АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО БЕЗОПАСНОСТИ

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

(АО «ВНЦ БАВ»)

|  |  |
| --- | --- |
| УДК 615.017  Инв. № ВНЦ-ОТ/TL-KVT-pk-DI-01/13022020-1.3 |  |
|  | УТВЕРЖДАЮ  Генеральный директор  АО «ВНЦ БАВ», к.м.н.  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_О.В Проскурина  «\_\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2022 г. |

ОТЧЕТ

О ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

по теме:

Исследование фармакокинетики

препарата АЛАРИО (ООО «Технология лекарств» Россия), капсулы 200 мг

в сравнении с препаратом ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг

при пероральном введении собакам

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Руководитель исследования,  заведующий лабораторией фармакологии и токсикологии, кандидат биологических наук | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись, дата) | С.А. Суханова |

Старая Купавна, 2022**СПИСОК ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ**

Я, нижеподписавшийся, настоящим заявляю, что полученные данные представлены достоверно и соблюдена конфиденциальность при проведении данного исследования:

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Руководитель исследования, заведующий лабораторией фармакологии и токсикологии, к.б.н. | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | С.А. Суханова | |
|  | | | (подпись, дата) | |  | |
| Ответственный исследователь, старший научный сотрудник | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | Н.В. Фисханова  (Реферат, введение, разделы 1, 2, заключение) | |
|  | | | (подпись, дата) | |  | |
| Инженер | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | В.А. Аленичева (раздел 2) | |
|  | | | (подпись, дата) | |  | |
| Инженер | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | В.В. Аленичева (раздел 2) | |
|  | | | (подпись, дата) | |  | |
| Инженер | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | А.А. Филякина (раздел 2) | |
|  | | | (подпись, дата) | |  | |
| Ветеринарный врач | | | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | | С.В. Хаустова (раздел 1.3) | |
|  | (подпись, дата) | |  | |

# ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТ

Название исследования: «Исследование фармакокинетики препарата АЛАРИО (ООО «Технология лекарств» Россия), капсулы 200 мг в сравнении с препаратом ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг при пероральном введении собакам».

**Заказчик Исследования:**

Общество с ограниченной ответственностью Технология лекарств (ООО «Технология лекарств»). Заместитель Генерального директора – Булгакова Марина Николаевна.

***Юридический адрес/фактический адрес:*** 141400, Московская обл., г. Химки, ул. Рабочая, д. 2a, стр.31, пом. 21.

**Место проведения биологической части исследования** (взятие биологических образцов): Акционерное общество Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ (АО «ВНЦ БАВ»). Генеральный директор: Проскурина Оксана Владимировна.

***Юридический адрес/фактический адрес:*** 142450, Московская обл., Ногинский район, г. Старая Купавна, ул. Кирова 23.

**Фармакокинетическая лаборатория:**

ООО «Экзактэ Лабс», Генеральный директор – Казей Василий Игоревич.

***Адрес юридический/фактический:*** 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д.20, стр.2.

# РЕФЕРАТ

Отчет 27 с., 7 табл., 2 рисунка, 10 источников, 1 приложение.

Объектом исследования служил лекарственный препарат АЛАРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг, код препарата TL-MNR-c, предоставленный Спонсором и разработчиком - ООО «Технология лекарств» Россия).

Целью исследования являлось на определение и сравнение фармакокинетических параметров препарата АЛАРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг, и лекарственного препарата ЛАГЕВРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг (Мерк Шарп и Доум Б.В., Нидерланды) при пероральном введении лекарственного самцам собак породы «Бигль».

В исследовании участвовала две экспериментальных группы самцов собак, породы «Бигль», в количестве 6 самцов в группе. Каждому самцу в первой группе была введена перорально одна капсула препарата АЛАРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг. Каждому самцу в первой группе была введена перорально одна капсула препарата лекарственного препарата ЛАГЕВРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг. По окончании периода отмывки (5 дней). Самцам первой группы была введена перорально одна капсула препарата лекарственного препарата ЛАГЕВРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг, самцам второй группы была введена перорально одна капсула препарата АЛАРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг. Схема дозирования препарата приведена в таблице 2. Перед введением препарата животных взвешивали.

У всех животных собирали плазму крови (натощак) в 11 временных точках: до введения, и через 0,25 ч; 0,5 ч; 0,75 ч; 1 ч; 2 ч; 3 ч; 4 ч; 6 ч; 8 ч; 12 ч; и 24 часов после введения препарата. После забора крови была проведена пробоподготовка – центрифугирование, отделение плазмы и заморозка биообразцов на -70°C. Далее биообразцы были переданы в фармакокинетическую лабораторию для проведения анализа. В биообразцах определена концентрация активного метаболита N-гидроксицитидина, рассчитаны основные фармакокинетические параметры.

После статистической обработки данных рассчитаны основные фармакокинетические параметры активного метаболита N-гидроксицитидина у препаратов АЛАРИО (TL-MNR-c) и ЛАГЕВРИО:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Параметр** | **АЛАРИО** | **ЛАГЕВРИО** |
| **Тmax, ч** | 0,8 | 1,1 |
| **Cmax, нг/мл** | 7108 | 6352 |
| **AUC0-t, ч\*нг/мл** | 14856 | 14570 |
| **AUC0-∞, ч\*нг/мл** | 15263 | 14967 |
| **CL, мл/ч/кг** | 0,01 | 0,01 |
| **MRT, ч** | 2,51 | 2,57 |
| **Vd, мл** | 0,03 | 0,04 |
| **kel, 1/ч** | 0,4 | 0,39 |
| **Т1/2, ч** | 1,74 | 1,78 |

Установлена биоэквивалентность препаратов АЛАРИО и ЛАГЕВРИО при пероральном введении собакам.

Значения рассчитанных 90% доверительных интервалов (ДИ) для отношений фармакокинетических показателей N-гидроксицитидина после приема препаратов АЛАРИО и ЛАГКВРИО.

| **Показатель** | **90% ДИ** | **Допустимые значения для 90% ДИ** | **T / R** | **CV** |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| AUC(0-72) | 96.27% - 107.86% | 80% - 125% | 1.019 | 7.69% |
| Cmax | 101.30% - 123.63% | 80% - 125% | 1.119 | 13.52% |

# СОДЕРЖАНИЕ

[ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТ 3](#_Toc52222617)

[РЕФЕРАТ 4](#_Toc52222618)

[СОДЕРЖАНИЕ 5](#_Toc52222619)

[ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ 6](#_Toc52222620)

[ЗАЯВЛЕНИЕ ОБ ОБЕСПЕЧЕНИИ СООТВЕТСТВИЯ 7](#_Toc52222621)

[ЗАЯВЛЕНИЕ ОБ ОБЕСПЕЧЕНИИ КАЧЕСТВА 8](#_Toc52222622)

[1. ВВЕДЕНИЕ 9](#_Toc52222623)

[2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ 9](#_Toc52222624)

[3. РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ 9](#_Toc52222625)

[4. КОМИССИЯ ПО БИОЭТИКЕ 10](#_Toc52222626)

[5. ОСНОВНЫЕ ДАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 10](#_Toc52222627)

[6. АРХИВИРОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 10](#_Toc52222628)

[7. ДАННЫЕ ОБ ИССЛЕДУЕМОМ ВЕЩЕСТВЕ 10](#_Toc52222629)

[8. ТЕСТ-СИСТЕМА 11](#_Toc52222630)

[8.1. Вид, количество, пол, возраст животных 11](#_Toc52222633)

[8.2. Содержание животных. Вольеры. Корм. Вода 11](#_Toc52222634)

[8.3. Акклиматизация 12](#_Toc52222635)

[8.4. Обоснование выбора вида животных 12](#_Toc52222636)

[8.5. Выбор и расчет доз 12](#_Toc52222637)

[8.6. Оборудование 12](#_Toc52222638)

[9. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ 13](#_Toc52222639)

[9.1. Распределение по группам. Идентификация животных 13](#_Toc52222640)

[9.2. Введение препарата 13](#_Toc52222641)

[9.3. Растворитель 13](#_Toc52222642)

[9.4. Подготовка препарата для введения. Дозы. Процедура введения 14](#_Toc52222643)

[9.5. Масса тела 14](#_Toc52222644)

[9.6. Фармакокинетика 14](#_Toc52222645)

[9.6.1. Пробоподготовка биообразцов 14](#_Toc52222646)

[9.6.2. Методика определения концентрации ремдесивира в плазме крови собак 14](#_Toc52222647)

[9.6.3. Анализ данных 17](#_Toc52222648)

[9.6.4. Архив 17](#_Toc52222649)

[10. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 17](#_Toc52222650)

[ЗАКЛЮЧЕНИЕ 21](#_Toc52222651)

[СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 22](#_Toc52222652)

# ЗАЯВЛЕНИЕ ОБ ОБЕСПЕЧЕНИИ СООТВЕТСТВИЯ

Наименование исследования: **«**Исследование фармакокинетики препарата АЛАРИО (ООО «Технология лекарств» Россия), капсулы 200 мг в сравнении с препаратом ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг при пероральном введении собакам»

Я, нижеподписавшийся, настоящим заявляю, что настоящий отчет представляет собой верное и точное описание используемых процедур и результатов, полученных в ходе проведения исследования, полученные данные отражены достоверно, отчет соответствует правилам надлежащей лабораторной практики. Конфиденциальность в отношении данных исследования соблюдена.

Исследование проводили в соответствии с СОП АО «ВНЦ БАВ» и следующими документами:

1. ФЗ No. 61-ФЗ “Об обращении лекарственных средств” 12.04.2010;
2. Решение № 81 комиссии Евразийского экономического союза от 03.11.2016. о Правилах надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств;
3. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 01 августа 2015 (идентичен OECD Guide 1:1998 OECD).

Руководитель исследования \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_С.А. Суханова

«\_\_\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2022 г.

# ЗАЯВЛЕНИЕ ОБ ОБЕСПЕЧЕНИИ КАЧЕСТВА

Наименование исследования: **«**Исследование фармакокинетики препарата АЛАРИО (ООО «Технология лекарств» Россия), капсулы 200 мг в сравнении с препаратом ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг при пероральном введении собакам»

Для обеспечения качества исследований, согласно стандартной операционной процедуре СОП-ООК-003 «Инспекция. Организация и порядок проведения» отдел обеспечения качества АО «ВНЦ БАВ» проводит регулярные инспекции испытательного центра по утвержденным планам- графикам:

- инспекции исследований;

- инспекции лабораторий;

- инспекции отдельных процессов (процедур).

Согласно Программе обеспечения качества, в АО «ВНЦ БАВ» на 2021-2022 г были составлены графики проведения инспекции виварного комплекса и помещений лабораторий ИЦ на предмет***.*** выполнения правил Надлежащей лабораторной практики (GLP), Стандартных операционных процедур (СОП), а также других нормативных требований, регламентирующих доклинические исследования.

В августе 2021 года был проведен этап проверки питомника собак. Виды, процессы и даты инспекций представлены в таблице ниже:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вид проверяемых работ, процессов | Дата Акта проведения проверки | Дата предоставления актов администрации ИЦ и руководителю исследования | Результат проверки  Несоответствия выявлены/  не выявлены |
| СОП- ЛРЖ -004 Доступ в питомник | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| Идентификация комнат  Санитарное состояние комнат | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| СОП-ООК-004 Принципы следования стандартным операционным процедурам | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| СОП-ЛРЖ-003 Работа персонала в барьерной зоне | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| Оборудование (перечень СОП эксплуатация оборудования) | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| СОП-ЛРЖ-002 Порядок мониторинга параметров окружающей среды в помещениях содержания животных | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |
| СОП-ЛРЖ-038 Поступление, хранение и использование корма | 09.08.2021 | 09.08.2021 | не выявлены |

1. **Контроль за состоянием помещений, где проводятся исследования, и условий содержания и обращения с животными, с испытываемыми веществами**

Состояние помещений соответствует принятым нормам.

Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствует нормативным документам.

Содержание исследуемых препаратов соответствует условиям хранения.

1. **Контроль качества оборудования, используемого для получения данных и измерения показателей исследования**

Состояние оборудования соответствует нормам поверки/калибровки, принятым в лабораторной практике, все работы на оборудовании регистрируются в лабораторных журналах, что является обеспечением гарантий того, что результаты доклинического исследования достоверны.

1. **Заключение**

Результаты инспекционных проверок подтверждают, что содержание животных, хранение кормов для животных, состояние рабочих площадей, оборудования, материалов, используемых в ходе исследований, соответствовало норме. Нарушений, способных повлиять на целостность и достоверность результатов исследований, не обнаружено. Деятельность лаборатории фармакологии соответствует требованиям надлежащей лабораторной практики (GLP).

Начальник отдела обеспечения качества

АО «ВНЦ БАВ»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Салихова Н.Г.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2022 г

# ВВЕДЕНИЕ

Объектом исследования является Молнупиравир – новый противовирусный препарат в классе нуклеозидных аналогов. Молнупиравир относится к классу противовирусных препаратов – индукторов летального мутагенеза РНК-вирусов. После всасывания молнупиравир быстро метаболизируется в плазме до активного метаболита N-гидроксицитидина, который, встраиваясь в вирусную РНК при репликации, вызывает мутации в вирусном геноме и приводит к образованию нежизнеспособных вирусных частиц.

# ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Цель исследования:**

Определение и сравнение фармакокинетических параметров препарата АЛАРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг, и лекарственного препарата ЛАГЕВРИО (МНН: молнупиравир), капсулы, 200 мг при пероральном введении лекарственного самцам собак породы «Бигль».

**Задачи исследования:**

1) Провести пероральное дозирование исследуемых препаратов в одной дозе, отобрать образцы плазмы крови в определенных точках. Отобрать интактную плазму крови не менее, чем от 12 собак, суммарно в объеме не менее 20 мл.

2) Обеспечить хранение образцов плазмы крови при температуре не выше – 60 0С до отправки в фармакокинетическую лабораторию.

# РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ

Основными документами, регламентирующими объем, схему и процедуру проведения экспериментов являются:

1. Совета Евразийской экономической комиссии, Решение от 3 ноября 2016 года N 85 об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза;
2. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»;
3. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» введен в действие 01.08.2015 (идентичен OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice);
4. ФЗ №. 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» 12.04.2010;
5. ГОСТ 33217-2014 «Правила содержания и ухода за лабораторными хищными млекопитающими»;
6. Директиве Совета ЕС от 24 ноября 1986 г. о сближении Законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86 / 609 / ЕЕС).
7. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. –Washington, D.C. 2011.

# КОМИССИЯ ПО БИОЭТИКЕ

Комиссия по биоэтике, состоявшаяся БЭК № 01/2022 от 01.02.2022 подтвердила необходимость проведения исследования фармакокинетики препарата АЛАРИО (ООО «Технология лекарств» Россия), капсулы 200 мг в сравнении с препаратом ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг при пероральном введении собакам. Общее количество животных – 12 голов (самцов). Комиссия по биоэтике гарантирует использование животных в научных целях в соответствии с общепризнанными научными, этическими и юридическими нормами и подтверждает ответственность исследователей, деятельность которых подлежит контролю со стороны комиссии по биоэтике.

# ОСНОВНЫЕ ДАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

24.01.2022 - дата инициации исследования

03.02.2022 - дата начала эксперимента

11.02.2022 - дата окончания эксперимента

11.04.202- дата окончания исследования

# АРХИВИРОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перечень документов и материалов, которые переданы в архив по окончании исследования:

• Данные клинического наблюдения за животными во время исследования;

• Данные массы тела;

• Первичные аналитические данные;

• Копия протокола заседания по биоэтической экспертизе

• Заметки и другая письменная информация, касающаяся исследования;

• Протокол и поправки, отклонения от Протокола исследования.

Продолжительность хранения материалов **5 лет**, по истечении которых Исполнитель обязуется проинформировать Заказчика о завершении периода хранения документов в архиве и передать по запросу Заказчику.

Адрес архива: ООО «Экзактэ Лабс», 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д.20, стр.2.

# ДАННЫЕ ОБ ИССЛЕДУЕМЫХ ПРЕПАРАТАХ

|  |  |
| --- | --- |
| **Торговое название:** | АЛАРИО (код - TL-MNR-c) |
| **МНН:** | молнупиравир |
| **Лекарственная форма:** | Капсулы |
| **Дозировка** | 200 мг |
| **Состав:** | Состав на 1 капсулу:  *Действующее вещество:*  Молнупиравир – 200,0 мг  *Вспомогательные вещества:*  Целлюлоза микрокристаллическая 101 – 129 мг  Кроскармеллоза натрия – 17,50 мг  Магния стеарат – 3,50 мг  **Масса содержимого капсулы 350 мг**  Капсула гипромеллозная №0 – 96 мг  *Крышка:* гипромеллоза – до 100 %, титана диоксид – 2,00 %.  *Корпус:* гипромеллоза – до 100 %, титана диоксид – 2,00 %.  **Масса капсулы 445 мг** |
| **Форма выпуска:** | Капсулы, 200 мг |
| **Описание:** | Капсулы белого цвета |
| **Серия:** | 061221 |
| **Срок годности:** | 12.2021 (дата производства – 12.2022 г) |
| **Производитель:** | АО «Р-Фарм», Российская Федерация, 150061, Ярославская область, г.о. г. Ярославль, г.Ярославль, ул. Громова, д.15.  Лабораторная серия произведена ООО «Технология лекарств», Россия |
| **Условия хранения:** | Хранить при температуре не выше 25 °C. |

# 

|  |  |
| --- | --- |
| **Торговое название:** | ЛАГЕВРИО |
| **МНН:** | молнупиравир |
| **Лекарственная форма:** | Капсулы |
| **Дозировка** | 200 мг |
| **Состав:** | Состав на 1 капсулу:  *Действующее вещество:*  Молнупиравир – 200,0 мг  *Вспомогательные вещества:*  Гидроксипропил целлюлоза  Целлюлоза микрокристаллическая  Кроскармеллоза натрия  Магния стеарат  **Капсула**  Гипромеллоза  Титана диоксид  Краситель оксид железа красный  Чернила (шеллак, калия гидроксид, титана диоксид). |
| **Форма выпуска:** | Капсулы, 200 мг |
| **Описание:** | Капсулы оранжево-красного цвета цвета |
| **Серия:** | U037023 |
| **Срок годности:** | 03.2023 |
| **Производитель:** | Мерк Шарп и Доум Б.В., Нидерланды |
| **Условия хранения:** | Хранить при температуре не выше 25 °C. |

# ТЕСТ-СИСТЕМА

1. 1. Вид, количество, пол, возраст животных

Исследование проведено на 12 половозрелых собаках самцах породы Бигль, весом 10-11 кг, полученных из питомника АО «ВНЦ БАВ».

* 1. Содержание животных. Вольеры. Корм. Вода

Животные содержатся в виварии АО «ВНЦ БАВ» в вольерах по 6 особей. Каждый вольер состоит из 2 частей: теплое помещение (в здании) и огороженный вольер на улице. Все собаки имеют свободный выход на улицу. Температура помещения – 15-21 ºС.

Уход за животными осуществляли в соответствии со стандартными операционными процедурами.

Условия содержания животных соответствовали стандартам, указанным в:

* Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. Washington, D.C. 2011;
* ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» введен в действие 01.08.2015 (идентичен OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice);
* ГОСТ 33217-2014 «Правила содержания и ухода за лабораторными хищными млекопитающими».

Собаки получали сухой гранулированный корм для собак ProBalance корм сухой д/взр.соб. Gourmet diet Adult с говядиной и кроликом, (ООО "Аллер Петфуд", Тверская обл., г. Тверь, Базовый проезд д 2А).

Водопроводная вода подавалась *ad libitum*.

* 1. Акклиматизация

Акклиматизация не требовалась, так как собаки до начала эксперимента выращивались в виварии АО «ВНЦ БАВ».

* 1. Обоснование выбора вида животных

Собаки породы «Бигль» являются релевантным видом для исследования фармакокинетики Молнупиравира. Исследование фармакокинетики данного препарата не целесообразно проводить на грызунах, поскольку у них, в отличие от крупных живорных, наблюдается одинаковая абсолютная биодоступность молнупиравира и его активного метаболита N-гидроксицитидина. Это может привести к неадекватной оценке фармакокинетических параметров при частичном гидролизе молнупиравира в ЖКТ. У собак и человека абсолютная биодоступность молнупиравира значительно выше, чем у N-гидроксицитидина, что позволяет адекватно оценить фармакокинетический профиль молнупиравира.

* 1. Выбор и расчет доз

Доза исследования составляет 200 мг, что эквивалентно одной капсуле препарата. В отчете оригинатора при однократной дозе у собак препарат хорошо переносился вплоть до дозы 300 мг/кг и выше, при которой наблюдались эффекты на ЖКТ, то есть доза 200 мг (около 20 мг/кг) - как минимум в 10 раз меньше однократной дозе при которой в исследованиях наблюдались признаки токсичности.

* 1. Оборудование

Таблица 1. Использованное в исследовании оборудование.

| **Оборудование** | **Модель** | **Производитель** |
| --- | --- | --- |
| Весы | Модель ЕВ-60 | UNIGRAM |
| Дозатор мех.однокан. | 2-20 мкл | BIOHIT |
| Дозатор мех.однокан. | 100-1000 мкл | BIOHIT |
| Дозатор мех.однокан. | 20-200 мкл | BIOHIT |
| Центрифуга настольная с охлаждением | 320R | HETTICH UNIVERSAL |
| Центрифуга | CM-50 | ELMI |
| Жидкостной хроматограф | Agilent 1290 Infinity II | Agilent |
| Гибридный масс-спектрометр с тройным квадруполем и ионизацией электроспреем | AB Sciex TripleQuad 5500 Plus QTrap | AB Sciex |
| Весы лабораторные электронные. | OHAUS Explorer EX324 | OHAUS |
| Весы лабораторные электронные | Shimadzu Uni Bloc AUW220D | Shimadzu |
| Автоматические дозаторы переменного объема | Eppendorf | Eppendorf |
| Вортекс лабораторный | Vortex V-3 | Vortex |
| Центрифуга | Eppendorf 5415D | Eppendorf |
| Центрифуга лабораторная охлаждающая | Scientific Limited Pro Research K2015R | Centurion |
| Установка для получения воды деионизированной | MilliQ Integral | MilliQ Integral |
| Низкотемпературный морозильник (до -92°С) | Thermo Scientific Forma 900 SERIES | Thermo Fisher Scientific |
| Морозильник (до -40°C) | Panasonic MDF-U443PE | Panasonic Healthcare Co., Ltd |
| Холодильник (от +2°C до +8°C) | Haier bio medical HXC-608 | Haier Medical and Laboratory Products Co., Ltd |

# ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

* 1. Распределение по группам. Идентификация животных

В экспериментальные группы отобраны животные без признаков отклонений внешнего вида. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер и зафиксирован в протоколе. На вольере закреплены этикетки со следующей информацией: № протокола-заявки, пол, количество животных, их индивидуальный номер, начало и окончание эксперимента, ответственный сотрудник, название, способ введения и доза вещества.

* 1. Введение препарата

Животные были лишены корма за 8 часов до введения препаратов и воды за 1 час. Через 2 часа после введения препарата разрешался свободный питьевой режим, кормление - осуществлялось по прошествии 4 часов после приема препарата, в дальнейшем прием пищи был согласно внутреннему графику. Препарат вводили перорально.

* 1. Подготовка препарата для введения. Дозы. Процедура введения

Препарат был предоставлен Заказчиком в виде капсул. Препарат хранился в соответствии с условиями хранения, указанными Заказчиком.

В качестве носителя была использована водопроводная вода (после введения капсулы каждому животному).

Животным (натощак) вводили исследуемый препарат 1 раз и препарат сравнения 1 раз перорально в исследуемых дозах.

В исследовании использовались две экспериментальные группы самцов собак, породы «Бигль», по шесть самцов в каждой группе. Каждая группа получала перорально однократно один из двух исследуемых препаратов в дозировке 200 мг (одна капсула). На первом этапе:

группа 1 - получит препарат АЛАРИО, капсулы 200 мг серия 061221;

группа 2 – получит препарат ЛАГЕВРИО, капсулы 200 мг серия U037023.

Далее в течение 5 дней после введения препаратов, была проведена отмывка животных и повторное перекрестное дозирование, так чтобы каждая группа животных получила поочередно два исследуемых препарата.

Распределение животных по группам и схема дозирования препаратов приведены в таблице 2.

**Таблица 2**. Описание экспериментальных групп и схема приема препаратов

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа | Доза | Кол-во животных | Очередность принимаемых препаратов | Временные точки забора крови |
| 1 | 200 мг (1 капсула) на 1 собаку | 6 | 1. АЛАРИО, серия 061221  2. ЛАГЕВРИО, серия U037023 | До введения; 0,25 ч; 0,5 ч; 0,75 ч; 1 ч; 2 ч; 3 ч; 4 ч; 6 ч; 8 ч; 12 ч; и 24 часов |
| 2 | 6 | 1. ЛАГЕВРИО, серия U037023  2. АЛАРИО, серия 061221 |

* 1. Масса тела

Массу тела регистрировали один раз перед введением препарата.

* 1. Фармакокинетика
     1. **Пробоподготовка биообразцов**

У всех животных собирали плазму крови (натощак) до введения, и через ,25 ч; 0,5 ч; 0,75 ч; 1 ч; 2 ч; 3 ч; 4 ч; 6 ч; 8 ч; 12 ч; и 24 часов после введения препарата.

Цельную кровь для получения плазмы крови собирали в пробирки, содержащие К2ЭДТА объемом 1 мл. Суммарно отобрали 12 мл у каждой собаки (по 1 мл в каждую временную точку), что не превышает рекомендуемых 7,5% (64 мл) от общего объёма крови у собак Бигль. Все образцы собирали на натощак. Образец крови (примерно 1 мл) получали из латеральной вены голени.

Сразу после отбора 1 мл крови в вакутейнер с К2ЭДТА, его содержимое перемешивали путем 8-10 кратного переворота пробирки на 180 градусов (вверх-вниз). Не позже, чем через 30 минут после отбора пробы крови вакутейнер с кровью процентрифугировали в предварительно охлажденной центрифуге при температурном режиме +4 0С в течение 15 минут при 1500 G.

После центрифугирования аликвоту плазмы крови объемом 0,4-0,5 мл аккуратно перенесли в криопробирку при помощи автоматической пипетки. Пробирки с плазмой крови поместили вертикально в штатив (контейнер) и немедленно заморозили на -70°С.

Образцы плазмы крови до передачи в фармакокинетическую лабораторию находились на хранении в морозильной камере, установленной на поддержание температуры от -60°C до -70°C.

* + 1. **Методика определения концентрации N-гидроксицитидина в плазме крови собак**

**Принцип метода**

Извлечение исследуемого соединения из плазмы крови осуществляли путём осаждения белков плазмы метанолом с добавкой муравьиной кислоты (0,1%). В качестве внутреннего стандарта (ВС) использовался толбутамид, обладающий схожими с аналитом хроматографическими и экстракционными показателями.

Детектирование исследуемого вещества проводили при ионизации в электроспрее в режиме регистрации отрицательных ионов. MRM переходы для N-гидроксицитидина m/z 258,30 > 126,10, для ВС m/z 269,10/170,20.

Хроматографическое разделение осуществляли на хроматографической колонке Phenomenex Kinetex EVO C18 100A 2,1\*50 мм, 2,6 мкм (ХК-149) в градиентном режиме элюирования при скорости потока 0,4 мл/мин. В этих условиях время удерживания для аналита составило 0,5 мин., для ВС - 1,9 мин.

Концентрация аналита рассчитывалась из калибровочной зависимости отношения площади хроматографического пика аналита к площади пика ВС от номинальной концентрации аналита. Калибровочные кривые представляли собой линейные функции с нормированием 1/х2. Демонстрационная калибровочная кривая N-гидроксицитидина представлена на Рисунке 1.

**Рисунок 1.** Калибровочная кривая N-гидроксицитидина.



**Приготовление исследуемых образцов плазмы крови собак**

Образцы плазмы собак были разморожены при комнатной температуре и перемешаны на вортексе. 100 мкл плазмы переносили в микропробирки, добавляли в соответствии со схемой анализа: или 10 мкл рабочего раствора N-гидроксицитидина в растворе) для образцов калибровки и контроля качества, перемешивали на вортексе в течение 5 сек. Добавляли 10 мкл раствора ВС во все пробы, за исключением пустых проб, в которые добавляли 10 мкл метанола, перемешивали на вортексе в течение 5 сек. Осаждали белки плазмы добавлением 100 мкл метанола, содержащего 0,1% муравьиной кислоты и премешивали в вортексе в течение 10 сек. А затем еще добавляли 200 мкл метанола. Перемешивали пермешивали в вортексе в течение 10 сек. Образцы центрифугировали в течение 5 мин при 13200 об/мин (RT). Отбирали надосадочную жидкость в количестве 100 мкл в 96-луночные микропланшеты, где смешивали с 200 мкл воды и помещали в автосамплер для проведения ВЭЖХ-МС/МС анализа или на хранение при +4°С.

Параметры ВЭЖХ-МС/МС системы.

**Таблица 3**. Параметры ВЭЖХ.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Параметр** | **Характеристика** | | | | |
| **Растворитель А** | 20 ммоль/л ацетат аммония в воде (pH 8,8). | | | | |
| **Растворитель В** | Метанол | | | | |
| **Хроматографическая колонка** | Phenomenex Kinetex EVO C18 100A 2,1\*50 мм, 2,6 мкм (ХК-149) | | | | |
| **Предфильтр для хроматографической колонки** | Phenomenex SecurityGuard ULTRA EVO C18 | | | | |
| **Градиентный режим** | Время, мин | Cкорость потока, мл/мин | | %А | %B |
| 0 | 400 | | 98 | 2 |
| 1.1 | 400 | | 98 | 2 |
| 1.3 | 400 | | 10 | 90 |
| 2.8 | 400 | | 10 | 90 |
| 2.9 | 400 | | 98 | 2 |
| 4 | 400 | | 98 | 2 |
| **Объём инжекции** | 2 мкл | | | | |
| **Общее время анализа** | 4 мин | | | | |
| **Время удерживания** | N-гидроксицитидин  ВС | | 0,5 мин  1,9 мин | | |

* + 1. **Анализ данных**

В исследовании определены фармакокинетические параметры препарата АЛАРИО и ЛАГЕВРИО при однократном введении собакам. Фармакокинетические параметры были рассчитаны и статистически обработаны в модели ANOVA, а также расчет 90% ДИ и коэффециента интраиндивидуальной вариабельности СV был произведен с применением функции *test2x2* библиотеки *ВЕ* среды статистического анализа R.

. Рассчитаны следующие фармакокинетические параметры N-гидроксицитидина:

**T1/2 –** период полувыведения;

**AUC0-t -** площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время» от

нуля до последнего отбора крови;

**kel -** констаната элиминации;

**AUC0-∞ -** площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время», начиная с нулевого значения времени, экстраполированная до бесконечности

**CL –** клиренс;

**Tmax -** время достижения максимальной концентрации N-гидроксицитидина в плазме крови;

**Cmax -** максимальная концентрация N-гидроксицитидина в плазме крови.

**MRT** - среднее резидентное время

* + 1. **Архив**

По завершении итогового отчета все данные по исследованию и необходимые материалы будут храниться в архиве лаборатории в течение 6 лет.

В архиве будут храниться все первичные данные доклинического исследования, результаты фармакокинетики, записи о поверке оборудования и температурных режимах, отчет по инспекционным проверкам качества исследования, а также другие материалы и документы, имеющие непосредственное отношение к конкретному доклиническому исследованию.

После указанного срока хранения архивные материалы по согласованию с Заказчиком будут переданы Заказчику или после уведомления Заказчика переданы на уничтожение. Отклонений в процедуре введения препарата не было.

# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С помощью валидированного хромато-масс-спектрометрического метода (Отчеты о валидации приведены в Приложении А) определены концентрации N-гидроксицитидина в плазме крови 12 собак перорального введения препарата АЛАРИО и ЛАГЕВРИО при однократном введении собакам. В таблице 4 приведены концентрации аналита в плазме крови собак, на рисунке 2 приведена усредненная фармакокинетическая кривая.

**Таблица 4**. Результаты определения концентрации N-гидроксицитидина в пробах плазмы крови собак.

| **Образец** | **Концентрация, нг/мл** | **Образец** | **Концентрация, нг/мл** |
| --- | --- | --- | --- |
| Volunteer01\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer07\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer01\_period1\_point01 | 306,938 | Volunteer07\_period1\_point01 | <нпко |
| Volunteer01\_period1\_point02 | 2617,733 | Volunteer07\_period1\_point02 | 1282,319 |
| Volunteer01\_period1\_point03 | 4674,396 | Volunteer07\_period1\_point03 | 4894,051 |
| Volunteer01\_period1\_point04 | 6823,839 | Volunteer07\_period1\_point04 | 7001,809 |
| Volunteer01\_period1\_point05 | 2353,627 | Volunteer07\_period1\_point05 | 5960,405 |
| Volunteer01\_period1\_point06 | 848,438 | Volunteer07\_period1\_point06 | 2993,610 |
| Volunteer01\_period1\_point07 | 468,821 | Volunteer07\_period1\_point07 | 1939,437 |
| Volunteer01\_period1\_point08 | 152,272 | Volunteer07\_period1\_point08 | 458,946 |
| Volunteer01\_period1\_point09 | 86,784 | Volunteer07\_period1\_point09 | 223,642 |
| Volunteer01\_period1\_point10 | 53,130 | Volunteer07\_period1\_point10 | 70,701 |
| Volunteer01\_period1\_point11 | <нпко | Volunteer07\_period1\_point11 | 43,832 |
| Volunteer01\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer07\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer01\_period2\_point01 | 3126,197 | Volunteer07\_period2\_point01 | 10513,295 |
| Volunteer01\_period2\_point02 | 7197,043 | Volunteer07\_period2\_point02 | 12186,388 |
| Volunteer01\_period2\_point03 | 7559,966 | Volunteer07\_period2\_point03 | 11165,928 |
| Volunteer01\_period2\_point04 | 5644,581 | Volunteer07\_period2\_point04 | 9056,827 |
| Volunteer01\_period2\_point05 | 2446,732 | Volunteer07\_period2\_point05 | 3949,345 |
| Volunteer01\_period2\_point06 | 960,142 | Volunteer07\_period2\_point06 | 1797,766 |
| Volunteer01\_period2\_point07 | 469,452 | Volunteer07\_period2\_point07 | 783,549 |
| Volunteer01\_period2\_point08 | 107,176 | Volunteer07\_period2\_point08 | 216,826 |
| Volunteer01\_period2\_point09 | 48,797 | Volunteer07\_period2\_point09 | 87,722 |
| Volunteer01\_period2\_point10 | 25,978 | Volunteer07\_period2\_point10 | 50,237 |
| Volunteer01\_period2\_point11 | <нпко | Volunteer07\_period2\_point11 | 33,017 |
| Volunteer02\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer08\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer02\_period1\_point01 | <нпко | Volunteer08\_period1\_point01 | <нпко |
| Volunteer02\_period1\_point02 | 52,427 | Volunteer08\_period1\_point02 | 376,527 |
| Volunteer02\_period1\_point03 | 1292,550 | Volunteer08\_period1\_point03 | 2174,829 |
| Volunteer02\_period1\_point04 | 3776,282 | Volunteer08\_period1\_point04 | 6343,187 |
| Volunteer02\_period1\_point05 | 2816,735 | Volunteer08\_period1\_point05 | 6937,982 |
| Volunteer02\_period1\_point06 | 1239,408 | Volunteer08\_period1\_point06 | 1970,193 |
| Volunteer02\_period1\_point07 | 716,534 | Volunteer08\_period1\_point07 | 1007,622 |
| Volunteer02\_period1\_point08 | 218,269 | Volunteer08\_period1\_point08 | 313,796 |
| Volunteer02\_period1\_point09 | 141,385 | Volunteer08\_period1\_point09 | 173,478 |
| Volunteer02\_period1\_point10 | 63,699 | Volunteer08\_period1\_point10 | 70,856 |
| Volunteer02\_period1\_point11 | 62,466 | Volunteer08\_period1\_point11 | 30,255 |
| Volunteer02\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer08\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer02\_period2\_point01 | 4152,967 | Volunteer08\_period2\_point01 | 13371,697 |
| Volunteer02\_period2\_point02 | 7970,703 | Volunteer08\_period2\_point02 | 12914,264 |
| Volunteer02\_period2\_point03 | 7898,528 | Volunteer08\_period2\_point03 | 12383,619 |
| Volunteer02\_period2\_point04 | 5508,996 | Volunteer08\_period2\_point04 | 9754,335 |
| Volunteer02\_period2\_point05 | 2744,612 | Volunteer08\_period2\_point05 | 4294,173 |
| Volunteer02\_period2\_point06 | 1265,509 | Volunteer08\_period2\_point06 | 1836,370 |
| Volunteer02\_period2\_point07 | 642,892 | Volunteer08\_period2\_point07 | 919,850 |
| Volunteer02\_period2\_point08 | 164,934 | Volunteer08\_period2\_point08 | 289,275 |
| Volunteer02\_period2\_point09 | 53,229 | Volunteer08\_period2\_point09 | 125,245 |
| Volunteer02\_period2\_point10 | 38,817 | Volunteer08\_period2\_point10 | 68,327 |
| Volunteer02\_period2\_point11 | 27,494 | Volunteer08\_period2\_point11 | 37,158 |
| Volunteer03\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer09\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer03\_period1\_point01 | <нпко | Volunteer09\_period1\_point01 | 384,663 |
| Volunteer03\_period1\_point02 | <нпко | Volunteer09\_period1\_point02 | 2283,199 |
| Volunteer03\_period1\_point03 | 41,611 | Volunteer09\_period1\_point03 | 4846,004 |
| Volunteer03\_period1\_point04 | 102,375 | Volunteer09\_period1\_point04 | 5674,378 |
| Volunteer03\_period1\_point05 | 5666,643 | Volunteer09\_period1\_point05 | 3871,955 |
| Volunteer03\_period1\_point06 | 2293,813 | Volunteer09\_period1\_point06 | 1354,458 |
| Volunteer03\_period1\_point07 | 1409,115 | Volunteer09\_period1\_point07 | 704,911 |
| Volunteer03\_period1\_point08 | 411,094 | Volunteer09\_period1\_point08 | 170,948 |
| Volunteer03\_period1\_point09 | 188,858 | Volunteer09\_period1\_point09 | 109,438 |
| Volunteer03\_period1\_point10 | 61,894 | Volunteer09\_period1\_point10 | 47,696 |
| Volunteer03\_period1\_point11 | 57,167 | Volunteer09\_period1\_point11 | <нпко |
| Volunteer03\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer09\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer03\_period2\_point01 | 375,234 | Volunteer09\_period2\_point01 | 1151,686 |
| Volunteer03\_period2\_point02 | 2393,591 | Volunteer09\_period2\_point02 | 4833,684 |
| Volunteer03\_period2\_point03 | 4027,110 | Volunteer09\_period2\_point03 | 6118,363 |
| Volunteer03\_period2\_point04 | 7509,425 | Volunteer09\_period2\_point04 | 8389,335 |
| Volunteer03\_period2\_point05 | 4223,835 | Volunteer09\_period2\_point05 | 3686,632 |
| Volunteer03\_period2\_point06 | 2316,115 | Volunteer09\_period2\_point06 | 1286,124 |
| Volunteer03\_period2\_point07 | 919,497 | Volunteer09\_period2\_point07 | 507,593 |
| Volunteer03\_period2\_point08 | 225,588 | Volunteer09\_period2\_point08 | 164,173 |
| Volunteer03\_period2\_point09 | 74,704 | Volunteer09\_period2\_point09 | 62,848 |
| Volunteer03\_period2\_point10 | 44,772 | Volunteer09\_period2\_point10 | 30,396 |
| Volunteer03\_period2\_point11 | 25,460 | Volunteer09\_period2\_point11 | 20,500 |
| Volunteer04\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer10\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer04\_period1\_point01 | <нпко | Volunteer10\_period1\_point01 | <нпко |
| Volunteer04\_period1\_point02 | 2863,206 | Volunteer10\_period1\_point02 | 123,363 |
| Volunteer04\_period1\_point03 | 4646,584 | Volunteer10\_period1\_point03 | 1450,687 |
| Volunteer04\_period1\_point04 | 4077,998 | Volunteer10\_period1\_point04 | 2161,680 |
| Volunteer04\_period1\_point05 | 3148,652 | Volunteer10\_period1\_point05 | 3583,000 |
| Volunteer04\_period1\_point06 | 1536,776 | Volunteer10\_period1\_point06 | 1953,848 |
| Volunteer04\_period1\_point07 | 1422,560 | Volunteer10\_period1\_point07 | 933,180 |
| Volunteer04\_period1\_point08 | 607,188 | Volunteer10\_period1\_point08 | 246,686 |
| Volunteer04\_period1\_point09 | 212,796 | Volunteer10\_period1\_point09 | 120,679 |
| Volunteer04\_period1\_point10 | 77,309 | Volunteer10\_period1\_point10 | 46,864 |
| Volunteer04\_period1\_point11 | 31,382 | Volunteer10\_period1\_point11 | 22,122 |
| Volunteer04\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer10\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer04\_period2\_point01 | 396,001 | Volunteer10\_period2\_point01 | 6745,704 |
| Volunteer04\_period2\_point02 | 1136,939 | Volunteer10\_period2\_point02 | 8561,130 |
| Volunteer04\_period2\_point03 | 1478,845 | Volunteer10\_period2\_point03 | 8034,687 |
| Volunteer04\_period2\_point04 | 2272,396 | Volunteer10\_period2\_point04 | 6025,909 |
| Volunteer04\_period2\_point05 | 7285,481 | Volunteer10\_period2\_point05 | 2257,862 |
| Volunteer04\_period2\_point06 | 3013,031 | Volunteer10\_period2\_point06 | 826,595 |
| Volunteer04\_period2\_point07 | 1373,687 | Volunteer10\_period2\_point07 | 350,598 |
| Volunteer04\_period2\_point08 | 270,682 | Volunteer10\_period2\_point08 | 113,263 |
| Volunteer04\_period2\_point09 | 86,111 | Volunteer10\_period2\_point09 | 44,610 |
| Volunteer04\_period2\_point10 | 55,023 | Volunteer10\_period2\_point10 | 34,362 |
| Volunteer04\_period2\_point11 | 36,699 | Volunteer10\_period2\_point11 | 24,526 |
| Volunteer05\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer11\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer05\_period1\_point01 | 174,395 | Volunteer11\_period1\_point01 | <нпко |
| Volunteer05\_period1\_point02 | 1723,985 | Volunteer11\_period1\_point02 | 775,035 |
| Volunteer05\_period1\_point03 | 3775,033 | Volunteer11\_period1\_point03 | 3797,557 |
| Volunteer05\_period1\_point04 | 4893,559 | Volunteer11\_period1\_point04 | 6510,596 |
| Volunteer05\_period1\_point05 | 2971,222 | Volunteer11\_period1\_point05 | 5853,678 |
| Volunteer05\_period1\_point06 | 1135,737 | Volunteer11\_period1\_point06 | 2375,521 |
| Volunteer05\_period1\_point07 | 697,139 | Volunteer11\_period1\_point07 | 1298,572 |
| Volunteer05\_period1\_point08 | 216,438 | Volunteer11\_period1\_point08 | 343,100 |
| Volunteer05\_period1\_point09 | 118,702 | Volunteer11\_period1\_point09 | 197,589 |
| Volunteer05\_period1\_point10 | 51,241 | Volunteer11\_period1\_point10 | 69,955 |
| Volunteer05\_period1\_point11 | 38,166 | Volunteer11\_period1\_point11 | 43,966 |
| Volunteer05\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer11\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer05\_period2\_point01 | 3939,315 | Volunteer11\_period2\_point01 | 11470,159 |
| Volunteer05\_period2\_point02 | 7323,350 | Volunteer11\_period2\_point02 | 11611,373 |
| Volunteer05\_period2\_point03 | 7104,273 | Volunteer11\_period2\_point03 | 11887,246 |
| Volunteer05\_period2\_point04 | 6292,371 | Volunteer11\_period2\_point04 | 9358,560 |
| Volunteer05\_period2\_point05 | 2339,096 | Volunteer11\_period2\_point05 | 4298,186 |
| Volunteer05\_period2\_point06 | 1146,776 | Volunteer11\_period2\_point06 | 1917,035 |
| Volunteer05\_period2\_point07 | 547,101 | Volunteer11\_period2\_point07 | 918,366 |
| Volunteer05\_period2\_point08 | 129,702 | Volunteer11\_period2\_point08 | 277,812 |
| Volunteer05\_period2\_point09 | 48,056 | Volunteer11\_period2\_point09 | 105,174 |
| Volunteer05\_period2\_point10 | 33,807 | Volunteer11\_period2\_point10 | 59,687 |
| Volunteer05\_period2\_point11 | 27,555 | Volunteer11\_period2\_point11 | 34,312 |
| Volunteer06\_period1\_point00 | <нпко | Volunteer12\_period1\_point00 | <нпко |
| Volunteer06\_period1\_point01 | <нпко | Volunteer12\_period1\_point01 | 236,704 |
| Volunteer06\_period1\_point02 | 1688,059 | Volunteer12\_period1\_point02 | 1291,578 |
| Volunteer06\_period1\_point03 | 2524,749 | Volunteer12\_period1\_point03 | 3418,817 |
| Volunteer06\_period1\_point04 | 2259,843 | Volunteer12\_period1\_point04 | 4011,293 |
| Volunteer06\_period1\_point05 | 5225,770 | Volunteer12\_period1\_point05 | 3622,986 |
| Volunteer06\_period1\_point06 | 2345,951 | Volunteer12\_period1\_point06 | 1826,894 |
| Volunteer06\_period1\_point07 | 1510,093 | Volunteer12\_period1\_point07 | 872,009 |
| Volunteer06\_period1\_point08 | 635,844 | Volunteer12\_period1\_point08 | 234,108 |
| Volunteer06\_period1\_point09 | 236,569 | Volunteer12\_period1\_point09 | 115,662 |
| Volunteer06\_period1\_point10 | 74,122 | Volunteer12\_period1\_point10 | 46,522 |
| Volunteer06\_period1\_point11 | 47,036 | Volunteer12\_period1\_point11 | 21,037 |
| Volunteer06\_period2\_point00 | <нпко | Volunteer12\_period2\_point00 | <нпко |
| Volunteer06\_period2\_point01 | 378,014 | Volunteer12\_period2\_point01 | 5040,556 |
| Volunteer06\_period2\_point02 | 1870,158 | Volunteer12\_period2\_point02 | 6889,527 |
| Volunteer06\_period2\_point03 | 3062,770 | Volunteer12\_period2\_point03 | 6879,008 |
| Volunteer06\_period2\_point04 | 4683,883 | Volunteer12\_period2\_point04 | 6119,316 |
| Volunteer06\_period2\_point05 | 6924,092 | Volunteer12\_period2\_point05 | 2939,749 |
| Volunteer06\_period2\_point06 | 2645,103 | Volunteer12\_period2\_point06 | 1140,670 |
| Volunteer06\_period2\_point07 | 1222,805 | Volunteer12\_period2\_point07 | 444,719 |
| Volunteer06\_period2\_point08 | 267,422 | Volunteer12\_period2\_point08 | 130,430 |
| Volunteer06\_period2\_point09 | 87,603 | Volunteer12\_period2\_point09 | 53,038 |
| Volunteer06\_period2\_point10 | 52,870 | Volunteer12\_period2\_point10 | 32,538 |
| Volunteer06\_period2\_point11 | 30,253 | Volunteer12\_period2\_point11 | 24,603 |

**Рисунок 2.** Усредненная фармакокинетическая кривая N-гидроксицитидина.

Фармакокинетические параметры N-гидроксицитидина были рассчитаны на основе усредненных концентраций аналита в плазме собак. В таблицах 5 (ЛАГЕВРИО) и 6 (АЛАРИО) представлены фармакокинетические параметры и результаты статистической обработки данных.

**Таблица 5.** Основные фармакокинетические параметры препарата ЛАГЕВРИО.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Субъект** | **Cmax, нг/мл** | **Tmax, ч** | **AUC(0-8), (нг/мл)\*ч** | **AUC(0-inf), (нг/мл)\*ч** | **Cl, мл/ч** | **MRT, ч** | **Vd, мл** | **Ke, 1/ч** | **T1/2, ч** |
| 1 | 7559 | 0,75 | 12522 | 12574 | 0,02 | 1,57 | 0,03 | 0,64 | 1,09 |
| 2 | 7970 | 0,5 | 14388 | 15104 | 0,01 | 2,1 | 0,03 | 0,48 | 1,46 |
| 3 | 7509 | 1 | 15497 | 15904 | 0,01 | 2,53 | 0,03 | 0,4 | 1,75 |
| 4 | 7285 | 2 | 15992 | 16744 | 0,01 | 3,1 | 0,04 | 0,32 | 2,15 |
| 5 | 7323 | 0,5 | 13670 | 14568 | 0,01 | 2,03 | 0,03 | 0,49 | 1,41 |
| 6 | 6924 | 2 | 17060 | 175492 | 0,01 | 2,79 | 0,03 | 0,36 | 1,93 |
| 7 | 7002 | 1 | 20200 | 20403 | 0,01 | 3,07 | 0,03 | 0,33 | 2,13 |
| 8 | 6938 | 2 | 16918 | 17169 | 0,01 | 2,92 | 0,03 | 0,34 | 2,02 |
| 9 | 5674 | 1 | 12474 | 12699 | 0,02 | 2,13 | 0,03 | 0,47 | 1,48 |
| 10 | 3583 | 2 | 10044 | 10226 | 0,02 | 3,37 | 0,07 | 0,3 | 2,33 |
| 11 | 6511 | 1 | 17491 | 17913 | 0,01 | 3,05 | 0,03 | 0,33 | 2,12 |
| 12 | 4011 | 1 | 11815 | 11988 | 0,02 | 2,91 | 0,05 | 0,34 | 2,02 |
| **СГ** | **6352** | **1,1** | **14578** | **14966** | **0,01** | **2,57** | **0,04** | **0,39** | **1,78** |
| **СО** | **1401** | **0,6** | **2883** | **2943** | **0** | **0,55** | **0,01** | **0,1** | **0,38** |
| **КВ, %** | **21,5** | **48,6** | **19,4** | **19,3** | **20,3** | **20,9** | **30,9** | **25,1** | **20,9** |

**Таблица 6.** Основные фармакокинетические параметры препарата АЛАРИО.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Субъект** | **Cmax, нг/мл** | **Tmax, ч** | **AUC(0-8), (нг/мл)\*ч** | **AUC(0-inf), (нг/мл)\*ч** | **Cl, мл/ч** | **MRT, ч** | **Vd, мл** | **Ke, 1/ч** | **T1/2, ч** |
| 1 | 6824 | 1 | 10741 | 11057 | 0,02 | 1,93 | 0,04 | 0,52 | 1,34 |
| 2 | 3776 | 1 | 9572 | 9973 | 0,02 | 3,91 | 0,08 | 0,26 | 2,71 |
| 3 | 5667 | 2 | 12375 | 12722 | 0,02 | 4,07 | 0,07 | 0,25 | 2,82 |
| 4 | 4647 | 0,75 | 13905 | 14049 | 0,01 | 3,42 | 0,05 | 0,29 | 2,37 |
| 5 | 4894 | 1 | 11057 | 11271 | 0,02 | 3,02 | 0,05 | 0,33 | 2,09 |
| 6 | 5226 | 2 | 15159 | 15419 | 0,01 | 3,68 | 0,05 | 0,27 | 2,55 |
| 7 | 12186 | 0,5 | 22346 | 22946 | 0,01 | 1,89 | 0,02 | 0,53 | 1,31 |
| 8 | 13372 | 0,25 | 24998 | 25528 | 0,01 | 1,96 | 0,02 | 0,51 | 1,36 |
| 9 | 8389 | 1 | 14886 | 15220 | 0,01 | 2,06 | 0,03 | 0,49 | 1,43 |
| 10 | 8561 | 0,5 | 13994 | 14690 | 0,01 | 1,8 | 0,03 | 0,56 | 1,24 |
| 11 | 11887 | 0,75 | 23739 | 24271 | 0,01 | 1,96 | 0,02 | 0,51 | 1,36 |
| 12 | 6890 | 0,5 | 14102 | 14684 | 0,01 | 1,97 | 0,03 | 0,51 | 1,36 |
| **СГ** | **7108** | **0,8** | **14856** | **15263** | **0,01** | **2,51** | **0,03** | **0,4** | **1,74** |
| **СО** | **3238** | **0,56** | **5217** | **5304** | **0** | **0,9** | **0,02** | **0,13** | **0,63** |
| **КВ, %** | **42** | **59,22** | **34** | **33** | **29,11** | **34,24** | **54,6** | **29,93** | **34,24** |

Проведена оценка биоэквивалентности препаратов АЛАРИО и ЛАГЕВРИО (Таблица 7). Значения 90% доверительных интервалов (ДИ) AUC и Cmax для отношений фармакокинетических показателей N-гидроксицитидина после приема препаратов АЛАРИО и ЛАГЕВРИО укладываются в диапазон допустимых значений 80% - 125%. Таким образом, препараты АЛАРИО и ЛАГЕВРИО биоэквивалентны.

**Таблица 7.** Значения рассчитанных 90% доверительных интервалов для отношений фармакокинетических показателей N-гидроксицитидина после приема препаратов АЛАРИО и ЛАГЕВРИО.

| **Показатель** | **90% ДИ** | **Допустимые значения для 90% ДИ** | **T / R** | **CV** |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| AUC(0-72) | 96.27% - 107.86% | 80% - 125% | 1.019 | 7.69% |
| Cmax | 101.30% - 123.63% | 80% - 125% | 1.119 | 13.52% |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено сравнительное перекрестное исследование фармакокинетики препаратов АЛАРИО (TL-MNR-c) и ЛАГЕВРИО (МНН: молнупиравир) при пероральном введении собакам в дозе 200 мг.

После забора крови проведена пробоподготовка и последующий анализ биообразцов с помощью валидированного хромато-масс-спектрометрического метода.

После статистической обработки данных рассчитаны основные фармакокинетические параметры активного метаболита N-гидроксицитидина у препаратов АЛАРИО (TL-MNR-c) и ЛАГЕВРИО:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Параметр** | **АЛАРИО** | **ЛАГЕВРИО** |
| **Тmax, ч** | 0,8 | 1,1 |
| **Cmax, нг/мл** | 7108 | 6352 |
| **AUC0-t, ч\*нг/мл** | 14856 | 14570 |
| **AUC0-∞, ч\*нг/мл** | 15263 | 14967 |
| **CL, мл/ч/кг** | 0,01 | 0,01 |
| **MRT, ч** | 2,51 | 2,57 |
| **Vd, мл** | 0,03 | 0,04 |
| **kel, 1/ч** | 0,4 | 0,39 |
| **Т1/2, ч** | 1,74 | 1,78 |

Установлена биоэквивалентность препаратов АЛАРИО и ЛАГЕВРИО при пероральном введении собакам.

Значения рассчитанных 90% доверительных интервалов (ДИ) для отношений фармакокинетических показателей N-гидроксицитидина после приема препаратов АЛАРИО и ЛАГКВРИО.

| **Показатель** | **90% ДИ** | **Допустимые значения для 90% ДИ** | **T / R** | **CV** |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| AUC(0-72) | 96.27% - 107.86% | 80% - 125% | 1.019 | 7.69% |
| Cmax | 101.30% - 123.63% | 80% - 125% | 1.119 | 13.52% |

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 85 об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза.
2. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».
3. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 01 августа 2015 (идентичен OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice);
4. ГОСТ 33217-2014 «Правила содержания и ухода за лабораторными хищными млекопитающими».
5. ФЗ No. 61-ФЗ “Об обращении лекарственных средств” 12.04.2010.
6. Директиве Совета ЕС от 24 ноября 1986 г. о сближении Законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86 / 609 / ЕЕС).
7. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. –Washington, D.C. 2011.
8. K.-H.Diehl et.el. A Good Practice to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. J. Appl. Toxicol. 21, 15-23 (2001)
9. Lacey L. F. et. Al. Common noncompartmental pharmacokinetic variables: are they normally or log-normally distributed? Journal of Biopharmaceutical Statistics, 7:1, 171-178.
10. EMA. Lagevrio. Assessment report. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/leqvio-epar-public-assessment-report_en.pdf>.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

Отчеты о разработке и валидации биоаналитического метода определения N-гидроксицитидина в плазме крови собак (№V-012-03/21 от 28.03.2022 г.) на 46 стр. приложены в виде отдельного документа.