

ПРИЛОЖЕНИЕ

к Решению Совета
Евразийской экономической комиссии
от 20 г. №

ПРИЛОЖЕНИЕ № 9

к Правилам проведения исследований
биоэквивалентности лекарственных
препаратов в рамках Евразийского
экономического союза

ТРЕБОВАНИЯ

к проведению фармакокинетического и клинического исследования биоэквивалентности кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения

I. Введение

1. Настоящие Требования содержат указания по подтверждению биоэквивалентности *in vivo* кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения при помощи проведения фармакодинамических исследований с использованием модифицированного анализа сужения сосудов (анализа побледнения кожи, биоанализ по Стаутон-МакКензи). Указанный метод предполагает оценку длительности экспозиции для контроля дозы вводимого кортикостероидного препарата для местного применения. Предложенная методология предусматривает пилотное исследование зависимости «длительность дозы – ответ» для определения приемлемой длительности дозы в опорном исследовании, далее следует опорное исследование биоэквивалентности *in vivo* с репликативным дизайном и подтверждением приемлемой зависимости «длительность дозы – ответ»

субъектов. Как и все биоаналитические методики, данный фармакодинамический биоанализ требует детальной валидации, которая является обязанностью спонсора.

2. Сильнодействующие кортикостероидные лекарственные препараты для местного применения могут угнетать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, однако для препаратов, биоэквивалентность которых подтверждена, не требуется представлять результаты испытаний на подавление гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.

3. Приведенные в настоящих Требованиях указания применяются для кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения независимо от уровня их активности. Поскольку характеристики зависимости «длительность дозы – ответ» могут изменяться в зависимости от конкретного лекарственного препарата, для определения соответствующих параметров основного исследования рекомендуется проведение пилотного исследования.

II. Определения

4. Для целей настоящих Требований используются понятия, которые означают следующее:

«субъект, не ответивший на лечение» (nonresponder) – субъект, не проявляющий ответ на однократную длительность дозы референтного лекарственного препарата в тех же условиях – с преграждением (окклюзией) или без такового – использованных в пилотном и опорном исследованиях;

«субъект ответивший на лечение» (responder) – субъект, проявляющий ответ на однократную длительность дозы референтного лекарственного препарата в тех же условиях – с преграждением (окклюзией) или без такового – использованных в пилотном и опорном исследованиях;

III. Общие положения

5. Подтверждение биоэквивалентности двух твердых лекарственных форм кортикостероидных лекарственных препаратов для приема внутрь основывается на сравнении концентраций действующего вещества и (или) метаболита в доступной биологической жидкости (например, в крови или моче) после однократного или многократного дозирования каждого кортикостероидного лекарственного препарата здоровым добровольцам. При невыполнимости этой методологии для подтверждения биоэквивалентности допускается использование альтернативных методов исследований *in vivo* и *in vitro*, которые включают в себя (в порядке уменьшения значимости результатов, получаемых данными методами):

- а) фармакодинамические исследования;
- б) клинические исследования;
- в) *in vivo* исследования на животных;
- г) *in vitro* исследования.

6. Для установления биоэквивалентности кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения, если концентрация действующего вещества или его метаболитов не может быть определена в доступных биологических жидкостях, требуется

проведение фармакодинамического или клинического исследования *in vivo*. Клинические исследования обычно требуют включения большого числа субъектов и нередко не обладают достаточной чувствительностью. В противоположность этому, фармакодинамические исследования позволяют получить приемлемые данные о биоэквивалентности кортикостероидных лекарственных препаратов при относительно небольшом числе субъектов.

7. Регистрация воспроизведенных кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения должна основываться в первую очередь на наличии результатов сравнительной оценки фармакодинамических эффектов поступления действующего вещества из двух потенциально эквивалентных составов кортикостероидных препаратов для местного применения. Такой подход обусловлен свойством кортикостероидов вызывать побледнение или сужение микрососудов кожи, которое может быть проанализировано количественно и сопоставлено с количеством действующего вещества, поступившим в кожу.

8. Несмотря на то, что существует несколько видов анализа сужения сосудов, общий метод основан на местном нанесении кортикостероидного лекарственного препарата на период 6 – 16 часов здоровым добровольцам, с последующей визуальной оценкой «слепым методом» степени побледнения по бальной шкале (0 – 3 или 0 – 4 баллов) в одной временной точке (как правило, через два часа после удаления препарата) прошедшим подготовку наблюдателем.

9. Настоящие Требования предполагают проведение двух исследований *in vivo* – пилотного исследования зависимости

«длительность дозы – ответ», и опорного исследования биоэквивалентности *in vivo* для сравнения испытуемого и референтного препаратов. Пилотное исследование характеризует зависимость «длительность дозы – ответ» при построении такой зависимости в модели определения E_{max} и проводится с использованием исключительно референтного лекарственного препарата. Предпочтительный для подтверждения биоэквивалентности метод оценки длительности дозы включает в себя использование трех длительностей дозы: ED_{50} , D_1 и D_2 . Сравнение исследуемого и референтного препаратов в опорном исследовании проводится на уровне длительности дозы, приблизительно эквивалентной популяционной ED_{50} по результатам пилотного исследования. Чувствительность в опорном исследовании устанавливается посредством нанесения референтного калибровочного стандарта на двух уровнях длительности дозы: D_1 (калибровочный стандарт с более короткой длительностью дозы) и D_2 (калибровочный стандарт с более продолжительной длительностью дозы). Рекомендуется устанавливать D_1 равную примерно $0,5 \times ED_{50}$, а D_2 – $2 \times ED_{50}$ по результатам пилотного исследования. Каждый субъект выступает в роли детектора в таком исследовании, поэтому только данные субъектов, у которых отношение D_2/D_1 фармакодинамических ответов соответствует установленному минимальному значению, могут быть включены в анализ и подвергнуты статистической обработке для подтверждения биоэквивалентности *in vivo*.

IV. Исследование фармакодинамических эффектов: анализ сосудосуживающих эффектов

10. При оценке результатов исследований эквивалентности уполномоченные органы (экспертные организации) должны удостовериться в проведении исполнителем исследований при изучении эквивалентности методом анализа сужения сосудов кожи:

валидации и стандартизации метода анализа сужения сосудов кожи с соответствии с требованиями к валидации биоаналитических методик;

выбора в качестве наблюдателя – персонала, прошедшего подготовку с целью надлежащей оценки сужения сосудов.

1. Валидация и стандартизация метода анализа сужения сосудов

11. Применение анализа сужения сосудов для оценки биоэквивалентности кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения предполагает, что сосудосуживающие свойства кортикостероидов при местном применении могут быть использованы для разработки стандартного валидированного биоанализа. Результаты разработки и валидация биоанализ должны быть документально оформлены.

12. В процессе экспертизы регистрационного досье на кортикостероидный лекарственный препарат следует проводить сопоставление результатов валидации ВЭЖХ или ГЖХ методики для количественного определения концентрации кортикостероидного лекарственного препарата в крови после введения его определенной

дозы с результатами валидацией методики биоанализа сужения сосудов. При использовании биоанализа сужения сосудов наблюдаемый фармакодинамический ответ (сужение сосудов) на введенное количество действующего вещества кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения является аналогом ответа детектора ВЭЖХ или ГЖХ на такое же введенное известное количество действующего вещества кортикостероидного лекарственного препарата.

13. В то время как в типичном анализе концентрации в крови или моче используется только один инструмент и детектор, каждый субъект исследования с использованием фармакодинамического биоанализа выступает в роли «детектора», отвечающего на известное или неизвестное количество действующего вещества. Несмотря на фундаментальные отличия между стандартным анализом концентрации в крови или моче и биоанализом, многие принципы стандартизации и валидации сопоставимы.

Линейность

14. Фармакодинамическая зависимость между дозой или концентрацией кортикостероидного лекарственного препарата его и исследуемым фармакодинамическим эффектом применима в биоанализе сужения сосудов при наличии оценки ее линейности. Несмотря на то, что существуют различные модели описания зависимости «доза – эффект», для биоанализа сужения сосудов следует применять модель оценки E_{\max} , или соответствующая сигмоидальная модель E_{\max} , которая, рассчитывается по формуле:

$$E = E_0 + \frac{E_{\max} \times D}{ED_{50} + D}$$

и позволяет установить величину эффекта (E) от введения любой дозы (D) исходя из значений трех констант: исходного эффекта (E_0), максимального эффекта (E_{\max}) и дозы, при введении которой эффект составляет половину от максимального (ED_{50}).

15. В условиях *in vivo* сужение сосудов, в целом, приближается к максимуму. Таким образом, основной проблемой, требующей решения при использовании анализа сужения сосудов для оценки биоэквивалентности, является выход за пределы линейного диапазона ответа микрососудов кожи при нанесении исследуемых препаратов. Относительно высокие дозировки кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения могут оказывать минимальное влияние на сужение сосудов, независимо от интервала изменения величины дозы. При относительно низких дозировках кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения определение минимальной дозы, которая вызывает надежное и воспроизводимое сужение сосудов представляет собой основную проблему. Определение минимальной дозы является аналогом определения нижнего порога количественного определения концентрации действующего вещества в крови или моче в процессе валидации биоаналитических методик при построении стандартной фармакокинетической кривой. Для оценки правильности выбора ED_{50} , D_1 и D_2 необходимы построение и валидация стандартной кривой «доза – ответ».

16. В стандартной валидации аналитических методик необходимо установление линейности ответа детектора. При разработке анализа сужения сосудов также желательна линейность ответа. Поскольку коммерческие препараты воспроизведенного и референтного лекарственных препаратов могут быть зарегистрированы в дозировках, соответствующих горизонтальной части кривой «доза – ответ», методика должна быть оптимизирована для обеспечения сравнения препаратов в линейной части кривой.

17. Установление зависимости «доза – эффект» для кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения должно быть основано на использовании способа обеспечивающего надежное нанесение заданной дозы лекарственного препарата на кожу. Допускается использование одно из следующих трех методов, обеспечивающих надежное нанесение изучаемой дозы кортикостероидного лекарственного препарата:

метод длительности дозы;

метод разбавления;

метод поверхности.

Методы разбавления и длительности дозы являются хорошо стандартизуемыми и воспроизводимыми методами, однако метод разбавления не всегда позволяет учесть особенности различий в составе препаратов. Метод длительности дозы является наиболее подходящим для подтверждения биоэквивалентности кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения. Установление зависимости «длительность дозы – ответ» для кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения позволит

определить точки для зависимости «ответ – время», когда сужение сосудов становится нечувствительным. В целом, чтобы гарантировать наблюдение максимального фармакодинамического ответа при каждой длительности дозы, временная динамика ответа должна определяться до возвращения к исходному уровню.

1.2. Правильность, прецизионность и чувствительность

18. Разработка методологии установления правильности, прецизионности и чувствительности биоанализа для кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения должна проводиться одновременно с построением приемлемой стандартной кривой для анализа сужения сосудов. Для каждой популяции, используемой в исследовании необходимо разработать такую методологию и построить стандартную кривую для анализа сужения сосудов. Подобно стандартному анализу концентрации действующего вещества в крови или моче, эти сведения получают, используя контрольную группу, субъекты которой не подвергаются воздействию, и калибровочные стандарты, содержащие исследуемый кортикостероидный препарат для местного применения. Воспроизведение результатов испытаний в контрольной группе с применением калибровочных стандартов позволяет оценить коэффициенты вариации. Подобно стандартным ВЭЖХ- и ГЖХ-методикам, калибровочный стандарт которых подразумевает оценку ответа детектора на известную концентрацию действующего вещества, в фармакодинамическом биоанализе кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения, основанном на

длительности дозы, калибровочный стандарт предполагает нанесение стандартной дозы кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения на периоды времени разной продолжительности.

2. Оценка сосудосуживающего эффекта

19. Применение аппаратной хромаметрии или колориметрии для обнаружения эритемы позволяет заменить субъективную визуальную оценку в рамках анализа сужения сосудов на объективные, определяемые количественно, оценки. Уполномоченными органами (экспертными организациями) результаты аппаратной оценки анализа сужения сосудов в исследованиях биоэквивалентности принимаются наравне с визуальными оценками степени сужения сосудов при соответствующей валидации последних с установлением корреляции между измерениями хромометра (колориметра) и визуальными оценками степени сужения сосудов.

20. По сравнению с визуальной оценкой хромометр обладает более высокой чувствительностью к побледнению кожи.

21. В связи с наличием циркадного ритма изменения реакции кожных сосудов, связанного с циркадным ритмом содержания кортизола в плазме побледнение кожи следует оценивать за два последовательных 24 часовых интервала (48 часов). Данные площади под фармакодинамической кривой (AUEC), полученные в течение по меньшей мере 24 часов с момента удаления или нанесения лекарственного препарата, применимы для оценки биоэквивалентности (см. п. 45).

22. Показатели степени сужения сосудов, измеренные хромометром и скорректированные по исходному значению состояния сосудов на контрольных участках кожи без нанесения лекарственного препарата (AUEC в контрольной группе), должны позволять подтвердить, что у субъектов исследования отсутствуют:

разница в ответах между левой и правой руками;

влияние на величину ответа места нанесения лекарственного препарата на кожу руки, расположенного не ближе 3 – 4 см до локтевой ямки или до запястья.

Если установлено наличие разницы в ответах или влияние на величину ответа места нанесения лекарственного препарата следует использовать дизайн клинического исследования, указанный в п. 59, при котором схемы нанесения лекарственного препарата на каждой руке комплементарны (например, места нанесения исследуемого препарата на одну руку совпадают с местами нанесения референтного лекарственного препарата на другую руку). Это позволяет минимизировать разницу в ответах или влияние на величину ответа места нанесения лекарственного препарата.

V. Пилотное исследование зависимости «длительность воздействия дозы – ответ»

23. Целью предварительного исследования является оценка зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» для кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения, которая должна быть изучена в ходе опорного исследования биоэквивалентности *in vivo*. Данное исследование

аналогично разработке стандартной кривой при анализе содержания действующего вещества в биологической жидкости. Результат пилотного исследования позволяет получить сведения о зависимости «длительность воздействия дозы – ответ», необходимой для определения параметров ED_{50} , D_1 и D_2 , используемых в опорном исследовании биоэквивалентности *in vivo*, и оценку доли субъектов, которые предположительно будут соответствовать минимальному отношению D_2/D_1 -показателей АУЕС в опорном исследовании. Поскольку результаты пилотного исследования могут функционально зависеть от условий исследования, включая среди прочих факторов характеристики популяции субъектов, методологию оценки побледнения кожи, количество нанесенного лекарственного препарата, положения настоящего Приложения рекомендуют проводить пилотное исследование в каждом исследовательском центре для каждого референтного лекарственного препарата в исследовании.

1. Дизайн исследования и анализ

24. Исследование «длительность воздействия дозы – ответ» проводится только с референтным препаратом с рандомизацией участков нанесения по длительности воздействия дозы. Используют длительность воздействия дозы от 0,25 до 6,0 часов, а также необработанные контрольные участки на каждой руке для возможности поправки на изменение цвета участков кожи, подверженных влиянию лекарственного препарата в ходе исследования, независимо от продолжительности воздействия препарата. Поскольку носитель

(основа) соответствующего референтного препарата, как правило, не доступен, необработанные контрольные участки представляют собой необработанные участки кожи, а не области кожи, на которые нанесен носитель (основа).

25. Хронометрическую оценку фармакодинамического ответа на кортикостероидный лекарственный препарат для местного применения проводят через определенные интервалы времени после каждого нанесения и удаления дозы лекарственного препарата, а не в одной временной точке.

26. К данным о зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» следует применять подход нелинейной модели со смешанными эффектами или метода простого объединения данных для оценки величины популяционной ED_{50} , которая будет служить приближенным значением длительности воздействия дозы для подтверждения биоэквивалентности в опорном исследовании.

27. В исследование включают 12 субъектов;

28. При наличии нескольких дозировок, пилотное и опорное исследования следует проводить с препаратом в максимальной дозировке. Биовейвер дополнительных дозировок исследований биоэквивалентности для более низких дозировок дерматологического кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения допускается применять при выполнении двух условий:

положительных результатов изучения биоэквивалентности у человека (*in vivo*) для большей дозировки лекарственного препарата;

представления данных о сопоставимости состава вспомогательных веществ более низких дозировок исследуемого препарата с

соответствующими дозировками референтного препарата как в отношении их качественного состава (параметр Q_1) так и в отношении количественного содержания каждого компонента состава (параметр Q_2).

При невыполнении требований сопоставимости состава вспомогательных веществ по параметрам Q_1 и Q_2 для более низких дозировок исследуемого препарата по отношению к соответствующим дозировкам референтного препарата применение биоэквивалента дополнительных дозировок возможно только при представлении заявителем обоснования отсутствия влияния разницы составов на эффективность и безопасность применения изучаемых лекарственных препаратов.

2. Критерии включения субъектов в исследование

29. При планировании и проведении исследования применяют следующие критерии включения субъектов в исследование:

субъект с верифицированным диагнозом «здоров»;

субъект у которого наблюдается выраженное сужение сосудов в ответ на применение кортикостероидного лекарственного препарата местного действия (субъект ответивший на лечение);

наличие подписанного информированного согласия;

готовность субъекта следовать условиям проведения исследования.

3. Критерии не включения субъектов в исследование и критерии исключения субъектов из исследования

30. При планировании и проведении исследования применяют следующие критерии невключения субъектов в исследование:

клинически значимая артериальная гипертензия или болезни системы кровообращения;

курение в течение одной недели до начала исследования;

потребление кофеина до начала или во время исследования больше, чем 500 мг в день (чашка кофе содержит около 85 мг кофеина);

клинически значимое употребление алкоголя (или содержащей этиловый спирт продукции) или наркотических веществ в анамнезе;

использование дерматологических лекарственных препаратов для местного применения, наносимых на переднюю поверхность предплечий (включая предшествующее нанесение кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения в ходе фармакодинамического исследования на определенный участок кожи) в течение 1 месяца до начала исследования;

нежелательные реакции на кортикостероидные лекарственные препараты местного или системного действия;

любое заболевание в анамнезе или в настоящее время, включая активный дерматит или любое другое дерматологическое состояние, которые могут существенно повлиять на фармакодинамический ответ на вводимый лекарственный препарат;

необходимость удаления с передних поверхностей предплечий субъекта волос, не позволяющих обеспечить нанесение соответствующей дозы лекарственного препарата на поверхность кожи;

применение субъектом любых вазоактивных лекарственных препаратов способных повлиять на кровоток (вазоконстрикторов или вазодилататоров), независимо от порядка отпуска этих лекарственных препаратов (по рецепту или без рецепта). Примерами таких лекарственных препаратов являются нитроглицерин, гипотензивные и антигистаминные лекарственные препараты, нестероидные противовоспалительные препараты (в том числе аспирин), сиропы от кашля или сиропы для симптоматического лечения ОРВИ, содержащие антигистаминные действующие вещества и (или) фенилпропаноламин, а также лекарственные препараты фентоламина;

любое очевидное различие в цвете кожи рук субъекта.

4. Ограничения, налагаемые на субъектов во время исследования

31. Во время исследования на субъектов налагаются следующие ограничения:

на протяжении исследования не допускается физическая нагрузка на руки, а также интенсивная физическая нагрузка на организм в целом;

не допускается принимать ванну или душ в период нанесения лекарственного препарата и в период выполнения оценки реакции кожи;

не допускается нанесение косметических продуктов в виде мягких форм (кремов, смягчающих средств или аналогичных продуктов) на предплечья в течение 24 часов до начала исследования и в течение всего периода исследования.

5. Проверка (скрининг) субъектов, ответивших на лечение

32. Включение в исследование субъектов, не ответивших на лечение снижает возможность обнаружения истинных различий между исследуемым и референтным лекарственными препаратами по результатам исследования. Поэтому в пилотное исследование «длительность воздействия дозы – ответ» и опорное исследование биоэквивалентности следует включать только субъектов, ответивших на лечение – субъектов, у которых наблюдается выраженное сужение сосудов в ответ на применение референтного препарата.

33. Количественная оценка побледнения кожи в пилотном и опорном исследованиях с помощью хромометра считается наиболее приемлемой. Однако, из-за дискретности бальной шкалы (0 – 3 или 0 – 4 баллов) для визуального считывания, определение статуса «ответчик» может быть основано на визуальной оценке. Предлагаемая длительность дозы – 4 часа (для препаратов III группы активности) или 6 часов, с оценкой побледнения кожи через 2 часа после удаления лекарственного препарата. Субъект, ответивший на лечение, демонстрирует при визуальной оценке изменение, по меньшей мере, в одну единицу.

34. Чтобы сохранить участки кожи на предплечье для использования в исследованиях «длительность воздействия дозы – ответ» или исследованиях биоэквивалентности, статус субъекта, ответившего на лечение, можно определять на основе исследований, проведенных на других участках.

35. В отчет об исследовании следует включить критерии для определения «ответчиков», включая длительность дозы, величину

ответа и испытуемый участок кожи. Статус субъекта, ответившего на лечение, также может быть подтвержден участием в предшествующем исследовании с анализом сужения сосудов.

6. Валидация прецизионности аналитической методики

36. Валидация прецизионности аналитической методики в пределах участка или между участками должна быть документирована для 4 – 6 субъектов, которые соответствуют критериям и ограничениям, изложенным в подразделах 2 – 4. Следует выбрать 4 необработанных контрольных участка на каждой передней поверхности предплечья. Четыре показания хромометра следует снять для каждого участка в течение 1 часа.

37. Валидационное исследование подтверждает приемлемую прецизионность с использованием хромометра для измерения степени побледнения кожи организацией, проводящей исследование биоэквивалентности. Исследование необходимо провести до введения лекарственного препарата.

38. Результаты необходимо включить в отчет о пилотном исследовании, если он представлен, а также в отчет об опорном исследовании биоэквивалентности *in vivo*.

7. Использование условий окклюзионного и неокклюзионного нанесения лекарственных препаратов

39. Информация о кортикостероидных препаратах для местного применения допускает использование окклюзионной повязки в терапии псориаза или трудно поддающихся лечению заболеваний. В

информации о лекарственном препарате (общей характеристике лекарственного препарата, инструкции по медицинскому применению) приводятся сведения о возможности или о недопустимости использования данных лекарственных препаратов с окклюзионными повязками. Если в информации о лекарственном препарате для референтного препарата указано на допустимость использования окклюзионной повязки, пилотное исследование «длительность воздействия дозы – ответ» и опорное исследование биоэквивалентности *in vivo* могут проводиться с использованием окклюзионной повязки. Однако, такие исследования не являются предпочтительными, поскольку анализ ранее проведенных пилотных исследований, позволяет предположить, что в таких условиях величина ED₅₀ (длительность воздействия дозы для использования в опорном исследовании) будет уменьшаться по мере увеличения активности кортикостероидных лекарственных препаратов для местного применения. Оценка зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» требует данных по длительности воздействия дозы, меньшей чем ED₅₀. Очень короткая длительность воздействия дозы трудна для выполнения в ходе исследования и способствует высокой вариабельности ответа. Таким образом, применение окклюзии целесообразно только для препаратов с более низкой активностью, например, для групп активности VI и VII. Если окклюзия используется для пилотного исследования, те же условия следует использовать в опорном исследовании.

8. Способы нанесения и удаления лекарственных препаратов

40. В пилотном и опорном исследованиях приемлем любой из 2 способов нанесения и удаления (см. п. 60):

а) первый способ. Разнесенное по времени нанесение и синхронное удаление, когда лекарственный препарат наносится на участки кожи в разное время, а удаляются в одно и то же время. После синхронного измерения исходного уровня сужения сосудов образцы препарата наносятся за 6; 4; 2; 1,5; 1; 0,75; 0,5; 0,25 часа до синхронного удаления всех нанесенных образцов препарата с кожи. Оценку побледнения кожи проводят через: 0 (в момент времени непосредственно после удаления препарата); 2, 4, 6, 19; 24 часа после удаления препарата;

б) второй способ. Синхронное нанесение и разнесенное по времени удаление, когда лекарственный препарат наносится на участки кожи в одно и то же время, а удаляются в разное. После синхронного измерения исходного уровня сужения сосудов образцы препарата одновременно наносятся и затем удаляются спустя 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6 часов после нанесения. Оценку побледнения кожи проводят через 6, 8, 11, 24 и 28 часов после нанесения препарата.

9. Стандартизация активности субъектов исследования, во время исследования

41. Субъекты должны начинать все стадии исследования приблизительно в одно и то же время каждый день (допустимы отклонения в пределах 1 часа).

Должна проводиться проверка соблюдения достаточного отмывочного периода относительно неразрешенных лекарственных препаратов.

42. Предплечье должно быть свободно от любых загрязнений или твердых частиц, которые способны препятствовать надлежащему нанесению лекарственного препарата или оценке фармакодинамического ответа. Проводить очищение кожи не рекомендуется из-за возможного влияния на захват действующего вещества и фармакодинамический ответ на лекарственный препарат. При необходимости очищение необходимо провести не менее чем за 2 часа до нанесения лекарственного препарата. В случае очищения его следует отразить в отчете об исследовании.

43. Вне зависимости от условий проведения – с окклюзией или без таковой – рекомендуется использовать защитное средство не создающее эффекта окклюзионной повязки для предотвращения размазывания или удаления лекарственного препарата для местного применения с участка кожи. Следует заботиться о недопущении контакта между защитным материалом и любым лекарственным препаратом с целью предотвращения непреднамеренной контаминации необработанных контрольных участков или других исследуемых участков.

44. Участки кожи должны располагаться не ближе, чем 3 – 4 см до локтевой ямки или до запястья.

45. Нанесение референтного лекарственного препарата осуществляют на участки кожи с одинаковой площади поверхности передних (внутренних) областей предплечий. Предлагаемая длительность воздействия дозы для пилотного исследования составляет

0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4 и 6 часов, но может варьировать в зависимости от испытуемого кортикостероидного лекарственного препарата. 8 доз лекарственного препарата (или есть 8 участков кожи с нанесенным лекарственным препаратом (активные участки кожи)), должны быть в равной степени поделены между двумя руками субъекта исследований.

46. Количество лекарственного препарата, размер участка кожи, а также расстояние между участками должны определяться исследовательским центром. В исследованиях используются дозы состава 2–10 мг/см² поверхности кожи и участки диаметром 1 см, если специально не обосновано иное. Участки должны располагаться на расстоянии 2,5 см между центрами в ряд или в шахматном порядке, в зависимости от пригодности поверхности кожи (например, васкуляризации, родинок и т.д.) и длины руки. Субъекта следует исключить из анализа данных, если сосудосуживающие ответы двух соседних участков перекрываются, и исследователь не может различить сосудосуживающий ответ на каждом исследуемом участке.

47. Включение двух необработанных контрольных участков кожи на каждой руке для исследований на основе измерений хрометра.

48. Участки на которые наносят 8 доз с различной продолжительностью воздействия (см. п. 42), и 4 контрольных необработанных участка случайным образом распределяют среди выбранных у субъекта 12 участков, при этом на каждой руке субъекта должны присутствовать 6 участков: 2 необработанных контрольных участка и 4 участка с нанесением лекарственного препарата.

49. В исследованиях с визуальной оценкой не требуется выделение контрольных необработанных участков, поскольку оценивание

предполагает визуальное сравнение обработанного участка и окружающей кожи. Участки нанесения каждому субъекту 8 доз лекарственного препарата с различной продолжительностью воздействия случайным образом распределяют между двумя руками, при этом на каждой руке у субъекта присутствует 4 участка с нанесением лекарственного препарата.

50. Перед измерением фармакодинамического ответа в конце периода наблюдения оставшийся после нанесения кортикостероидный лекарственный препарат для местного применения следует аккуратно удалить с поверхности кожи с помощью любого из следующих способов:

а) 3 последовательных протирания кожи сухим ватным тампоном для удаления остатков лекарственного препарата. Данный способ пригоден при нанесении лекарственного препарата в разное время с последующим синхронным удалением, а также при одновременном нанесении лекарственного препарата на все участки с последующим удалением через разные периоды времени;

б) промывание всех обработанных участков кожи мягким моющим средством и водой, высушивание участков неабразивным бумажным полотенцем и последующее высушивание на открытом воздухе в течение, по меньшей мере, пяти минут перед измерением фармакодинамического ответа. Если спустя пять минут после промывания обработанных участков кожи у субъекта обнаруживаются видимые кожные эффекты, обусловленные самой процедурой промывания, необходим более длительный период ожидания. Очистку поверхности рук проводят с применением минимального количества

мягкого моющего средства, например, увлажненные руки обрабатывают одной каплей жидкого моющего средства, затем смывают.

51. Оценка исходного цвета кожи и побледнения кожи на каждом участке. При нанесении лекарственного препарата в разное время с последующим синхронным удалением для всех длительностей воздействия дозы и необработанных контрольных участков исходная оценка проводится в течение 1 часа перед нанесением лекарственного препарата с наибольшей длительностью воздействия дозы и спустя 0, 2, 4, 6, 19 и 24 часа после удаления лекарственного препарата (см. п. 37). Точка «0» соответствует моменту удаления лекарственного препарата.

При одновременном нанесении лекарственного препарата на все участки с последующим удалением через разные периоды времени для всех длительностей воздействия доз и необработанных контрольных участков, исходная оценка проводится в течение 1 часа перед нанесением лекарственного препарата на активные участки спустя 6, 8, 11, 24 и 28 часов после нанесения лекарственного препарата (см. Дополнение 2). Точка «0» соответствует моменту нанесения лекарственного препарата.

Оптимальное время оценки для любого метода нанесения и удаления может потребовать корректировки представленных режимов для конкретного лекарственного препарата и исследуемого участка. Для любого метода необходимо запланировать по меньшей мере одно выполнение оценки результата между 17 и 24 часами.

10. Анализ данных и фармакодинамическое моделирование

52. Если данные получены с использованием хромометра, то для каждой измеренной зависимости «побледнение кожи – время» (для участков с нанесенным лекарственным препаратом и контрольных участков без нанесения) требуется выполнить коррекцию первичных показаний хромометра на исходный уровень кожной реакции на этом участке. Каждый участок нанесения лекарственного препарата после поправки относительно исходного уровня кожной реакции следует скорректировать по среднему значению кожной реакции на 2 контрольных участках на той же руке с поправкой относительно исходного уровня кожной реакции (таблицы 1 – 3 дополнения № 4).

Методом трапеций необходимо рассчитать следующие виды площадей под кривой ответа (AUEC) для каждого значения откорректированного по исходному уровню длительности воздействия дозы контрольных участков (Таблицы 1, 4 дополнения 4):

$AUEC_{0-24}$ при нанесении лекарственного препарата в разное время с последующим синхронным удалением (см. п. 37);

$AUEC_{6-28}$ при одновременном нанесении лекарственного препарата на все участки с последующим удалением через разные периоды времени (см. 37). В общем случае, вычисляется AUEC от наибольшей длительности дозы до 28 часов после нанесения лекарственного препарата.

53. Моделирование данных «длительность воздействия дозы – время» посредством усреднения по субъектам на каждой временной точке длительности воздействия дозы не приемлема. Предпочтительнее

моделировать эти данные, используя одновременно все наблюдения каждого субъекта по отдельности.

Программное обеспечение для моделирования должно рассчитывать ED_{50} и E_{max} для обобщенных данных 12 субъектов.

Допустимыми являются следующие методы моделирования:

моделирование в рамках нелинейной модели со смешанными эффектами (популяционная модель) с использованием соответствующего программного обеспечения (рис. 1 дополнение 1). Нелинейная модель со смешанными эффектами учитывает внутри- и межиндивидуальную вариабельность;

моделирование на основе нелинейной регрессии методом наименьших квадратов с обобщением отдельных наблюдений всех субъектов (метод простого объединения данных).

54. По результатам оценки данных моделирования определяют для использования в опорном исследовании:

ED_{50} – длительность дозы, соответствующая половине максимального ответа;

D_1 – показатель, соответствующий приблизительно половине ED_{50} ;

D_2 – показатель соответствующий приблизительно удвоенному значению ED_{50} .

Наблюдаемое значение ED_{50} может быть округлено до 15 мин для получения значения ED_{50} , используемого в опорном исследовании. Является приемлемой подтверждение зависимости «длительность воздействия дозы – ответ», основанная на D_1 , составляющей 0,25 – 0,5 от наблюдаемой ED_{50} и D_2 , составляющей 2 – 4 от наблюдаемой ED_{50} . Для активных кортикостероидных лекарственных препаратов с

небольшими значениями ED_{50} необходимо корректировка этих рекомендаций. Эти выборочные значения ED_{50} , соответствуют приблизительно 33 % и 67 %, соответственно, от максимального ответа и представляют собой чувствительную часть кривой «длительность воздействия дозы – ответ».

55. Если данные получены визуальным методом (см. подраздел 2 раздела IV) следует провести расчет:

площади под кривой эффекта (AUEC) для каждого профиля «сужение сосудов – время»;

зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» как описано в п. 6б;

определить показатели ED_{50} , D_1 и D_2 .

56. Согласно пункту 26 Правил регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденных Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78 спонсор клинического исследования вправе подать предполагаемый протокол опорного исследования, данные и резюме результатов пилотного исследования в уполномоченные органы или экспертные организации государств-членов для их оценки в рамках научной и предрегистрационной консультации в соответствии с законодательством государств-членов при наличии вопросов, касающихся:

валидации аналитической методики;

профиля «длительность воздействия дозы – ответ»;

иных аспектов пилотного исследования «длительность воздействия дозы – ответ» до проведения опорного исследования биоэквивалентности *in vivo*;

обоснованности выбора значений ED_{50} , D_1 и D_2 .

При подаче результатов пилотного исследования спонсор вправе включить все данные исследования с обоснованием всех сведений, не включенных в фармакодинамический анализ. Спонсор вправе принять решение, что имеется достаточная информация о зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» исследуемого кортикостероидного лекарственного препарата для местного применения для проведения опорного исследования без пилотного исследования. Данное решение должно основываться на известных значениях ED_{50} , D_1 и D_2 соответствующего референтного лекарственного препарата, полученных в условиях клинических исследований этого референтного лекарственного препарата в рамках его опорного исследования. Согласно пункту 26 Правил регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, в целях одобрения данного решения спонсор вправе обратиться в уполномоченные органы или экспертные организации государств-членов за научной и предрегистрационной консультацией в соответствии с законодательством государств-членов.

57. Формат представления компьютерных данных.

Первичные хроматические данные, скорректированные относительно исходного уровня данные, скорректированные относительно исходного уровня данные необработанных контрольных

участков и данные расчета AUEC должны быть приложены к отчету об исследовании в виде отдельных файлов.

VI. Опорное исследование биоэквивалентности *in vivo*

58. Целью опорного исследования является подтверждение в условиях *in vivo* биоэквивалентности исследуемого лекарственного препарата соответствующему референтному лекарственному препарату. В настоящем Приложении определено минимальное соотношение «продолжительность воздействия дозы – ответ», которое является условием включения субъектов исследования в анализ данных. Поэтому, в целом, опорное исследование может начинаться без научного консультирования с регуляторным органом.

1. Дизайн исследования

59. Фармакодинамическое исследование биоэквивалентности с воспроизведением длительностей однократных доз исследуемого и референтного препаратов, основанное на популяционном значении ED_{50} , установленном в пилотном исследовании.

60. Индивидуальные зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» на основе приемлемого отношения D_2/D_1 для значений AUEC референтного лекарственного препарата. Минимальное значение отношения должно составлять 1,25. Соответствие данному критерию определяется дублирующим нанесением референтного лекарственного препарата в дозе D_1 , соответствующей приблизительно половине популяционной ED_{50} , и D_2 , соответствующей приблизительно удвоенной популяционной ED_{50} .

61. От 40 до 60 оцениваемых субъектов, т.е. субъектов, удовлетворяющих критериям «ответчик» и «детектор», указанным в п. 27 и п. 66.

3. Критерии включения

62. В исследовании применяют критерии включения описанные в подразделе 2 раздела V настоящих Требований.

4. Критерии исключения

63. В исследовании применяют критерии исключения, описанные в подразделе 3 раздела V настоящих Требований.

5. Ограничения исследования

64. Исследование имеет ограничения, описанные в подразделе 4 раздела V настоящих Требований.

6. Испытание участников на отклик (скрининг субъектов, ответивших на лечение)

65. Исследование участников на отклик (скрининг субъектов, ответивших на лечение) описано в подразделе 5 раздела V настоящих Требований.

7. Валидация прецизионности аналитической метода

66. Валидация прецизионности аналитической методики описана в подразделе 6 раздела V настоящих Требований.

8. Действия, совершаемые в течение дня исследования

67. Стандартизация активности субъектов исследования, во время исследования выполняется в соответствии с требованиями подраздела 9 раздела V настоящих Требований.

68. Требуется случайным образом распределять нанесение исследуемых длительностей воздействия доз на участки кожи на переднюю поверхность предплечий каждого субъекта согласно рекомендациям ниже. Участки нанесения могут быть с окклюзией или без таковой, согласно сведениям, приведенным в п. 37, и результатам пилотного исследования. В исследование на основе хронометрических оценок на каждой руке также следует оставлять необработанные контрольные участки кожи.

Длительности воздействия дозы и контрольные участки на каждой руке должны охватывать:

исследуемый препарат с длительностью воздействия дозы, приблизительно соответствующей ED_{50} , определенной для референтного лекарственного препарата в пилотном исследовании (2 участка на каждой руке);

референтный препарат с длительностью воздействия дозы, приблизительно соответствующей ED_{50} , как и для исследуемого препарата (2 участка на каждой руке);

D_1 : меньшая длительность воздействия дозы референтного лекарственного препарата (один участок на руку);

D_2 : бóльшая длительность дозы референтного лекарственного препарата (1 участок на руку);

контрольные участки без нанесения (два участка на каждую руку).

Общее число исследуемых участков составляет 16 (по 8 участков на каждой руке). 8 нанесений следует рандомизировать, как указано выше. Схемы нанесения на каждой руке должны быть комплементарны, т.е. D_2 является комплементарным D_1 , участки нанесения референтного лекарственного препарата комплементарны участкам нанесения исследуемого лекарственного препарата, а также комплементарны контрольные участки. Например, нанесение референтного лекарственного препарата на определенный участок кожи на одной руке предполагает нанесение референтного лекарственного препарата на соответствующий участок кожи на другой руке. При определении участка кожи на одной руке как контрольного, соответствующий участок на второй руке также становится контрольным.

Репрезентативная последовательность нанесения для конкретного субъекта может быть следующей:

Локтевая ямка	
Левая рука	Правая рука
D_1	D_2
ИП	РП
К	К
РП	ИП
К	К
ИП	РП
D_2	D_1
РП	ИП
Запястье	
ИП – исследуемый лекарственный препарат; РП – референтный лекарственный препарат;	

К – контрольный участок;
D₁ – длительность дозы, равная примерно 0,5×ED₅₀;
D₂ – длительность дозы, равная примерно 2×ED₅₀.

Обязанностью спонсора является описание точной схемы участков нанесения лекарственных препаратов на коже, то есть медиальное (ульнарное) и латеральное (радиальное) расположение участков по отношению к оси тела, а также расположение участков выше и ниже по отношению друг к другу.

69. Для нанесения длительностей дозы ED₅₀, D₁ и D₂ следует использовать метод разнесенного по времени нанесения лекарственного препарата и синхронного его удаления или метод синхронного нанесения лекарственного препарата и разнесенного по времени его удаления в соответствии с методологией, использованной в пилотном исследовании.

70. Примеры временных интервалов для оценки исходного цвета кожи и побледнения кожи на каждом участке:

Для разнесенного по времени нанесения и синхронного удаления: для всех длительностей воздействия дозы и необработанных контрольных участков исходная оценка проводится в течение 1 часа перед нанесением лекарственного препарата с наибольшей длительностью воздействия дозы и спустя 0, 2, 4, 6, 19 и 24 часа после удаления лекарственного препарата. Фактическое время будет зависеть от времени дозирования и исследуемого кортикостероидного лекарственного препарата для местного нанесения. Точка «0» соответствует моменту удаления лекарственного препарата.

Для синхронного нанесения и разнесенного по времени удаления: для всех длительностей воздействия дозы и необработанных контрольных участков исходная оценка проводится в течение 1 часа перед нанесением лекарственного препарата на активные участки; побледнение кожи оценивается после нанесения лекарственного препарата в точке D_2 и спустя 6, 8, 11, 24 и 28 часов. Фактическое время будет зависеть от времени дозирования и исследуемого кортикостероидного препарата для местного нанесения. Точка «0» соответствует моменту нанесения лекарственного препарата.

Например, если D_2 для конкретного лекарственного препарата составляет 4 часа, первая после исходной оценка побледнения кожи на всех участках, с нанесением лекарственного препарата и контрольных, должна состояться в 4 часа. Для любого метода необходимо запланировать в период с 17 до 24 часов, по меньшей мере, первое считывание после исходного.

9. Анализ данных и статистический анализ

Анализ данных

71. Необходима поправка первичных показаний хромометра для каждого профиля «побледнение кожи – время» (для участков с нанесенным лекарственным препаратом и контрольных участков без нанесения) на исходное значение на данном участке. Следует скорректировать каждый участок нанесения лекарственного препарата после поправки относительно исходного уровня по среднему значению

из двух контрольных участков на той же руке с поправкой относительно исходного уровня.

Следует рассчитать AUEC для каждой скорректированной по исходному уровню длительности дозы контрольных участков:

$AUEC_{(0-24)}$ для нанесения препарата в разное время с последующим синхронным удалением;

$AUEC_{(D_2-28)}$ (от времени D_2 до 28 часов) для синхронного нанесения препарата с последующим удалением в разное время;

В анализ данных должны быть включены только данные «детекторов», т.е. индивидуальные показатели субъектов, чьи AUEC значения D_1 и D_2 являются отрицательными и которые отвечают критерию «длительность дозы – ответ», указанному ниже.

Критерий «продолжительность воздействия дозы – отклик»:

$$\frac{AUEC \text{ в момент } D_2}{AUEC \text{ в момент } D_1} \geq 1,25,$$

где:

$AUEC \text{ в момент } D_2 = 0,5 \times (AUEC \text{ в момент } D_2 \text{ (левая рука)} + AUEC \text{ в момент } D_2 \text{ (правая рука)})$;

$AUEC \text{ в момент } D_1 = 0,5 \times (AUEC \text{ в момент } D_1 \text{ (левая рука)} + AUEC \text{ в момент } D_1 \text{ (правая рука)})$.

72. В анализ данных следует включать только субъектов с полным набором данных, то есть двукратными значениями D_1 и D_2 и четырехкратными оценками для исследуемого и референтного препаратов и контрольных участков.

73. Сравнение биоэквивалентности должно быть основано на значениях AUEC, рассчитанных в соответствии с п. 63 при

длительности воздействия дозы, приблизительно равной ED_{50} (для исследуемого и референтного лекарственного препарата в соответствии с указаниями п. 61).

74. Необходимо представить все данные исследования, включая данные «недетекторов». Любые данные, которые не используются в оценке биоэквивалентности, необходимо сопровождать пояснениями (например, у «недетектора» сосудосуживающий эффект перекрывался соседним участком, и др.).

Статистический анализ

75. Статистический анализ требует использования непреобразованных данных, поскольку значения AUEC для исследуемого и референтного лекарственных препаратов, рассчитанные с поправкой относительно исходного уровня и относительно необработанного контрольного участка данным, как правило, являются отрицательными, но иногда могут быть и положительными. Наличие как положительных, так и отрицательных значений избавляет от использования стандартных статистических преобразований. Не применимы ранее использовавшиеся приближенные методы, например, расчет доверительного интервала для разности средних значений исследуемого и референтного препаратов и вычисление отношения границ данного доверительного интервала и оценки среднего значения референтного препарата. Метод Локка позволяет вычислить точный доверительный интервал для непреобразованных данных.

76. С использованием метода Локка необходимо рассчитать 90 % доверительный интервал для отношения среднего значения AUEC

испытуемого препарата (среднее значение 4 повторностей) к среднему значению АУЕС референтного препарата (среднее значение 4 повторностей). Формулы для расчета приведены в дополнении 3.

77. В настоящее время не установлены границы признания биоэквивалентности. Во время оценки представленных данных может потребоваться использование границ признания биоэквивалентности более широких, чем 80–125%, являющихся стандартными.

При интервале эквивалентности шире, чем 80,00 – 125,00 %, установленном как общепризнанный стандарт, может возникнуть необходимость в дополнительной оценке данных.

78. В отчете об исследовании должен быть представлен код рандомизации, указывающий конкретные участки кожи для применения каждой длительности дозы и контрольные участки.

Формат представления компьютерных данных

79. Первичные хроаметрические данные, скорректированные относительно исходного уровня данные, скорректированные относительно исходного уровня и необработанных контрольных участков данные и данные АУЕС должны быть размещены в виде отдельных файлов.

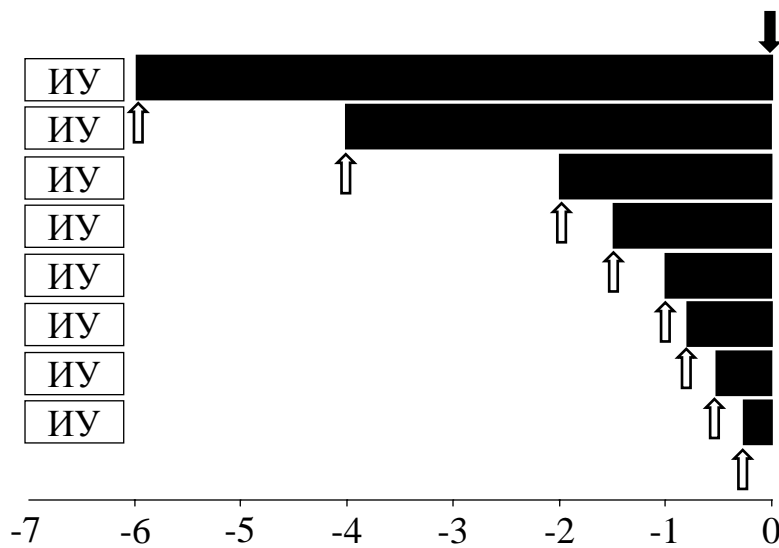
ДОПОЛНЕНИЕ 1

к приложению № 9
к Правилам проведения
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов
в рамках Евразийского
экономического союза

СХЕМА предлагаемого протокола пилотного исследования с разнесенным по времени нанесением и синхронным удалением лекарственного препарата

Рис. 1

График оценки исходного цвета кожи, нанесения и удаления
лекарственного препарата.



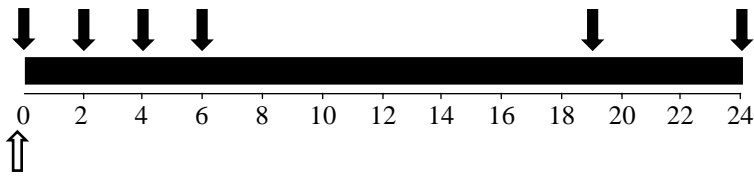
Время до удаления лекарственного препарата, ч.

Обозначения: ИУ – исходный уровень сужения сосудов кожи;

↑ – нанесение лекарственного препарата;

↓ – удаление лекарственного препарата;

График оценки побледнения кожи



Время после удаления лекарственного препарата, ч

↑ – время удаления лекарственного препарата;

↓ – время оценки результатов.

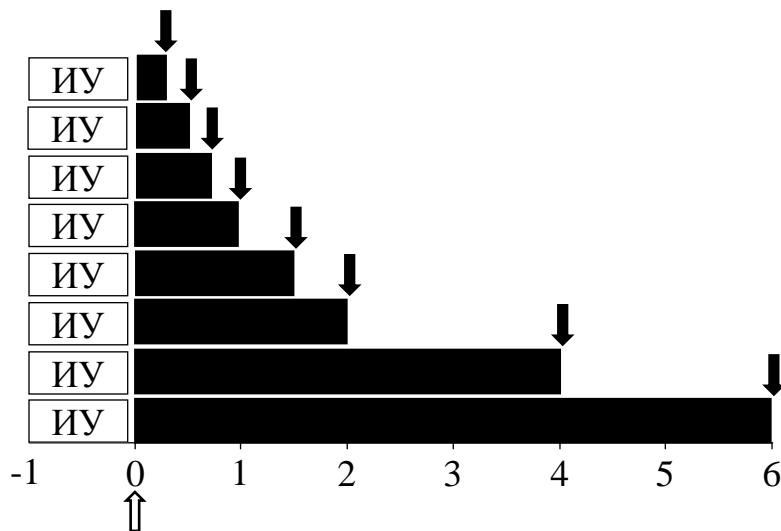
ДОПОЛНЕНИЕ 2

к приложению № 9
к Правилам проведения
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов
в рамках Евразийского
экономического союза

СХЕМА предлагаемого протокола предварительного исследования с синхронным нанесением и разнесенным по времени удалением лекарственного препарата

Рис. 3

График оценки исходного цвета кожи, нанесения и удаления
лекарственного препарата



Время после нанесения лекарственного препарата, ч

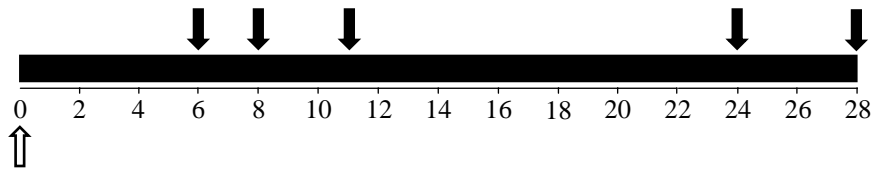
Обозначения: ИУ – исходный уровень степени сужения сосудов кожи;

↑ – нанесение лекарственного препарата;

↓ — удаление лекарственного препарата.

Рис. 4

График оценки побледнения кожи



Время после нанесения лекарственного препарата, ч

Обозначения:

↑ — время нанесения лекарственного препарата;

↓ — время оценки результатов.

ДОПОЛНЕНИЕ 3

к приложению № 9
к Правилам проведения
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов
в рамках Евразийского
экономического союза

ПРИМЕР

табличного и графического представления результатов пилотного исследования

1. Исследования при нанесении лекарственного препарата в разное время с последующим синхронным удалением и при одновременном нанесении лекарственного препарата на все участки с последующим удалением через разные периоды времени одинаково приемлемы.

2. В таблице 1 представлены хроматометрические данные для 1 субъекта за 24 часа. Данные с поправкой на исходный уровень представлены в таблице 2, данные, скорректированные по контрольным участкам без нанесения лекарственного препарата после поправки на исходный уровень, представлены в таблице 3. В данном примере каждый участок нанесения лекарственного препарата корректировался согласно соответствующему контрольному участку без нанесения.

3. В настоящем примере приведены результаты исследования с использованием только двух контрольных участков без нанесения лекарственного препарата на каждой руке. Коррекции значений цвета кожи на остальных участках руки проводилась путем вычитания среднего значения этих двух контрольных участков из каждого

значения участка с нанесением лекарственного препарата на той же руке.

В таблице 4 представлены значения $AUEC_{0-24}$. Моделирование E_{max} по обобщенным данным представлено на рис. 5.

Таблица 1

Значения показаний хромометра для субъекта

Субъект	Продолжительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	0,25	не обр.*	9,86	9,99	10,10	9,52	10,03	10,40	9,65
1	0,25	обр.*	10,36	9,89	10,38	10,32	10,51	10,86	10,04
1	0,5	не обр.*	9,27	8,20	9,78	8,54	9,61	9,87	9,59
1	0,5	обр.*	9,59	8,77	9,35	9,27	8,78	10,87	9,59
1	0,75	не обр.*	8,45	8,75	8,24	8,16	8,92	8,43	8,22
1	0,75	обр.*	8,46	8,66	8,53	8,04	8,26	8,72	8,56
1	1	не обр.*	9,00	9,63	8,45	8,03	8,94	9,33	9,66
1	1	обр.*	8,52	8,80	8,87	8,53	8,05	8,66	8,21
1	1,5	не обр.*	9,44	9,39	9,46	9,27	9,92	9,59	9,01
1	1,5	обр.*	9,59	9,60	9,99	9,93	9,18	10,23	9,24
1	2	не обр.*	10,12	10,13	9,50	9,93	9,39	10,95	10,84
1	2	обр.*	10,28	10,25	10,68	10,15	10,31	11,46	8,92
1	4	не обр.*	8,89	8,01	8,78	8,89	9,76	8,48	9,18
1	4	обр.*	8,21	8,28	8,36	7,98	7,96	8,15	8,30

Субъект	Продолжительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	6	не обр.*	9,18	9,46	8,79	8,03	9,29	10,11	9,52
1	6	обр.*	9,37	9,61	9,30	8,92	9,20	10,16	9,63

* Не обр. – участок кожи, не обработанный лекарственным препаратом, обр. – участок кожи, обработанный лекарственным препаратом.

Таблица 2

Значения показаний хромометра для субъекта с поправкой на исходный уровень

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	0,25	не обр.*	-	0,13	0,24	-0,34	0,17	0,54	-0,21
1	0,25	обр.*	-	-0,47	0,02	-0,04	0,15	0,50	-0,32
1	0,5	не обр.*	-	-1,07	0,51	-0,73	0,34	0,60	0,32
1	0,5	обр.*	-	-0,82	-0,24	-0,32	-0,81	0,81	0,23
1	0,75	не обр.*	-	0,30	-0,21	-0,29	0,47	-0,02	-0,23
1	0,75	обр.*	-	0,20	0,07	-0,42	-0,20	0,26	0,10
1	1	не обр.*	-	0,63	-0,55	-0,97	-0,06	0,33	0,66
1	1	обр.*	-	0,28	0,35	0,01	-0,47	0,14	-0,31
1	1,5	не обр.*	-	-0,05	0,02	-0,17	0,48	0,15	-0,43
1	1,5	обр.*	-	0,01	0,40	0,34	-0,41	0,64	-0,35

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	2	не обр.*	-	0,01	-0,62	-0,19	-0,73	0,83	0,72
1	2	обр.*	-	-0,03	0,40	-0,13	0,03	1,18	-1,36
1	4	не обр.*	-	-0,88	-0,11	0,00	0,87	-0,41	0,29
1	4	обр.*	-	0,07	0,15	-0,23	-0,25	-0,06	0,09
1	6	не обр.*	-	0,28	-0,39	-1,15	0,11	0,93	0,33
1	6	обр.*	-	0,24	-0,07	-0,45	-0,17	0,79	0,26

* Не обр. – участок кожи, не обработанный лекарственным препаратом, обр. – участок кожи, обработанный лекарственным препаратом.

Таблица 3

Значения показаний хромометра для субъекта с поправкой на исходный уровень и скорректированные по контрольным участкам без нанесения лекарственного препарата

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	0,25	не обр.*	-	0,13	0,24	-0,34	0,17	0,54	-0,21
1	0,25	обр.*	-	-0,47	0,02	-0,04	0,15	0,50	-0,32
1	0,5	не обр.*	-	-1,07	0,51	-0,73	0,34	0,60	0,32
1	0,5	обр.*	-	-0,82	-0,24	-0,32	-0,81	0,81	0,23
1	0,75	не обр.*	-	0,30	-0,21	-0,29	0,47	-0,02	-0,23
1	0,75	обр.*	-	0,20	0,07	-0,42	-0,20	0,26	0,10
1	1	не обр.*	-	0,63	-0,55	-0,97	-0,06	0,33	0,66

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
				0	2	4	6	19	24
1	1	обр.*	-	0,28	0,35	0,01	-0,47	0,14	-0,31
1	1,5	не обр.*	-	-0,05	0,02	-0,17	0,48	0,15	-0,43
1	1,5	обр.*	-	0,01	0,40	0,34	-0,41	0,64	-0,35
1	2	не обр.*	-	0,01	-0,62	-0,19	-0,73	0,83	0,72
1	2	обр.*	-	-0,03	0,40	-0,13	0,03	1,18	-1,36
1	4	не обр.*	-	-0,88	-0,11	0,00	0,87	-0,41	0,29
1	4	обр.*	-	0,07	0,15	-0,23	-0,25	-0,06	0,09
1	6	не обр.*	-	0,28	-0,39	-1,15	0,11	0,93	0,33
1	6	обр.*	-	0,24	-0,07	-0,45	-0,17	0,79	0,26

* Не обр. – участок кожи, не обработанный лекарственным препаратом, обр. – участок кожи, обработанный лекарственным препаратом.

Таблица 3

Значения показаний хромометра для субъекта с поправкой на исходный уровень и скорректированные по контрольным участкам без нанесения лекарственного препарата и данные $AUEC_{(0-24)}$

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата						** $AUEC_{(0-24)}$
				0	2	4	6	19	24	
1	0,25	обр.*	-	-0,60	-0,22	-0,30	-0,02	-0,04	-0,11	-1,23
1	0,5	обр.*	-	0,25	-0,75	0,41	-1,15	0,21	-0,09	-7,39
1	0,75	обр.*	-	-0,10	0,28	-0,13	-0,67	0,28	0,33	-1,48

Субъект	Длительность воздействия дозы, ч	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата						AUEC ₍₀₋₂₄₎ ^{**}
				0	2	4	6	19	24	
1	1	обр.*	-	-0,35	0,90	0,98	-0,41	-0,19	-0,97	-3,80
1	1,5	обр.*	-	0,06	0,38	0,51	-0,89	0,49	0,08	-0,23
1	2	обр.*	-	-0,04	1,02	0,06	0,76	0,35	-2,08	5,77
1	4	обр.*	-	0,95	0,26	-0,23	-1,12	0,35	-0,20	-4,74
1	6	обр.*	-	-0,04	0,32	0,70	-0,28	-0,14	-0,07	-1,53

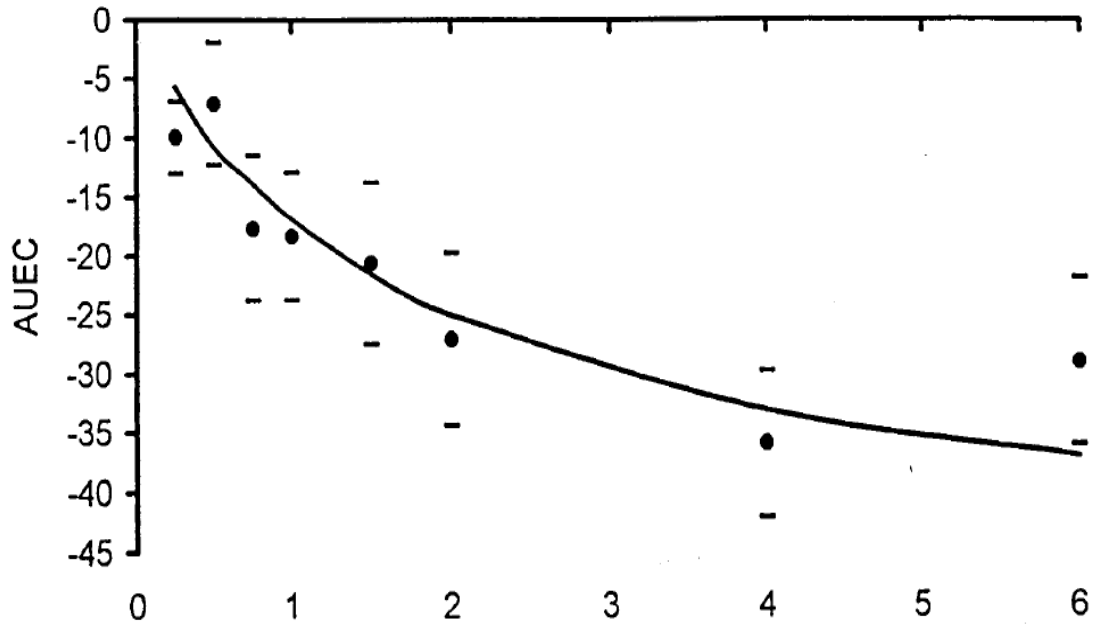
* Не обр. – участок кожи, не обработанный лекарственным препаратом, обр. – участок кожи, обработанный лекарственным препаратом.

** значения AUEC(0-24) рассчитаны на основе данных, скорректированных относительно исходного уровня сосудистой реакции и изменения цвета контрольных участков кожи в соответствующие моменты времени.

Значения $AUEC_{(0-24)}$ для всех 12 субъектов
при каждой длительности воздействия дозы

Длительность воздействия дозы, ч.	Номер субъекта											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,25	-1,23	-0,02	-13,87	-27,7	-10,65	-10,41	4,20	-11,95	-12,36	1,15	-30,03	-7,25
0,5	-7,39	-6,13	-15,03	-3,71	7,72	-5,94	-12,31	7,45	12,95	-39,45	-39,56	14,73
0,75	-1,48	-8,92	-18,39	-43,82	-23,42	-2,29	1,34	5,95	1,88	-40,68	-61,06	-21,09
1	-3,80	-24,56	-16,25	-44,39	-20,37	-8,92	-18,84	8,78	-43,35	-16,19	-43,58	10,81
1,5	-0,23	-19,21	-15,44	-77,04	-19,95	-20,64	-42,70	1,26	-20,97	6,87	-40,73	0,51
2	5,77	-1,80	-23,74	-66,80	-32,00	-19,52	-37,29	-48,83	-39,79	10,75	-62,01	-10,51
4	-4,74	-43,07	-24,80	-62,96	-32,81	-8,52	-45,46	-71,77	-57,55	-37,64	-27,82	-14,89
6	-1,53	-41,56	-21,79	-71,60	-61,51	-19,01	-37,24	-8,14	-34,18	-35,01	-33,60	16,14

Наблюдаемые средние $AUEC_{(0-24)}$ (черные круги) и стандартная ошибка среднего (верхние и нижние пределы), а также моделирование E_{max} (непрерывная линия) в соответствии с обобщенными данными «длительность воздействия дозы – ответ» от 12 субъектов в пилотном исследовании



Длительность воздействия дозы, ч.

В представленном в настоящем дополнении примере:

данные, скорректированы относительно исходного уровня и контрольных участков, поэтому значение $AUEC$ принято равным 0 при нулевой длительности воздействия дозы

моделирование E_{max} производилась с использованием программного обеспечения для популяционного фармакокинетическо-динамического моделирования данных. Смоделированные популяционные значения составили: $ED_{50} = 1,89$ часа $E_{max} = -48,80$

условных единиц шкалы прибора в зависимости от времени длительности воздействия.

основываясь на данных пилотного исследования длительности воздействия дозы, определенные как аппроксимированная ED_{50} для сравнения исследуемого и референтного лекарственных препаратов, а также значения D_1 и D_2 для опорного исследовании биоэквивалентности *in vivo* составили: аппроксимированная $ED_{50} = 2,0$ часа, $D_1 = 1,0$ часа и $D_2 = 4,0$ часа.

ДОПОЛНЕНИЕ 4

к приложению № 9
к Правилам проведения
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов
в рамках Евразийского
экономического союза

ПРИМЕР табличного и графического представления, а также анализа данных опорного исследования

В настоящем примере представлены хронометрические данные и значения $AUEC_{(0-24)}$ полученные в опорном исследовании биоэквивалентности *in vivo*, проведенном на основании результатов пилотного исследования, данные которого приведены в дополнении 3. В опорном исследовании сравнение было основано на анализе зависимости «длительность воздействия дозы – ответ» в соответствии со схемой проведения исследования приведенной на рисунке 1 дополнения 1. В таблице 1 представлены исходные данные для 1 субъекта за 24 часа. В таблице 2 представлены данные с поправкой на исходный уровень. В таблице 3 представлены данные, скорректированные относительно контрольных участков без нанесения после поправки на исходный уровень. В настоящем примере каждый участок нанесения лекарственного препарата корректировался согласно соответствующему контрольному участку без нанесения лекарственного препарата. В настоящем дополнении даны

рекомендации по использованию только 2 контрольных участков без нанесения на каждой руке и вычитанию среднего этих значений из каждого значения участка с нанесением той же руки. В таблице 4 представлены значения, скорректированные относительно контрольных участков после поправки на исходный уровень для исследуемого и референтного лекарственных препаратов для всех субъектов. В таблице 5 представлены данные. $AUEC_{(0-24)}$ для правой и левой руки и средние значения двух рук для D_1 и D_2 для всех субъектов. В таблице 5 определены «детекторы», то есть поддающиеся оценке субъекты, соответствующие критерию «длительность воздействия дозы – ответ». В таблице 6 представлены данные $AUEC_{(0-24)}$ для правой и левой руки и средние значения двух рук для исследуемого и референтного лекарственных препаратов для всех субъектов для длительности дозы 2,0 часа, выделены средние значения $AUEC_{(0-24)}$ двух рук для «детекторов». В оценку биоэквивалентности включены только данные «детекторов», как описано в дополнении 5.

Таблица 1

Исходные хроаметрические данные для субъекта

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
						0	2	4	6	19	24
1	А	П	1	не обр.	7,34	7,23	8,09	7,64	7,82	7,68	8,71
1	А	П	1	обр.	7,11	7,86	7,59	5,92	6,23	6,32	7,30
1	Б	П	2	не обр.	6,18	7,38	7,26	6,85	7,35	7,14	7,87
1	Б	П	2	обр.	6,79	6,29	6,12	4,45	5,88	6,01	7,26
1	В	П	3	не обр.	6,28	7,32	7,80	6,77	7,75	6,59	7,55

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
						0	2	4	6	19	24
1	В	П*	3	обр.	7,78	9,26	9,30	7,42	8,24	7,40	8,59
1	Г	П*	4	не обр.*	9,31	10,19	10,61	9,56	10,88	9,52	10,13
1	Г	П*	4	обр.*	7,38	8,22	6,94	5,07	6,98	7,24	7,91
1	В	Л*	1	не обр.*	7,62	7,98	7,56	7,48	7,24	6,73	7,49
1	В	Л*	1	обр.*	6,97	5,42	5,39	4,39	4,79	5,76	6,45
1	Б	Л*	2	не обр.*	7,12	6,32	6,76	6,25	6,74	6,80	7,58
1	Б	Л*	2	обр.*	7,46	4,48	4,38	4,11	4,39	6,27	7,25
1	А	Л*	3	не обр.*	7,69	7,03	7,73	7,21	7,87	7,89	8,38
1	А	Л*	3	обр.*	8,99	8,75	8,07	6,74	6,53	7,14	8,25
1	Г	Л*	4	не обр.*	8,99	8,28	8,95	8,50	9,10	9,05	9,93
1	Г	Л*	4	обр.*	8,80	8,04	6,71	5,51	5,14	7,05	7,96

*Примечание:

П – правая рука, Л – левая рука;

не обр. – не обработанный контрольный участок кожи (без нанесения лекарственного препарата), соответствующий каждому обработанному участку;

обр. – обработанный участок кожи;

обработка А – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D₁ (1,0 час)

обработка Б – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D₂ (4,0 часа)

обработка В – исследуемый лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

обработка Г – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

Таблица 2

Значения показаний хромометра для субъекта
с поправкой на исходный уровень

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
						0	2	4	6	19	24
1	А	П*	1	не обр.*	-	-0,11	0,75	0,30	0,48	0,34	1,37
1	А	П*	1	обр.*	-	0,75	0,48	-1,19	-0,88	-0,79	0,19

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата					
						0	2	4	6	19	24
1	Б	П*	2	не обр.*	-	1,20	1,08	0,67	1,17	0,96	1,69
1	Б	П*	2	обр.*	-	-0,50	-0,67	-2,34	-0,91	-0,78	0,47
1	В	П*	3	не обр.*	-	1,04	1,52	0,49	1,47	0,31	1,27
1	В	П*	3	обр.*	-	1,48	1,52	-0,36	0,46	-0,38	0,81
1	Г	П*	4	не обр.*	-	0,88	1,30	0,25	1,57	0,21	0,82
1	Г	П*	4	обр.*	-	0,84	-0,44	-2,31	-0,40	-0,14	0,53
1	В	Л*	1	не обр.*	-	0,36	-0,06	-0,14	-0,38	-0,89	-0,13
1	В	Л*	1	обр.*	-	-1,55	-1,58	-2,58	-2,18	-1,21	-0,52
1	Б	Л*	2	не обр.*	-	-0,80	-0,36	-0,87	-0,38	-0,32	0,46
1	Б	Л*	2	обр.*	-	-2,98	-3,08	-3,35	-3,07	-1,19	-0,21
1	А	Л*	3	не обр.	-	-0,66	0,04	-0,48	0,18	0,20	0,69
1	А	Л*	3	обр.*	-	-0,24	-0,92	-2,25	-2,46	-1,85	-0,74
1	Г	Л*	4	не обр.*	-	-0,71	-0,04	-0,49	0,11	0,06	0,94
1	Г	Л*	4	обр.*	-	-0,76	-2,09	-3,29	-3,66	-1,75	-0,84

*Примечания:

обработка А – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D₁ (1,0 час)

обработка Б – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D₂ (2,0 часа)

обработка В – исследуемый лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

обработка Г – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

П – правая рука, Л – левая рука

не обр. – не обработанный контрольный участок кожи (без нанесения лекарственного препарата), соответствующий каждому обработанному участку, обр. – обработанный участок кожи

Значения показаний хромометра для субъекта с поправкой на исходный уровень и скорректированные по контрольным участкам без нанесения лекарственного препарата и данные $AUEC_{(0-24)}$

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Участок	Исходный уровень	Часы после удаления лекарственного препарата						$AUEC_{(0-24)}$
						0	2	4	6	19	24	
1	А	П*	1	обр.*	-	0,86	-0,27	-1,49	-1,36	-1,13	-1,18	-25,98
1	Б	П*	2	обр.	-	-1,70	-1,75	-3,01	-2,08	-1,74	-1,22	-45,53
1	В	П*	3	обр.*	-	0,44	0,00	-0,85	-1,01	-0,69	-0,46	-16,20
1	Г	П*	4	обр.*	-	-0,04	-1,74	-2,56	-1,97	-0,35	-0,29	-27,29
1	В	Л*	1	обр.*	-	-1,91	-1,52	-2,44	-1,80	-0,32	-0,39	-27,19
1	Б	Л*	2	обр.*	-	-2,18	-2,72	-2,48	-2,69	-0,87	-0,67	-42,26
1	А	Л*	3	обр.*	-	0,42	-0,96	-1,77	-2,64	-2,05	-1,43	-46,87
1	Г	Л*	4	обр.*	-	-0,05	-2,05	-2,80	-3,77	-1,81	-1,78	-58,77

*Примечание:

Обработка А – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D_1 (1,0 час)

Обработка Б – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы D_2 (4,0 часа)

Обработка В – исследуемый лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

Обработка Г – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа

П – правая рука, Л – левая рука, обр. – обработанный участок кожи

Значения показаний хромометра с поправкой на исходный уровень и скорректированные по контрольным участкам без нанесения лекарственного препарата для 12 субъектов

Исследуемый лекарственный препарат

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Часы после удаления лекарственного препарата					
				2	2	2	2	2	2
1	В	П*	3	0,44	0,00	-0,85	-1,01	-0,69	-0,46
1	В	Л*	1	-1,91	-1,52	-2,44	-1,80	-0,32	-0,39
2	В	П*	3	-1,51	-3,29	-3,45	-4,11	-0,89	-1,26
2	В	Л*	1	0,23	-1,09	-0,94	-2,15	-2,05	-0,66
3	В	Л*	3	-1,29	-1,75	-0,96	-0,90	-3,06	-1,05
3	В	П*	2	0,02	-1,43	-2,24	-1,16	-1,56	-1,72
4	В	П*	1	-0,02	-0,19	-0,52	-1,00	-0,43	-0,50
4	В	Л*	3	-0,12	0,15	-0,29	-0,06	-0,07	0,12
5	В	Л*	3	-0,36	-0,01	-0,19	-0,06	-0,72	-0,28
5	В	П*	1	-0,02	-0,63	-1,13	-0,90	-0,88	-0,03
6	В	П*	4	-0,80	0,60	0,32	0,30	-1,09	-1,53
6	В	Л*	3	-1,08	-0,45	-0,98	-0,83	-1,18	-0,07
7	В	П*	4	-0,28	0,25	-0,34	-0,64	-0,64	-0,41
7	В	Л*	1	0,67	0,74	0,72	1,03	0,33	-0,11
8	В	П*	4	-0,40	0,49	0,46	0,00	-0,35	0,78
8	В	Л*	3	0,30	0,05	0,07	0,19	-0,05	-0,28
9	В	П*	1	-0,71	-1,13	-1,94	-2,40	-1,70	-1,41
9	В	Л*	3	-0,34	-0,52	-1,46	-1,41	-0,31	-1,10
10	В	П*	1	-0,49	-0,43	-0,63	-0,10	-0,50	-1,10
10	В	Л*	3	0,10	-0,66	-0,44	-0,68	-0,34	-0,86

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Часы после удаления лекарственного препарата					
				2	2	2	2	2	2
11	В	Л*	2	-0,58	-0,93	-1,60	-2,29	-0,24	-0,54
11	В	П*	3	0,12	-1,67	-1,71	-2,34	0,15	-1,28
12	В	Л*	3	0,05	-0,08	-0,18	-0,35	-1,28	-0,46
12	В	П*	3	-0,60	0,15	0,19	-0,42	-0,40	-0,32
Среднее значение				-0,30	-0,57	-0,86	-0,96	-0,76	-0,62
Стандартное отклонение, SD				0,65	0,91	1,01	1,12	0,76	0,59
Ошибка среднего значения, SE				0,13	0,19	0,21	0,23	0,16	0,12
Коэффициент вариации, %CV				217	161	118	117	100	96

*Примечание:

Обработка В – исследуемый лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа
 П – правая рука, Л – левая рука

Референтный лекарственный препарат

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Часы после удаления лекарственного препарата					
				2	2	2	2	2	2
1	Г	П*	4	-0,04	-1,74	-2,56	-1,97	-0,35	-0,29
1	Г	Л*	4	-0,05	-2,05	-2,80	-3,77	-1,81	-1,78
2	Г	П*	4	-0,23	-1,58	-2,53	-2,53	0,00	-0,49
2	Г	Л*	4	-2,30	-2,88	-2,15	-3,05	2,09	0,27
3	Г	П*	1	1,25	-0,10	-1,99	-1,52	0,24	-1,24
3	Г	Л*	4	-0,04	-0,28	-1,30	-1,23	-0,77	-1,07
4	Г	П*	4	-0,43	-0,34	-1,50	-1,80	-0,74	-0,96
4	Г	Л*	2	-0,47	-0,22	-0,49	-0,83	-0,89	-0,82

Субъект	Обработка*	Рука	Место нанесения	Часы после удаления лекарственного препарата					
				2	2	2	2	2	2
5	Г	Л*	2	-0,71	-1,77	-1,62	-2,62	-0,76	-0,60
5	Г	П*	3	0,46	-1,23	-1,23	-1,61	-1,70	-0,47
6	Г	П*	1	-0,11	0,20	1,35	0,86	-0,77	-1,00
6	Г	Л*	4	-0,95	-1,07	-0,52	-1,17	-2,33	-1,52
7	Г	П*	2	-0,22	-0,30	-0,42	-0,18	-0,74	-1,00
7	Г	Л*	4	-0,51	0,03	-0,76	-0,12	-0,42	-1,24
8	Г	П*	2	0,51	0,30	0,92	0,63	0,56	0,34
8	Г	Л*	1	-0,44	0,08	-0,16	-0,95	-2,00	-1,49
9	Г	П*	4	-0,40	-1,15	-2,25	-2,57	-1,20	-1,55
9	Г	Л*	2	-1,16	-1,05	-1,90	-1,80	-1,06	-1,42
10	Г	Л*	3	0,28	-0,31	-1,16	-1,40	-0,64	-0,57
10	Г	П*	1	-0,14	-0,05	-0,24	-0,63	-0,41	-1,09
11	Г	П*	1	-0,46	-0,82	-1,10	-2,15	-0,47	-0,59
11	Г	Л*	4	-0,15	-1,45	-1,66	-1,61	-1,14	0,55
12	Г	П*	1	-0,25	-0,76	-1,35	-2,29	-1,23	-0,99
12	Г	Л*	4	1,89	0,73	2,07	0,82	-0,59	0,70
Среднее значение				-0,19	-0,74	-1,06	-1,40	-0,71	-0,76
Стандартное отклонение, SD				0,79	0,87	1,23	1,20	0,90	0,68
Ошибка среднего значения, SE				0,16	0,18	0,25	0,25	0,18	0,14
Коэффициент вариации, %CV				405	117	116	86	126	89

*Примечание:

Обработка Г – референтный лекарственный препарат при продолжительности воздействия дозы 2,0 часа
 П – правая рука, Л – левая рука

Таблица 5

Значения $AUEC_{(0-24)}$ для правой руки, левой руки и среднее значение для двух рук при продолжительности воздействия дозы, равной D_1 и D_2 , а также отношение среднего значения $AUEC$ при D_2 к среднему значению $AUEC$ при D_1 для 12 субъектов

$AUEC_{(0-24)}$ при D_1				$AUEC_{(0-24)}$ при D_2				$AUEC$ при $D_2/ AUEC$ при D_1
Субъект	Рука	$AUEC$	$AUEC$ (среднее)	Субъект	Рука	$AUEC$	$AUEC$ (среднее)	
1	П*	-25,98	-36,42	1	П*	-45,53	-43,90	1,21
1	Л*	-46,87		1	Л*	-42,26		
2	П*	-62,43	-45,09	2	П*	-69,72	-59,96	1,33
2	Л*	-27,76		2	Л*	-50,20		
3	П*	-22,53	-28,41	3	П*	-31,87	-64,04	2,25
3	Л*	-34,29		3	Л*	-96,21		
4	П*	-7,49	-11,70	4	П*	-27,48	-23,30	1,99
4	Л*	-15,91		4	Л*	-19,12		
5	Л*	-16,59	-17,36	5	Л*	-25,01	-16,58	0,95
5	П*	-18,14		5	П*	-8,15		
6	П*	-8,24	-10,44	6	П*	-27,36	-9,33	0,89
6	Л*	-12,64		6	Л*	8,70		
7	П*	-10,89	-13,36	7	П*	-20,44	-23,68	1,77
7	Л*	-15,83		7	Л*	-26,92		
8	Л*	7,08	4,69	8	Л*	-26,16	-21,02	-4,48
8	П*	2,31		8	П*	-15,88		
9	Л*	-34,22	-13,82	9	Л*	-33,80	-21,39	1,55
9	П*	6,58		9	П*	-8,97		
10	Л*	-4,10	3,06	10	Л*	-52,60	-43,79	-14,29

AUEC ₍₀₋₂₄₎ при D ₁				AUEC ₍₀₋₂₄₎ при D ₂				AUEC при D ₂ / AUEC при D ₁
Субъект	Рука	AUEC	AUEC (среднее)	Субъект	Рука	AUEC	AUEC (среднее)	
10	П*	10,23		10	П*	-34,97		
11	П*	-33,30	-37,30	11	П*	-57,00	-52,20	1,40
11	Л*	-41,30		11	Л*	-47,40		
12	П*	-0,55	-21,06	12	П*	-29,24	-28,22	1,34
12	Л*	-41,57		12	Л*	-27,20		

*Примечание: П – правая рука, Л – левая рука, обведенное значение указывает, что отношение AUEC > 1,25

Таблица 6

Значения AUEC₍₀₋₂₄₎ для правой руки, левой руки и среднее значение для двух рук для исследуемого и референтного лекарственных препаратов для 12 субъектов при продолжительности воздействия дозы, равной 2,0 часа

AUEC ₍₀₋₂₄₎ исследуемого лекарственного препарата					AUEC ₍₀₋₂₄₎ референтного лекарственного препарата				
Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)	Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)
1	П*	3	-16,20	-21,69	1	П*	4	-27,29	-43,03
1	Л*	1	-27,19		1	Л*	4	-58,77	
2	Л*	3	-56,98	-48,52	2	П*	4	-28,65	-22,20
2	П*	1	-40,06		2	Л*	4	-15,75	

AUEC ₍₀₋₂₄₎ исследуемого лекарственного препарата					AUEC ₍₀₋₂₄₎ референтного лекарственного препарата				
Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)	Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)
3	Л*	3	-43,63	-38,99	3	П*	1	-15,27	-18,65
3	П*	2	-34,36		3	Л*	4	-22,03	
4	П*	1	-14,06	-7,62	4	П*	4	-26,67	-22,42
4	Л*	3	-1,18		4	Л*	2	-18,18	
5	Л*	3	-8,39	-13,34	5	Л*	2	-35,48	-34,25
5	П*	1	-18,29		5	П*	3	-33,01	
6	П*	4	-9,51	-15,23	6	П*	1	0,01	-18,83
6	Л*	3	-20,96		6	Л*	4	-37,68	
7	П*	4	-12,05	0,98	7	П*	2	-12,17	-10,96
7	Л*	1	14,01		7	Л*	4	-9,75	
8	П*	4	0,30	0,56	8	П*	2	13,57	-7,94
8	Л*	3	0,81		8	Л*	1	-29,45	
9	П*	1	-43,68	-32,05	9	П*	4	-41,15	-37,40
9	Л*	3	-20,42		9	Л*	2	-33,65	
10	П*	1	-10,61	-11,51	10	Л*	3	-20,35	-16,10
10	Л*	3	-12,41		10	П*	1	-11,86	
11	Л*	2	-26,33	-26,18	11	П*	1	-26,13	-26,73
11	П*	3	-26,04		11	Л*	4	-27,33	

AUEC ₍₀₋₂₄₎ исследуемого лекарственного препарата					AUEC ₍₀₋₂₄₎ референтного лекарственного препарата				
Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)	Субъект	Рука	Место нанесения	AUEC	AUEC (среднее)
12	Л*	3	-15,77	-11,62	12	П*	1	-35,19	-12,56
12	П*	3	-7,47		12	Л*	4	10,08	
Среднее значение			-18,77	-18,77	Среднее значение			-22,59	-22,59
Стандартное отклонение, SD			16,45	15,28	Стандартное отклонение, SD			16,14	10,92
Ошибка среднего значения, SE			3,36	3,12	Ошибка среднего значения, SE			3,30	2,23
Коэффициент вариации, %CV			88	81	Коэффициент вариации, %CV			71	48

Примечание: П – правая рука, Л – левая рука, обведены данные AUEC семи субъектов, отношения AUEC которых (см. таблица 5) $\geq 1,25$, т.е. пригодных оценке субъектов. Эти данные AUEC использованы в расчете 90% доверительного интервала в Дополнении 5.

ДОПОЛНЕНИЕ 5

к приложению № 9
к Правилам проведения
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов
в рамках Евразийского
экономического союза

Метод Локка: формулы и пример

Ниже представлен расчет 90 % доверительного интервала для данных опорного исследования биоэквивалентности по данным таблицы 6. Для расчета доверительного интервала использованы только средние значения AUEC «детекторов».

Таблица 7

Средние значения AUEC субъектов в опорном исследовании, соответствующие критерию «длительность воздействия дозы – ответ», приведенному в п. 64 Приложения

Субъект	AUEC ₍₀₋₂₄₎ исследуемого лекарственного препарата (среднее)	AUEC ₍₀₋₂₄₎ референтного лекарственного препарата (среднее)
2	-48,52	-22,20
3	-38,99	-18,65
4	-7,62	-22,42
7	0,98	-10,96
9	-32,05	-37,40
11	-26,18	-26,73
12	-11,62	-12,56

Для расчета доверительного интервала следует вычислить следующие промежуточные величины:

$$\bar{X}_T = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{Ti} \quad \bar{X}_R = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{Ri}$$

где:

n – количество оцениваемых субъектов (7 в данном примере).

$$\hat{\sigma}_{TT} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ti} - \bar{X}_T)^2}{n - 1} \quad \hat{\sigma}_{RR} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ri} - \bar{X}_R)^2}{n - 1}$$

$$\hat{\sigma}_{TR} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ti} - \bar{X}_T)(X_{Ri} - \bar{X}_R)}{n - 1}$$

Представлены формулы для расчета среднего выборки. Дисперсии выборки и ковариации выборки для средних значений АУЕС отдельных поддающихся оценке субъектов. В данном примере это:

$$\bar{X}_T = -23,43, \bar{X}_R = -21,56, \hat{\sigma}_{TT} = 323,13, \hat{\sigma}_{RR} = 80,10, \hat{\sigma}_{TR} = 78,83$$

Определяют критерий Стьюдента t для $n - 1$ степеней свободы. Например, при $n = 7$ значение t (6 степеней свободы составляет 1,9432.

Затем определяют

$$G = \frac{t^2 \hat{\sigma}_{RR}}{n \bar{X}_R^2}$$

Для построения корректного доверительного интервала требуется $G < 1$. Если $G \geq 1$, исследование не соответствует требованиям биоэквивалентности *in vivo*.

В случае, если $G < 1$, рассчитывают:

$$K = \left(\frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R} \right)^2 + \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} (1 - G) + \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} \left(G \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} - 2 \frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R} \right)$$

В данном примере K составляет 2,791.

Затем можно рассчитать пределы доверительного интервала:

$$\frac{\left(\frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R} \div G \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} \right) \mp \frac{t}{\bar{X}_R} \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_{RR}}{n} K}}{1 \div G}$$

В данном примере границы 90 %-ного доверительного интервала составляют 53,6 % и 165,9 % на основе данных 7 поддающихся оценке субъектов.
