набора реагентов для определения активности низкомолекулярного гепарина.

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Эноксапарин-Т составили:

- 9860 МЕ/мл, 2538 МЕ/мл, 3,9 (серия 10619);
- 9939 МЕ/мл, 2535 МЕ/мл, 3,9 (серия 20619);
- 9805 МЕ/мл, 2588 МЕ/мл, 3,8 (серия 30619);

Величины анти-Ха, анти-Па активности, а также их соотношения для препарата Клексан®-R составили:

- 9700 МЕ/мл, 2800 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L033С);
- 10228 МЕ/мл, 2914 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L377А);
- 10489 МЕ/мл, 3008 МЕ/мл, 3,5 (серия 9L638С).

Указанные значения соотношений анти-Ха и анти-Па активностей соответствовали нормам (3,3-5,3).

Отчет изложен на 33 страницах, содержит 23 таблицы, 4 рисунка и 2 приложения.



Пример №2

2. Результаты исследования

Результаты измерения анти-Ха активности представлены в таблице 1, а результаты измерения анти-Па активности — в таблице 2. Соотношения величин анти-Ха активности и анти-Па активности представлены в таблице 3.

Таблица 1

Результаты измерения анти-Ха активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин»		«Клексан®»	
	М	F	М	F	М	F
Анти-Ха активность (МЕ/мл)	0,16±0,03	0,16±0,03	0,85±0,09*	0,84±0,08*	0,86±0,09*	0,83±0,09*

*) — достоверные отличия от контроля (P < 0,05)

Таблица 2

Результаты измерения анти-Па активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин»		«Клексан®»	
	М	F	М	F	М	F
Анти Па-активность (МЕ/мл)	0,08±0,02	0,07±0,02	0,23±0,04*	0,25±0,04*	0,24±0,05*	0,25±0,04*

*) — достоверные отличия от контроля (P < 0,05)

Таблица 3

Соотношение анти-Ха активности к анти-Па активности

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин»		«Клексан®»	
	М	F	М	F	М	F
Соотношение	2,00	2,28	3,70	3,36	3,58	3,32

Как видно из представленных данных, оба сравниваемых препарата достоверно увеличивают анти-Ха активность и анти-Па активность по отношению к контролю (интактным животным) при подкожном введении. При этом уровень

Таблица 8 Результаты измерения анти-Ха активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин натрия»		Препарат-аналог	
	М	F	М	F	М	F
Анти-Ха активность (МЕ/мл)	0,16±0,03	0,16±0,03	0,85±0,09*	0,84±0,08*	0,86±0,09*	0,83±0,09*

* — достоверные отличия от контроля (P < 0,05)

Таблица 9 Результаты измерения анти-Па активности (M±m)

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин натрия»		Препарат-аналог	
	М	F	М	F	М	F
Анти Па-активность (МЕ/мл)	0,08±0,02	0,07±0,02	0,23±0,04*	0,25±0,04*	0,24±0,05*	0,25±0,04*

* — достоверные отличия от контроля (P < 0,05)

Таблица 10 Соотношение анти-Ха активности к анти-Па активности

Показатель	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Эноксапарин натрия»		Препарат-аналог	
	М	F	М	F	М	F
Соотношение	2,00	2,28	3,70	3,36	3,58	3,32

Как видно из представленных данных, оба сравниваемых препарата достоверно увеличивают анти-Ха активность и анти-Па активность по отношению к контролю (интактным животным) при подкожном введении. При этом уровень увеличения соответствует стандартным величинам. Достоверных различий между сравниваемыми препаратами не наблюдается.

Соотношение антитромботической и антикоагулирующей активности (соотношение активности антифакторов Ха и Па) составляет примерно 3,53:1 для препарата «Эноксапарин натрия» и 3,45:1 для препарата-аналога по сравнению с соотношением 1:1 для нефракционированного гепарина.

Это свидетельствует о том, что по фармакологической активности сравниваемые препараты являются эквивалентными.



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Клинические исследования I фазы

(у здоровых
добровольцев)



- Здоровые добровольцы – мужчины
- Простой перекрестный дизайн
- Подкожный (\pm внутривенный) путь введения
- Вводимая доза не должна превышать максимальную разовую дозу для пациентов
- Основные параметры оценки эквивалентности ФД
 - ✓ $AUEC_{0-t}$ и A_{max} анти-Ха активности
 - ✓ $AUEC_{0-t}$ и A_{max} анти-IIa активности
- Дополнительные параметры оценки эквивалентности ФД:
 - ✓ $AUEC_{0-\infty}$, TA_{max} , $T_{1/2}$ анти-Ха активности
 - ✓ $AUEC_{0-\infty}$, TA_{max} , $T_{1/2}$ анти-IIa активности
 - ✓ Отношения Анти-Ха/Анти-IIa активности
 - ✓ AUC_{0-t} , TC_{max} , $T_{1/2}$ концентрации ингибитора пути тканевого фактора (Tissue Factor Pathway Inhibitor)



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Клинические исследования III фазы



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

Клинические исследования препаратов НМГ в РФ



RegLec – EAES

Препарат	Статус КИ	Начало	Показание к применению	Путь введения	Дизайн	Количество пациентов (всего/ в группе биоаналога)
Эноксапарин натрия	<i>Завершено досрочно</i>	2017	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>Запланировано 116/58 Включено 13/7</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2017	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>174/87</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2016	Профилактика ВТЭ	п/к	ПС [†]	<i>290/145</i>
Далтепарин	Завершено	2016	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>189/95 (в РФ – 30 пациентов)</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2015	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>116/58</i>
Эноксапарин натрия	<i>Неизвестно</i>	2015	Лечение ТГВ	п/к	ДС [‡]	<i>440/220</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2015	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>116/58</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2014	Профилактика ВТЭ	п/к	ДС [‡]	<i>124/64</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2013	Острый коронарный синдром	п/к	Открытое	<i>60/30</i>
Эноксапарин натрия	Завершено	2013	Профилактика ВТЭ	п/к	Открытое	<i>56/28</i>

† - простое заслепленное исследование; ‡ - двойное заслепленное исследование



Обоснование границ не меньшей эффективности



Согласно официальным данным о применении оригинального препарата эноксапарина натрия (Lovenox® Full prescribing information) частота неудачи лечения (ТГВ) при применении препарата в дозе 30 мг каждые 12 ч в популяции пациентов, которым проводили эндопротезирование тазобедренного сустава, составляла 10%, по сравнению с 46% при использовании плацебо; в популяции пациентов, которым проводили эндопротезирование коленного сустава, при использовании той же дозы эносапарина натрия частота неудачи лечения составила 11%, по сравнению с 62% в группе плацебо (Lovenox® Full prescribing information).

На основании этих данных были рассчитаны 95% доверительные интервалы для разницы показателей эффективности применения оригинального препарата эноксапарина натрия и плацебо. Для популяции, в которой проводилось эндопротезирование тазобедренного сустава, интервал составил 17,22%-51,84%, для популяции, в которой проводилось эндопротезирование коленного сустава, – 31,23%-63,35%.

Таким образом, нижняя граница 95% ДИ для разницы частот была наименьшей для популяции пациентов, которым проводилась операция на тазобедренном суставе, по сравнению с коленным, составив 17,22%. На основании этих расчетов в качестве границы эквивалентности (клинически незначимой разницы в достижении ответа – б) между оригинальным препаратом эноксапарина и его биоаналогом был взят показатель 17,22% (нижняя граница 95% ДИ для разницы применения препарата с плацебо). Соответственно, в качестве ожидаемой частоты достижения терапевтической неудачи в группах исследуемого препарата и препарата сравнения была взята частота ТГВ в данной популяции – 10%.



Клинические исследования III фазы

МНН	Эффективность биоаналогичного препарата НМГ	Эффективность референтного препарата НМГ	Показатели, представляющие особый интерес
Эноксапарин натрия	Частота ПКТ [†] : 3,45% (2/58)	Частота ПКТ [†] : 5,17% (3/58)	Случаев ТЭЛА [‡] и смерти в связи с ТЭЛА [‡] не было
Далтепарин натрия	Частота ПКТ [†] : 5,26% (5/95) [95% ДИ 1,73%-11,86%]	Частота ПКТ [†] : 2,12% (2/94) [95% ДИ 0,26%-7,48%]	Случаев ТЭЛА [‡] и смерти в связи с ТЭЛА [‡] не было
Эноксапарин натрия	Частота ПКТ [†] : 3,45% (2/58)	Частота ПКТ [†] : 3,45% (2/58)	Случаев ТЭЛА [‡] и смерти в связи с ТЭЛА [‡] не было
Эноксапарин натрия	Частота ПКТ [†] : 0,00% (0/64)	Частота ПКТ [†] : 3,45% (2/60)	Случаев ТЭЛА [‡] и смерти в связи с ТЭЛА [‡] не было

† - Первичная комбинированная конечная точка, определяемая как «тромбоз глубоких вен голени + тромбоэмболия легочной артерии + смерть в связи с тромбоэмболией легочной артерии»

‡ - тромбоэмболия легочной артерии



Клинические исследования III фазы

- В настоящее время реальная частота венозных тромбоэмболических осложнений при применении референтных препаратов НМГ существенно ниже (в среднем – не более 4–5%)
- «Традиционно» применяемые границы не меньшей эффективности избыточно широки
- **Проведение РКИ с адекватными границами не меньшей эффективности потребует значительного увеличения объема выборки исследования (т.е. увеличит время проведения КИ и затраты на его проведение)**
- **Низкая частота учитываемых событий эффективности, полученная в результате РКИ, приведет к непризнанию результатов исследования**



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения



RegLec – EAES

Заключение



Достаточная программа предрегистрационных исследований препарата НМГ:

- Серия ДКИ *in vitro* + КИ I фазы у здоровых добровольцев
- Серия ДКИ *in vitro* + ДКИ *in vivo* + КИ I фазы у здоровых добровольцев
- Серия ДКИ *in vitro* + ДКИ *in vivo* + КИ I фазы у здоровых добровольцев + КИ III фазы в целевой популяции пациентов

Недостаточная программа предрегистрационных исследований препарата НМГ

- Одно ДКИ *in vitro* + КИ I фазы у здоровых добровольцев
- Одно ДКИ *in vivo* + КИ I фазы у здоровых добровольцев
- ДКИ *in vitro* (*in vivo*) + КИ III фазы



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

Предрегистрационное изучение биоаналогов



RegLec – ЕАЭС

Доклинические и клинические исследования биоаналогов





PerLek – EAES

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения