

до Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення (пункт 4 розділу IV)

## Звіт про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності – номер реєстраційного посвідчення):	ТАФНАТ (тенфовіра алафенаміду таблетки по 25 мг)				
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Генерична заява				
2) проведені дослідження	<input type="checkbox"/>	так	<input checked="" type="checkbox"/>	ні	Якщо ні, обґрунтувати Лікарський засіб, призначений для реєстрації в Україні, є генеричною версією препарату ВЕМЛІДІ® (тенфовіра алафенаміду) таблеток по 25 мг. Отже, доклінічних досліджень цього препарату не проводили.
2. Фармакологія:	<p>Після всмоктування тенфовіра алафенаміду fumarat внутрішньоклітинно перетворюється на тенфовір, що у свою чергу фосфорилується з утворенням активного метаболіту тенфовіра дифосфату, який конкурує з природним 2'-деоксиаденозинтрифосфатом (дАТФ) за включення до полімерази / зворотної трансферази (пол/ЗТ) ДНК ВГВ чи ЗТ ВІЛ-1, а після включення спричиняє переривання ланцюга.</p> <p>Тенфовіра дифосфат є дуже слабким інгібітором полімераз <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>, <math>\delta</math>, <math>\epsilon</math> ДНК ссавців, а також інгібітором полімерази мітохондріальної ДНК <math>\gamma</math>.</p> <p>Оскільки тенфовіра алафенаміду fumarat стабільніший у плазмі, ніж тенфовіра дизопроксилу fumarat, він сягає вищих внутрішньоклітинних рівнів, що забезпечує кращий транспорт тенфовіра і 90 % зменшення рівнів тенфовіра у кровотоці у порівнянні з тенфовіра дизопроксилу fumaratom. Такі властивості дозволяють зменшити ризик розвитку нефротоксичності і погіршення мінеральної щільності кісток, що є відомими ризиками при застосуванні тенфовіра дизопроксилу fumaratu.</p>				
1) первинна фармакодинаміка	<p>Після проникнення тенфовіра алафенаміду fumaratu до клітин гідролаза (тобто, CES1, CatA, тощо) розриває карбоксилефірний зв'язок пропрепарату, вивільняючи проміжний метаболіт тенфовір-аланін, що далі гідролізується з утворенням вихідного тенфовіра і послідовно фосфорилується аденілаткіназою і нуклеозидною дифосфаткіназою з утворенням активного метаболіту тенфовіра дифосфату.</p> <p>Внутрішньоклітинний метаболізм тенфовіра алафенаміду fumaratu вивчали у мононуклеарних клітинах периферичної крові (МКПК) та макрофагах. Відомо, що лізосомальний катепсин А (CatA) розриває ефірний зв'язок тенфовіра алафенаміду fumaratu. Гідролазну активність тенфовіра алафенаміду fumaratu оцінювали у клітинних екстрактах у присутності чи за відсутності відомих інгібіторів CatA (телапревіра і боцепревіра), інгібітора CES1 (біс-р-нітрофенілу фосфату – БНФФ), інгібітора CYP3A4 і P-gp (кобіцистата), а також комбінації телапревіра і БНФФ. БНФФ дозозалежно інгібував метаболізм 0,5 <math>\mu</math>M розчину тенфовіра алафенаміду fumaratu, при цьому відзначали інгібування приблизно на 37, 30 чи 66 % при концентраціях БНФФ 2, 10 чи 50 <math>\mu</math>M, відповідно. При концентраціях кожного інгібітора по 10 <math>\mu</math>M і 50 <math>\mu</math>M утворення тенфовіра дифосфату інгібувалося приблизно на 84 і 95 %, відповідно. Ці результати свідчать про переважну активацію тенфовіра алафенаміду fumaratu у первинних гепатоцитах людини за участю ферменту CES1 і у незначній мірі CatA.</p>				

Враховуючи роль ферментів CES1 та/або CatA у метаболізмі тенофовіра алафенаміду фумарату, відмінності їхніх клітинних рівнів можуть впливати на протівірусну активність тенофовіра алафенаміду фумарату. Рівні експресії CES1 і CatA та їхні внески до внутрішньоклітинного метаболізму тенофовіра алафенаміду фумарату оцінювали у двох лініях клітин печінки, які часто використовують для визначення протівірусних препаратів (НерG2 і НерAD38). Рівень експресії CES1 у обох екстрактах клітин печінки був у 17-43 рази нижчим, ніж у об'єднаних фракціях печінки людини S9. При цьому, експресія CatA у обох екстрактах клітин печінки була у 2,4-4,8 разів вищою, ніж у об'єднаних фракціях печінки людини S9. Можливим поясненням таких відмінностей є часте пригнічення рівнів експресії CES1 у лініях клітин печінки. Гідролітичну активацію тенофовіра алафенаміду фумарату у екстрактах клітин НерG2 і НерAD38 оцінювали й у присутності чи за відсутності інгібіторів CES1 (БНФФ) та/або CatA (телапревіра). БНФФ не демонстрував впливу на гідроліз тенофовіра алафенаміду фумарату у клітинах НерG2 чи НерAD38 аж до найвищих досліджуваних концентрацій (50  $\mu\text{M}$ ). На відміну від нього, телапревір сильно інгібував гідроліз тенофовіра алафенаміду фумарату з утворенням тенофовір-аланіну у клітинах НерG2 і НерAD38, демонструючи подібні значення  $\text{IC}_{50}$ , рівні 0,2 та 0,1  $\mu\text{M}$ , відповідно. При інкубації клітин НерAD38 у присутності 0,5  $\mu\text{M}$  розчину тенофовіра алафенаміду фумарату телапревір значно (у 2,2 рази) інгібував метаболізм тенофовіра алафенаміду фумарату з утворенням тенофовіра дифосфату, тоді як вплив БНФФ був незначним (у 1,2 рази). У разі застосування комбінації телапревіра і БНФФ дослідники відзначали у 3,7 рази сильніше інгібування утворення тенофовіра дифосфату у порівнянні з телапревіром.

#### **Активация тенофовіра алафенаміду фумарату у присутності інгібіторів протеази**

Оскільки певні інгібітори вірусних протеаз (ІП) демонстрували сильне інгібування CatA, потенційні лікарські взаємодії тенофовіра алафенаміду фумарату та протівірусних ІП оцінювали шляхом визначення гідролітичної активності за участю очищеного CatA. ІП ВІЛ дарунавір, атазанавір, лопінавір і ритонавір, а також посилювач дії кобіцистат не інгібували гідроліз тенофовіра алафенаміду фумарату, опосередкований CatA, аж до концентрації 50  $\mu\text{M}$ , що значно перевищувала клінічне значення  $\text{C}_{\text{max}}$  кожного препарату. На відміну від них, ковалентні ІП ВГС телапревір і боцепревір демонстрували сильне інгібування гідролізу тенофовіра алафенаміду фумарату, опосередковане CatA, зі значеннями  $\text{IC}_{50}$ , рівними 0,3 та 0,2  $\mu\text{M}$ , відповідно. Після корекції з урахуванням зв'язування з плазмою значення  $\text{IC}_{50}$  були у 6-8 разів нижчими за клінічну максимальну концентрацію ( $\text{C}_{\text{max}}$ ), відзначену у пацієнтів. Як правило, всі досліджувані ІП ВІЛ та більшість випробуваних ІП ВГС демонстрували мінімальний потенціальний вплив на внутрішньоклітинну активацію тенофовіра алафенаміду фумарату. Ці дані підтверджують доцільність одночасного застосування таких терапевтичних ІП з тенофовіра алафенаміду фумаратом у пацієнтів з комбінованою інфекцією без негативного впливу на внутрішньоклітинне утворення тенофовіру, за винятком комбінації телапревіра та боцепревіра.

#### **Навантаження тенофовіра алафенаміду фумаратом (і тенофовіром) у макак-резус**

Плазмовий фармакокінетичний профіль тенофовіра алафенаміду фумарату (і тенофовіра) та внутрішньоклітинний метаболізм тенофовіра алафенаміду фумарату у МКПК досліджували у приматів, яким вводили одноразові пероральні дози тенофовіра алафенаміду монофумарату по 5,0 чи 50 мг/кг. Після введення доз по 50 мг/кг рівні тенофовіра алафенаміду фумарату і тенофовіра у плазмі швидко зростали, демонструючи значення  $\text{T}_{\text{max}}$ , рівні 0,5 і 1 год., відповідно. У цих самих тварин рівні тенофовіра

	<p>алафенаміду fumarату і тенофовіра у плазмі знижувалися, демонструючи значення <math>T_{1/2}</math>, рівні 0,40 і 17,33 год. відповідно. Рівні тенофовіра у МКПК зберігалися впродовж максимум 96 год., знижуючись явно повільніше, ніж у плазмі. Рівні тенофовіра були значно вищими у зразках, оброблених кислотною фосфатазою, що свідчить про значну частку фосфорильованих форм матеріалів, пов'язаних із тенофовіром, у МКПК.</p> <p>Тваринам підшкірно вводили одноразові дози тенофовіра по 15, 30 чи 60 мг/кг, після чого тенофовір ефективно поглинався МКПК і метаболізувався з утворенням тенофовіра дифосфату, при цьому внутрішньоклітинні концентрації активного метаболіту тенофовіра дифосфату сягали 0,9 <math>\mu\text{M}</math> (у групі доз 30 мг/кг). Значення <math>T_{1/2}</math> тенофовіра дифосфату у МКПК становило <math>&gt; 50</math> годин. Через 48 годин після введення дози значні концентрації тенофовіра та його метаболітів відзначали й у мононуклеарних клітинах з ділянок пахвових, пахових і брижових лімфатичних вузлів.</p> <p><b>Інгібування зворотної транскриптази ВГВ (і ВІЛ-1)</b>  ВГВ є членом сімейства <i>Hepadnaviridae</i>, тоді як ВІЛ-1 входить до сімейства <i>Retroviridae</i>. Реплікація ВГВ і ВІЛ-1 відбувається за допомогою зворотної транскрипції, що потребує участі РНК-залежної полімерази ДНК, ДНК-залежної полімерази ДНК і рибонуклеази Н. Віруси ВГВ і ВІЛ-1 кодують фермент зворотну трансферазу (ЗТ) зі збереженою гомологією. ЗТ ВГВ може взаємозамінно означати полімеразу, ЗТ або полімеразу / зворотну транскриптазу (пол/ЗТ), оскільки вона містить додатковий N-термінальний протеїновий домен і спейсерний домен, що був раніше залучений до протеїнового примування у рамках синтезу вірусного ДНК. Вплив тенофовіра дифосфату на активність ДНК-залежної полімерази пол/ЗТ ДНК ВГВ оцінювали у ході ензиматичного визначення за допомогою рекомбінантної експресованої та очищеної пол/ЗТ ВГВ бакуловірусу. Тенофовіра дифосфат дозозалежно інгібував активність полімерази пол/ЗТ ВГВ без змін максимальної частоти руху (<math>V_{\text{max}}</math>). Визначена кінетична константа інгібування (<math>K_i</math>) ДНК-залежної полімерази ДНК тенофовіра за участю дифосфату дорівнювала 0,18 <math>\mu\text{M}</math>, тобто була у 2,1 рази нижчою за константу Міхаеліса-Ментен (<math>K_m</math>) дАТФ. Такі результати довели, що тенофовіра дифосфат інгібує пол/ЗТ ВГВ і ЗТ ВІЛ-1 шляхом конкурентного зв'язування з дАТФ у ДНК, що спричиняє передчасне переривання синтезу ДНК після включення тенофовіра до нового ланцюга ДНК.</p>
2) вторинна фармакодинаміка	<p>Тенофовіра алафенаміду fumarат гідролізується у цільових клітинах з утворенням тенофовіра, забезпечуючи високі внутрішньоклітинні рівні тенофовіра дифосфату <i>in vivo</i>. Відомо про специфічність тенофовіра дифосфату щодо полімераз ДНК ссавців <i>in vitro</i>, пов'язану з його взаємодією з вірусними полімеразами. Тенофовіра дифосфат демонстрував слабе інгібування полімераз <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>, <math>\delta</math>, <math>\epsilon</math> ДНК ссавців, а також полімерази у мітохондріальній ДНК.</p> <p>Для визначення впливу пропрепарату тенофовіра дизопроксилу fumarату і вихідної сполуки тенофовіра на інгібування чи стимуляцію зв'язування у серіях із 111 білків-мішеней використовували первинний скринінг. Білок-мішень інкубували у присутності 10 <math>\mu\text{M}</math> тенофовіра чи тенофовіра дизопроксилу fumarату. Далі дослідники визначали вплив на зв'язування ендогенного ліганду. Значущими вважали відповіді, що демонстрували <math>&gt; 50\%</math> стимуляцію чи інгібування. Тенофовір і тенофовіра дизопроксил fumarат не спричиняли значного інгібування чи стимуляції зв'язування ліганду з білком-мішенню. Результати цього дослідження демонстрували відсутність значної взаємодії тенофовіра чи тенофовіра дизопроксилу fumarату з жодним із 111 досліджуваних білків-мішеней.</p> <p>Профілі цитотоксичності (значення <math>CC_{50}</math>) тенофовіра алафенаміду fumarату, його стереоізомеру GS-7339, тенофовіра дизопроксилу fumarату і тенофовіра досліджували у МКПК людини у стані спокою чи</p>

	<p>ділення після 5-денної безперервної інкубації препарату. Дослідники використовували максимальні концентрації тенофовіра алафенаміду fumarату, GS-7339, тенофовіра дизопроксилу fumarату і тенофовіра, що дорівнювали 100, 100, 50 і 2000 <math>\mu\text{M}</math>, відповідно. У ході цього дослідження <i>in vitro</i> застосовували понадтерапевтичні концентрації і тривалість обробки тенофовіра алафенаміду fumarату. Значення <math>\text{CC}_{50}</math> тенофовіра алафенаміду fumarату варіювалися від 6,8 <math>\mu\text{M}</math> під час ділення МКПК до 25,1 <math>\mu\text{M}</math> у стані спокою. Тенофовіра алафенаміду fumarат демонстрував низьку цитотоксичність у стані спокою та під час ділення МКПК. Профілі цитотоксичності (значення <math>\text{CC}_{50}</math>) тенофовіра алафенаміду fumarату, тенофовіра дизопроксилу fumarату, тенофовіра, а також панелі клінічно релевантних антиретровірусних інгібіторів оцінювали й після 5-денної обробки ліній 2Т-лімфобластоїдних клітин (МТ-2 і МТ-4). Тенофовіра алафенаміду fumarат демонстрував низьку цитотоксичність у Т-лімфобластоїдних клітинах, забезпечуючи <math>\geq 1997</math>-разове зростання селективності у порівнянні з противірусною активністю у лініях Т-лімфобластоїдних клітин. Так само, тенофовіра алафенаміду fumarат демонстрував низьку цитотоксичність щодо клітин печінки. Тенофовіра алафенамід демонстрував незначний вплив або відсутність впливу на проліферацію еритроїдних і міелоїдних попередників <i>in vitro</i>.</p>
<p>3) фармакологія безпеки</p>	<p>Дослідники проводили експерименти з фармакології безпеки <i>in vivo</i> з тенофовіра алафенаміду fumarатом у формі моноfumarату у 50 мМ розчині лимонної кислоти.</p> <p><b>Шлунково-кишковий тракт</b> Тенофовіра алафенаміду fumarат вводили щурам Спрег-Доулі за допомогою зонда у дозах 0, 100 чи 1000 мг/кг (0, 80 чи 800 мг еквіваленту чистої основи/кг). Введення найвищої дози спричиняло зменшення швидкості евакуації вмісту шлунка, яке не відзначали після введення доз 100 мг/кг (80 мг еквіваленту чистої основи/кг). Дослідники вважали, що дози 100 мг/кг не впливали на евакуацію вмісту шлунка чи моторику кишечника.</p> <p><b>Серцево-судинна система</b> Пероральне введення тенофовіра алафенаміду fumarату свідомим самцям собак породи бігль з відкритою грудною клітиною у дозах по 30 чи 100 мг/кг (24 і 80 мг еквіваленту чистої основи/кг) не спричиняло фармакологічного впливу на частоту серцевих скорочень, системний артеріальний тиск чи ЕКГ.</p> <p><b>Центральна нервова система</b> Самцям щурів Спрег-Доулі вводили одноразові пероральні дози тенофовіра алафенаміду fumarату (у формі моноfumarату) по 0, 100 чи 1000 мг/кг (80 чи 800 мг еквіваленту чистої основи/кг). Дослідники не виявили жодних свідчень впливу жодної досліджуваної дози у межах до 1000 мг/кг на ЦНС.</p> <p><b>Нирки</b> Самцям щурів Спрег-Доулі вводили одноразові пероральні дози тенофовіра алафенаміду fumarату (у формі моноfumarату) по 0, 100 чи 1000 мг/кг (80 чи 800 мг еквіваленту чистої основи/кг). Виведення кальцію з сечею зростало після введення доз 1000 мг/кг, але це відповідало зростанню сироваткової концентрації кальцію та свідчило про добре функціонування нирок при зменшенні кальцієвого навантаження на сироватку. Після введення 1000 мг/кг дослідники не відзначали фармакологічного впливу на нирки.</p>
<p>4) фармакодинамічні взаємодії</p>	<p>Не застосовно</p>
<p>3. Фармакокінетика:</p>	

<p>1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації</p>	<p>Фармакокінетику, токсикокінетику, розподіл і виведення тенофовіра алафенаміду fumarату оцінювали <i>in vivo</i> у мишей, щурів, собак і мавп. Характеристики всмоктування, метаболізму і лікарської взаємодії тенофовіра алафенаміду fumarату <i>in vitro</i> вивчали у відповідних модельних системах. Рівні тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра у плазмі та МКПК собак і щурів визначали за допомогою флуоресцентної дериватизації / ВЕРХ. Додаткові методи визначення рівнів тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра у плазмі / МКПК мишей, щурів, кролів, і собак включали валідовані методики рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (РХ-МС/МС) та ВЕРХ. Всмоктування, розподіл, метаболізм і виведення тенофовіра алафенаміду fumarату у різних видів тварин оцінювали після одноразового перорального введення [14С]-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату, а рівні тенофовіра алафенаміду fumarату та його метаболітів вимірювали за допомогою рідинно-твердофазної хроматографії, ВЕРХ чи РХ-МС/МС з проточним детектором. Визначення рівнів тенофовіра алафенаміду fumarату <i>in vitro</i> в основному проводили методом РХ-МС/МС з деяким радіологічним РХ-профілюванням. Потенціальну індукцію активності СYP за участю тенофовіра алафенаміду fumarату оцінювали за допомогою вимірювання рівнів мРНК методами ПЦР кЗТ.</p>
<p>2) всмоктування</p>	<p>Миші У мишей проводили дослідження одноразового та повторного введення. У ході фармакокінетичного дослідження введення одноразових доз у мишей дослідники оцінювали тенофовіра алафенаміду fumarат / тенофовір після введення тенофовіра алафенаміду fumarату у формах тенофовіра алафенаміду моноfumarату (GS-7340-02) чи тенофовіра алафенаміду геміfumarату (GS-7340-03) самцям мишей CD-1 чи після введення GS-7340-03 (геміfumarату) самцям і самкам мишей 001178-W за допомогою зонда, при цьому концентрація тенофовіра зростала пропорційно дозі, а у діапазоні доз від 10 до 100 мг/кг перевищувала пропорційну дозі. Відмінності рівнів тенофовіру у плазмі самців та самок не перевищували 2-разових значень <math>C_{max}</math> і <math>AUC_{0-t}</math>. Відзначені фармакокінетичні профілі двох різних fumarатних форм тенофовіра алафенаміду fumarату загалом були подібними. Тенофовіра алафенаміду моноfumarат вводили самцям і самкам мишей за допомогою зонду впродовж максимум 14 днів у дозах по 100, 500 чи 1000 мг/кг/добу. Через ранню смерть тварин, які отримували дози по 500 чи 1000 мг/кг/добу, дослідники оцінювали лише групу доз 100 мг/кг/добу. Введення GS-7340 у дозах 100 мг/кг/добу на 14-й день спричиняло значення <math>C_{max}</math> у самців і самок, рівні 27,1 і 2,89 нг/мл, відповідно, при цьому значення <math>AUC_{0-24}</math> не можна було розрахувати через відсутність чіткої фази виведення. GS-7340 швидко перетворювався на метаболіт тенофовір. Дослідники не відзначали значних відмінностей фармакокінетичних профілей тенофовіра у самців і самок. Фармакокінетичні параметри тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра оцінювали після щоденного введення тенофовіра алафенаміду моноfumarату мишам за допомогою зонда впродовж мінімум 13 тижнів у дозах по 0, 10, 30 і 100 мг/кг/добу. Концентрація тенофовіра зростала після збільшення дози GS-7340-02 з 10 до 100 мг/кг/добу. Зростання значень <math>C_{max}</math> і <math>AUC_{0-t}</math>, як правило, перевищувало пропорційне у діапазоні доз від 10 до 100 мг/кг/добу. Відмінності значень <math>C_{max}</math> і <math>AUC_{0-t}</math> тенофовіра у самців та самок не перевищували 2-разових. Дослідники не відзначали акумуляції тенофовіра після багаторазового введення, проте фіксували швидке і повне перетворення тенофовіра алафенаміду fumarату на тенофовір після перорального введення мишам.</p> <p>Щури У щурів проводили дослідження одноразового та повторного введення. У ході фармакокінетичного дослідження одноразових доз у щурів знову порівнювали дві форми тенофовіра алафенаміду fumarату (моноfumarат і</p>

геміфумарат), оскільки тенофовіра алафенаміду фумарат і тенофовіра дизопроксилу фумарат впливали на тенофовір. Тенофовіра алафенаміду фумарат швидко всмоктувався і утворював основний метаболіт тенофовір зі значенням  $T_{max}$ , меншим 1 години. Зростання концентрації тенофовіра перевищувало пропорційне дозі. Дослідники не відзначали значних відмінностей фармакокінетичних параметрів двох випробуваних форм тенофовіра алафенаміду фумарату.

У ході порівняння концентрацій тенофовіра, зафіксованих після введення тенофовіра алафенаміду фумарату і тенофовіра дизопроксилу фумарату, щурам перорально вводили одноразові дози тенофовіра алафенаміду фумарату (GS-7340-02) чи тенофовіра дизопроксилу фумарату по 400 мг/кг. Плазмові значення  $C_{max}$  і AUC тенофовіра після введення 400 мг/кг тенофовіра алафенаміду фумарату були у 2-3 рази вищими, ніж після введення 400 мг/кг тенофовіра дизопроксилу фумарату.

Плазмовий фармакокінетичний профіль тенофовіра алафенаміду монофумарату оцінювали у ході 28-денного дослідження токсичності після перорального введення щоденних доз GS-7340-02 по 1,5, 6,25, 25, 100 чи 400 мг/кг/добу за допомогою зонду дорослим самцям і самкам щурів-альбіносів. Дослідники відзначали зростання концентрацій, що перевищувало пропорційне дозі. Свідчень акумуляції не виявили.

У ході 26-тижневого дослідження токсичності тенофовіра алафенаміду монофумарат вводили щурам один раз на добу у дозах по 0 (лише транспортер), 5, 25 і 100 мг/кг/добу за допомогою зонду і визначали плазмові фармакокінетичні параметри тенофовіра на 1-й день та впродовж 13-го та 26-тижнів. Дослідники не відзначали стійких відмінностей плазмових фармакокінетичних параметрів у самців і самок щурів. Середні значення  $C_{max}$  і AUC тенофовіра зростали пропорційно дозі у діапазоні доз від 5 до 100 мг/кг/добу. Середнє значення AUC тенофовіра на 1-й день було трохи нижчим за значення, отримані впродовж 13-го і 26-го тижнів, що свідчило про незначну акумуляцію тенофовіра після повторного введення.

*Собаки:* у собак проводили дослідження одноразового та повторного введення.

Дослідники вивчали вплив змін стереоконфігурації, фумаратної форми, їжі та шляху введення на фармакокінетичні параметри. У ході цього дослідження собакам породи бігль застосовували тенофовіра алафенаміду фумарат шляхом одноразового внутрішньовенного болюсного введення (тенофовіра алафенаміду монофумарату [6,3 мг/кг]) чи перорального введення (тенофовіра алафенаміду фумарату еквівалентно чистій основі [18,0 мг/кг], діастереомеру GS-7339 [18,0 мг/кг], суміші GS-7171 [16,0 мг/кг] чи речовини GS-7340-02 [4,8, 5,0 і 20 мг/кг натщесерце і 5,0 мг/кг після їди]). Після перорального введення тенофовіра фумарат і його діастереомер швидко всмоктувалися і виводилися зі значенням  $T_{max}$ , меншим за 0,5 год., і значенням  $T_{1/2}$ , рівним 0,2-0,9 год. Плазмові концентрації незміненого пропрепарату після окремого введення тенофовіра алафенаміду фумарату чи GS-7339 були подібними, проте після введення суміші ізомерів GS-7171 концентрація GS-7339 приблизно у 3 рази перевищувала концентрацію тенофовіра алафенаміду фумарату. Концентрація тенофовіра була подібною після введення обох діастереомерів, хоча концентрація у МКПК після введення тенофовіра алафенаміду фумарату була вищою, ніж після введення GS-7339. Вплив їжі призводив до зменшення загальних плазмових концентрацій тенофовіра і тенофовіра алафенаміду фумарату (у 2,5 рази).

Після введення одноразової пероральної дози тенофовіра алафенаміду фумарату 10 мг/кг самцям собак породи бігль автори відзначали швидке всмоктування і виведення зі значенням  $T_{max}$ , що не перевищувало 0,5 год., і значенням  $T_{1/2}$  у межах 0,2-0,9 год. Фармакологічно активний метаболіт тенофовіра дифосфат був основним метаболітом у печінці, його рівні сягали значення  $C_{max}$  126  $\mu$ M через 4,0 год. після введення дози.

2

Дослідники оцінювали плазмовий і печінковий фармакокінетичні профілі на 1-й та 7-й дні щоденного перорального введення тенофовіра алафенаміду fumarату у дозах 8,29 мг/кг впродовж 7 днів самцям собак породи бігль. Тенофовіра алафенаміду fumarат швидко всмоктувався і на 1-й та 7-й дні демонстрував короткий кінцевий період напіввиведення з плазми ( $T_{1/2}$ ), рівний 0,3 год. Швидке зникнення тенофовіра алафенаміду fumarату супроводжувалося зростанням рівнів тенофовіра. Тенофовір був основним метаболітом, виявленим у плазмі, його максимальна плазмова концентрація ( $C_{max}$ ) сягала значень 1,47 і 2,12  $\mu\text{M}$  на 1-й та 7-й дні, відповідно. Фармакологічно активний дифосфатний метаболіт тенофовіра дифосфат ефективно утворювався у печінці собак, його концентрації сягали значень 242 і 153  $\mu\text{M}$  через 4,0 та 24 години після введення дози на 7-й день, відповідно.

У ході 28-денного дослідження токсичності перорального введення дорослим самцям і самкам собак породи бігль автори оцінювали плазмову фармакокінетику тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра, а також рівні тенофовіра у МКПК після щоденного введення транспортеру чи GS-7340-02 у дозах по 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 або 10 мг/кг/добу за допомогою зонда. Повторне введення доз 10 мг/кг/добу у період з 1-го до 28-го дня дозволило визначити нелінійну фармакокінетику тенофовіра алафенаміду fumarату з медіанними значеннями AUC, рівними 0,454 і 0,985  $\mu\text{g}\cdot\text{год}/\text{мл}$ , значеннями  $C_{max}$ , рівними 582 і 1280  $\text{нг}/\text{мл}$ , і значеннями  $T_{1/2}$   $\lambda_z$ , рівними 18 і 23 хв., відповідно. Значення  $C_{max}$  тенофовіра залишались лінійними і після збільшення дози, а також після повторних введень. Розрахункове значення  $T_{1/2}$  тенофовіра дорівнювало 37 год., при цьому дослідники фіксували суттєву акумуляцію тенофовіра після повторних введень. Рівні тенофовіра у МКПК нелінійно зростали при збільшенні дози, проте автори відзначали лінійну кореляцію рівнів тенофовіра у МКПК та відповідних залишкових концентрацій у плазмі. Концентрації у МКПК приблизно у 100 разів перевищували відповідні концентрації у плазмі.

У ході 9-місячного токсикологічного дослідження у собак тенофовіра алафенаміду моноfumarат вводили раз на добу у дозах по 0, 2, 6 і 18 мг/кг/добу. Дозу 18 мг/кг/добу зменшили до 12 мг/кг/добу на 2-й день 7-го тижня у самців та на 2-й день 8-го тижня у самок через тяжкі клінічні прояви, зменшення маси тіла та споживання їжі. Дослідники оцінювали концентрації GS-7340 і тенофовіра у зразках плазми, а також загальну концентрацію тенофовіра у зразках МКПК на 39/40-му тижнях. Після перорального введення доз GS-7340, сполука швидко всмоктувалася і перетворювалася на тенофовір, при цьому пікові концентрації GS-7340 (чистої основи) і тенофовіра у плазмі відзначали вже через 0,5 та 1 годину після введення дози, відповідно. Сполука GS-7340 швидко виводилася з плазми, період напіввиведення у кінцевій фазі не перевищував 1 години. Розрахункове медіанне значення  $T_{1/2}$  тенофовіра на 1-й день було у межах 25-31 год. Плазмова фармакокінетика GS-7340 і тенофовіра після перорального введення самцям і самкам собак була порівнюваною. Зростання плазмових значень  $C_{max}$  і AUC тенофовіра алафенаміду fumarату перевищувало пропорційне дозі у діапазоні доз від 2 до 18/12 мг/кг/добу. Плазмові значення  $C_{max}$  і AUC тенофовіра зростали приблизно пропорційно дозі. Дослідники відзначали деяку (~3-разову) акумуляцію тенофовіра після повторних введень. Концентрації тенофовіра у МКПК можна було виміряти у всіх групах через 24 години після введення дози. Розрахунковий медіанний період напіввиведення загального вмісту тенофовіра з МКПК у кінцевій фазі становив 31 год. (подібно до розрахункового плазмового значення для тенофовіра), а у період відновлення концентрації у МКПК можна було виміряти впродовж максимум 72 годин. Зростання середніх значень AUC загального вмісту тенофовіра у МКПК, нормалізованих за дозою, впродовж 39/40-го тижнів перевищувало пропорційне дозі.

	<p>Мавпи</p> <p>Фармакокінетику після введення одноразових доз тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра, а також фармакокінетику тенофовіра у МКПК оцінювали у макак-резус, яким вводили одноразові пероральні дози GS-7340-02 по 0,5, 5,0 і 50 мг/кг. Рівні тенофовіра алафенаміду і тенофовіра швидко зростали, а значення <math>T_{max}</math> приблизно дорівнювали 0,5 і 1 год., відповідно. Дослідники вимірювали і рівні тенофовіра у МКПК, що зберігалися до 96 год. і були вищими у зразках, оброблених кислотною фосфатазою, що свідчило про значну частку фосфорильованих форм матеріалів, пов'язаних з тенофовіром, у МКПК.</p>
3) розподіл	<p>Ступінь зв'язування тенофовіра алафенаміду fumarату з плазмапротеїнами визначали виключно у плазмі собак і людей. Плазму щурів не використовували, оскільки тенофовіра алафенаміду fumarат був дуже нестабільним у плазмі щурів через присутність великої кількості естераз. Зв'язування тенофовіра алафенаміду fumarату з плазмапротеїнами собак і людей було помірним, частки незв'язаної речовини становили 48,0 і 46,8 %, відповідно. Значення <i>in vitro</i> трохи перевищували результати від 14 до 23 %, отримані <i>ex vivo</i> у зразках плазми людей, які приймали тенофовіра алафенаміду fumarат. У ході досліджень взаємодії відсоток незв'язаного тенофовіра алафенаміду fumarату приблизно дорівнював 20 %.</p> <p>Зв'язування тенофовіра з протеїнами оцінювали у плазмі та сироватці людини за допомогою центрифужної ультрафільтрації. Відсотковий вміст незв'язаного тенофовіра у плазмі людини становив <math>99,3 \pm 3,3</math> %, а у сироватці людини <math>92,8 \pm 3,6</math> %. Отже, тенофовір демонстрував дуже низьке зв'язування з протеїнами плазми та сироватки людини.</p> <p>Дослідження широти розподілу тенофовіра алафенаміду fumarату у тканинах проводили у мишей, щурів та собак.</p> <p>Самцям мишей CD-1 вводили одноразові пероральні дози [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату по 100 мг/кг. У більшості тканин максимальна концентрація досягалася впродовж 1 години після введення дози. Тканини, що демонстрували найвищі максимальні концентрації радіоактивних ізотопів, за винятком шлунково-кишкового тракту, включали печінку, жовчний міхур, сечовий міхур, коркову речовину нирок, нирки та речовину нирок. Найнижчі значення <math>S_{max}</math> відзначали у яечках, головному мозку, жирі (на животі), спинному мозку та речовині головного мозку. Подібні профілі розподілу відзначали й у самців чорних (пігментованих) мишей C57. На відміну від мишей CD-1, у чорних мишей CD57 реєстрували стійкіші концентрації у кристаликах очей, судинній оболонці очних яблук та очах, хоча дослідники не згадували про відмінності розподілу у пігментованій і непігментованій шкірі, чи переважного розподілу тенофовіра алафенаміду fumarату у тканинах, що містять мелатонін.</p> <p>Самцям щурів SD чи Лонг-Еванс перорально вводили 5 мг/кг [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату. Дослідники відзначали швидкий розподіл у більшості тканин пігментованих і непігментованих щурів. Найвищі максимальні концентрації радіоактивних ізотопів реєстрували у корковій речовині нирок, нирках, речовині нирок і печінці. Найнижчі значення <math>S_{max}</math> фіксували у нюховій долі мозку, сім'яних залозах, склоподібному тілі ока, вилочковій залозі, очах, яечках та гардеровій залозі щурів Спрег-Доулі, а також кістках, нюховій долі мозку, сім'яних залозах, жирі (на животі), м'язах, склоподібному тілі ока та очах щурів Лонг-Еванс. Дослідники не згадували про відмінності розподілу у пігментованих і непігментованих тварин, оскільки зв'язування з мелатоніном було малоймовірним. Дослідники оцінювали розподіл тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра у самок у період вагітності та лактації. Ступінь перетинання плацентарного бар'єру тенофовіра алафенаміду fumarатом і тенофовіром вимірювали у ході досліджень ембріо-фетального розвитку у вагітних самок щурів, кролів і мавп. У щурів відзначали чітке зростання концентрацій тенофовіра після</p>



	<p>збільшення дози тенофовіра алафенаміду fumarату. Введення багаторазових доз у ході дослідження з оцінки діапазону доз спричиняло ознаки акумуляції тенофовіра, проте такої акумуляції не відзначали у ході фундаментального дослідження.</p> <p>У кролів реєстрували зростання концентрації тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра після збільшення дози, проте не відзначали свідчень акумуляції.</p> <p>У мавп ступінь перетинання плацентарного бар'єру тенофовіром після підшкірного введення оцінювали у вагітних самок макак-резус. Перетинання плацентарного бар'єру тенофовіром виявилось значним, співвідношення концентрацій у сироватці плода та матері дорівнювало <math>0,17 \pm 0,07</math> (середнє значення <math>\pm</math> СВ) вже приблизно через 30 хвилин після введення дози.</p>
4) метаболізм	<p>Кофактор НАДФН. Дослідники не відзначали свідчень хіральної інверсії.</p> <p>Метаболізм <i>in vivo</i></p> <p>Метаболічні профілі тенофовіра алафенаміду fumarату оцінювали у плазмі, сечі, калі, нирках, печінці та раковинах носу мишей, у плазмі, сечі, жовчі і калі щурів, а також у плазмі, сечі, жовчі, калі, кістках і печінці собак. Профілі метаболітів визначали й у плазмі, сечі та калі людини після прийому одноразових пероральних доз <math>[^{14}C]</math>-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату.</p> <p>Основна частка матеріалів, пов'язаних із препаратом та відзначених у плазмі, сечі та калі всіх видів, припадала на тенофовір, окрім плазми людини, де основним метаболітом була сечова кислота (M27B), вміст якої дорівнював 73,9 % загального значення AUC впродовж 96 годин. Великий вміст сечової кислоти виявили й у плазмі мишей (19,4 %). Основним метаболітом у жовчі щурів був M18, його вміст становив 63 % загальної кількості радіоактивних ізотопів у жовчі. M18 та його окиснений метаболіт M16 були основними метаболітами у жовчі собак, на них припадало 29 і 38 % загального вмісту радіоактивних ізотопів, відзначених у жовчі. Різноманітні окиснювальні метаболіти фіксували й у жовчі собак. Дослідники не виявили унікальних метаболітів відносно людини.</p> <p>Ступінь перетворення тенофовіра на тенофовіра дифосфат оцінювали у МКПК, еритроцитах та клітинах лімфатичних вузлів мавп. Тваринам підшкірно вводили одноразові дози <math>[^{14}C]</math>-міченого тенофовіра по 15, 30 чи 60 мг/кг. МКПК захоплювали тенофовір і анаболізували його з утворенням тенофовіра дифосфату, при цьому внутрішньоклітинні концентрації активного противірусного анаболіта сягали 1,6 <math>\mu</math>M (у групі доз 60 мг/кг). Період напіввиведення тенофовіра дифосфату у ході цього експерименту дорівнював &gt; 50 год. Подібну картину спостерігали й у еритроцитах та клітинах лімфатичних вузлів. Довгий період напіввиведення з клітин підтверджує запропонований режим прийому препарату один раз на день.</p>
5) виведення	<p>Виведення міченого тенофовіра алафенаміду fumarату після перорального введення оцінювали у мишей, щурів і собак.</p> <p>Мишам вводили одноразові пероральні дози <math>[^{14}C]</math>-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату по 100 мг/кг. Через 48 годин після введення доз у сечі та калі виявили 61 % радіоактивних ізотопів. Впродовж 168 годин після введення доз із калом та сечею виділялися у середньому 41,3 та 27,7 % введених ізотопів, відповідно.</p> <p>Самцям щурів Спрег-Доулі з неканюльованими та канюльованими жовчними протоками вводили одноразові пероральні дози <math>[^{14}C]</math>-міченого тенофовіра алафенаміду fumarату по 5 мг/кг. <math>[^{14}C]</math>-мічений тенофовіра алафенаміду fumarат швидко виводився впродовж 24 годин після перорального введення дози. Впродовж 168 годин після введення дози у сечі та калі відзначали у середньому 71,9 і 22,2 % введених радіоактивних ізотопів, відповідно. Середнє загальне виведення радіоактивних ізотопів дорівнювало 96,7 %.</p>

	<p>Виведення міченого тенофовіра оцінювали після внутрішньовенного введення доз по 10 і 50 мг/кг щурам Спрег-Доулі. Виведення з сечею становило <math>85,2 \pm 7,63</math> % через 24 год. і <math>92,7 \pm 6,77</math> % через 7 днів після введення дози. Виведення з калом становило <math>3,18 \pm 1,85</math> % через 24 год. і <math>4,48 \pm 1,89</math> % через 7 днів після введення дози.</p> <p>Виведення [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду фумарату оцінювали після введення одноразових пероральних доз 14C-міченого тенофовіра алафенаміду фумарату по 15 мг/кг самцям собак з канюльованими та канюльованими жовчними протоками. Основна частка [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду фумарат швидко виводилася впродовж 48 годин після введення пероральної дози. Впродовж 168 годин після введення дози з калом та сечею виводилося у середньому <math>37,4</math> і <math>35,9</math> % введених радіоактивних ізотопів, відповідно. Загальне середнє виведення радіоактивних ізотопів дорівнювало <math>80,4</math> %.</p> <p>Виведення міченого тенофовіра оцінювали у собак після одноразового внутрішньовенного введення доз [14C]-міченого тенофовіра. Первинним шляхом виведення були нирки, у сечі виявили <math>70,03</math> % загальної кількості радіоактивних ізотопів. Загальне виведення ізотопів з калом дорівнювало <math>0,42</math> % загальної дози.</p> <p>Виведення з жовчю: виведення з жовчю після перорального введення міченого тенофовіра алафенаміду фумарату оцінювали у ході досліджень у щурів та собак. Впродовж 168 годин після введення дози з калом, сечею і жовчю виводилося у середньому <math>3,2</math> та <math>2,11</math> % введених радіоактивних ізотопів, відповідно. Середнє загальне виведення ізотопів після перорального введення доз щурам з канюльованими жовчними протоками дорівнювало <math>99,9</math> %.</p> <p>Виведення [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду фумарату оцінювали після введення одноразових пероральних доз 14C-міченого тенофовіра алафенаміду фумарату по 15 мг/кг самцям собак. Впродовж 168 годин після введення доз із калом, сечею та жовчю виводилося у середньому <math>42,7</math>, <math>26,5</math> і <math>14,0</math> % введених радіоактивних ізотопів, відповідно. З урахуванням кількості ізотопів, що виводилися з сечею та жовчю, як мінімум <math>41</math> % введеної пероральної дози всмоктувався. Виведення з жовчю здається основним шляхом виведення [14C]-міченого тенофовіра алафенаміду фумарату у собак. Загальне виведення радіоактивних ізотопів у собак з канюльованими жовчним протоками дорівнювало <math>86,2</math> %.</p> <p>Виділення у молоко: ступінь виділення тенофовіра оцінювали у самок мавп. Дослідники збирали молоко 2 дорослих самок макак-резус після одноразового підшкірного введення <math>30</math> мг/кг тенофовіра. Тенофовір виділявся у молоко, при цьому значення АУС у молоці становило від <math>18,6</math> до <math>21,5</math> % від значення у плазмі.</p>
<p>б) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)</p>	<p>Потенційну здатність тенофовіра алафенаміду фумарату брати участь у лікарських взаємодіях оцінювали у ряді випробувальних систем <i>in vitro</i>. Дослідники вивчали потенційну здатність тенофовіра алафенаміду фумарату чи його метаболітів інгібувати чи індукувати ферменти СYP і слугувати субстратами чи інгібіторами ксенобіотичних транспортерів. Автори визначали і вплив інших лікарських засобів, у тому числі інших протівірусних препаратів, які можна приймати одночасно з тенофовіра алафенаміду фумаратом, на стабільність тенофовіра у кишечнику і його всмоктування. З урахуванням даних, зібраних за допомогою тканин людини <i>ex vivo</i>, вміст незв'язаного тенофовіра алафенаміду фумарату у тканинах людини оцінювали як <math>20</math> % загальної системної концентрації.</p> <p>Інгібування ферментів цитохрому P450 та UGT1A1</p> <p>Потенційну здатність тенофовіра алафенаміду фумарату і тенофовіра інгібувати метаболізм лікарських засобів, опосередкований СYP, у людини досліджували <i>in vitro</i> за допомогою мікросомальних фракцій печінки та фермент-селективної активності (дослідження № AD-120-2003 і V990172-104). Дослідники оцінювали інгібування таких ферментів</p>

CYP450, як CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 і CYP3A. Тенофовіра алафенаміду фумарат у концентрації 25  $\mu\text{M}$  демонстрував слабе інгібування CYP3A зі значеннями  $\text{IC}_{50}$  у діапазоні від 7,4 до 7,6  $\mu\text{M}$ . Тенофовір не інгібував CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1 і CYP3A.

У ході дослідження № AD-120-2040 автори вивчали потенційну здатність тенофовіра алафенаміду фумарату інгібувати ферменти CYP людини з урахуванням механізму його дії. Тенофовіра алафенаміду фумарат у концентрації 50  $\mu\text{M}$  не впливав на інгібування жодного з випробуваних ізоферментів (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 і CYP2D6). Тенофовіра алафенамід не інгібував UGT1A1 у діапазоні концентрацій до 50  $\mu\text{M}$  ( $\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$ ) (дослідження № AD-120-2006).

#### Ферментологія метаболізму

Щоб визначити, чи може тенофовіра алафенаміду фумарат метаболізуватися естеразами кишечника та/або ферментами CYP після всмоктування у кишечнику, дослідники оцінювали вплив інших інгібіторів IP ВІЛ та CYP у ході дослідження № AD120-2027. Тенофовіра алафенаміду фумарат інкубували з IP ВІЛ-1 (атазанавіром чи дарунавіром) або інгібіторами CYP (ритонавіром чи кобіцистатом) у концентраціях до 100  $\mu\text{M}$ . Стабільність тенофовіра алафенаміду фумарату не змінювалася у присутності цих інгібіторів CYP чи IP.

Щоб визначити, які ферменти беруть участь у активації тенофовіра алафенаміду фумарату у гепатоцитах людини, тенофовіра алафенаміду фумарат інкубували з відомими інгібіторами CatA (схваленими інгібіторами вірусу гепатиту С NS3 телапревіром і боцепревіром), інгібітором CES1 (біс-р-нітрофенілфосфатом БНФФ), інгібітором CYP3A4 і P-gr (кобіцистатом) чи комбінацією телапревіра і БНФФ (дослідження № AD-120-2031). БНФФ інгібував метаболізм тенофовіра алафенаміду фумарату дозозалежним чином. Інкубація з телапревіром, боцепревіром чи кобіцистатом не впливала на утворення активного складника тенофовіра алафенаміду фумарату тенофовіра дифосфату. Комбінування БНФФ з телапревіром спричиняло посилення інгібування. Результати цього дослідження дозволяють дійти висновку про первинний гідроліз тенофовіра алафенаміду фумарату за участю CES1 і CatA.

#### Індукційний потенціал

Здатність тенофовіра алафенаміду фумарату індукувати ферменти чи активність CYP, P-gr чи UGT1A1 вивчали за допомогою культивованих гепатоцитів людини, оброблених 1, 10 і 100  $\mu\text{M}$  розчином тенофовіра алафенаміду фумарату один раз на добу впродовж 3 послідовних днів (дослідження № AD-120-2032).

Дослідники виявили свідчення цитотоксичності тенофовіра алафенаміду фумарату після обробки 100  $\mu\text{M}$  розчином зі зниженою активністю CYP і підвищеними рівнями мРНК. Після обробки 10  $\mu\text{M}$  розчином тенофовіра алафенаміду фумарату рівні мРНК CYP1A2 і CYP3A4 зростали у 3,0 та 8,3 разів, що відповідало 3 % і 6 % зростанню контрольних рівнів. Це свідчить про наявність індукційного потенціалу щодо ізоферментів CYP у розчині тенофовіра алафенаміду фумарату у концентрації 10  $\mu\text{M}$ , а також про відсутність такого потенціалу чи лише незначний потенціал у концентрації 1  $\mu\text{M}$ . Дослідники не виявили свідчень змін індукційного потенціалу P-gr чи UGT1A1 мРНК.

Потенційна здатність тенофовіра алафенаміду фумарату індукувати ферменти, що беруть участь у метаболізмі лікарських засобів, а також транспортери ліків в організмі людини шляхом активації арил-вуглеводневих чи прегнан-Х-рецепторів людини оцінювали у системах, створених на основі клітин (дослідження № AD120-2005). У концентрації 50  $\mu\text{M}$  тенофовіра алафенаміду фумарат міг лише активувати прегнан-Х-рецептори при 23 % активації позитивного контролю (рифампіцину). Цей вплив зменшувався до 5 % при концентрації тенофовіра алафенаміду

	<p>фумарату 15 <math>\mu</math>M. Активації арил-вуглеводневих рецепторів не відзначали після обробки 50 <math>\mu</math>M розчином тенофовіра алафенаміду фумарату. Тенофовіра алафенаміду фумарат мало ймовірно активуватиме ксенобіотичні рецептори прегнан-Х- чи арил-вуглеводневих рецепторів.</p>
7) інші фармакокінетичні дослідження	Не застосовно.
4. Токсикологія:	
1) токсичність у разі одноразового введення	<p>Самцям і самкам шурів Спрег-Дуолі (5/стать/групу) перорально вводили дози тенофовіра алафенаміду фумарату (15 мл/кг) по 100, 300 чи 1000 мг/кг (80, 240, 800 мг/кг еквіваленту чистої основи/кг) з наступним 14-денним періодом обсервації (дослідження номер R990185). Максимальну дозу, що не спричиняла розвитку побічних реакцій (NOAEL) вважали рівною 1000 мг/кг.</p> <p>Самцям і самкам собак породи бігль (1/стать/групу) перорально вводили одноразові дози тенофовіра алафенаміду фумарату (15 мл/кг) по 30, 90 чи 270 мг/кг (24, 72, 216 мг еквіваленту чистої основи/кг) з наступним 14-денним періодом обсервації (дослідження номер D990181). Після введення доз 270 мг/кг автори прижиттєво відзначали слиновиділення, блювання, зниження активності, тремор, порушення координації, що минали через 2 дні після введення. Дослідники відзначали й зростання рівня азоту сечовини крові після введення доз 270 мг/кг (на 2-й, але не на 14-й день дослідження). Маса вилокової залози після введення всіх доз була порівнюваною з контрольним зразком, але у самців, які отримували дози по 90 і 270 мг/кг, розвинулася атрофія вилокової залози. Зміни ниркових каналців були представлені базофілією та/або каріомегалією у самців, які отримували дози 270 мг/кг, та самок, які отримували дози 270 і 90 мг/кг. Значення NOAEL вважали рівним 30 мг/кг.</p>
2) токсичність у разі повторних введень	<p>Собаки</p> <p>4-тижневе дослідження токсичності після перорального введення Щоденне пероральне введення тенофовіра алафенаміду фумарату (монофумарату) у дозах по 0,1, 0,3, 1, 3 чи 10 мг/кг/добу (0,08, 0,24, 0,8, 2,4, 8 мг еквіваленту чистої основи/кг/добу) (у ході дослідження номер D990175) самцям і самкам собак породи бігль (4/стать/групу) впродовж 28 днів спричиняло зростання рівня АСТ у самок з групи 10 мг/кг/добу, а також каріомегалію ниркових каналців та/або базофілію у тварин обох статей з групи 10 мг/кг/добу і у 1 самця та 1 самки з групи 3 мг/кг/добу. Середні рівні кісткової лужної фосфатази, N-телопептиду, паратиреоїдного гормону, 1,25-дигідроксिवітаміну D і 25-гідроксिवітаміну D, як правило, були подібними у всіх групах. Дослідники не відзначали впливу на денситометричні параметри кісток, виміряні методом периферичної кількісної комп'ютерної томографії (наприклад, мінеральний склад чи мінеральну щільність кісток, виміряні за допомогою тонкого зрізу, а також склад трабекулярної та кортикальної / субкортикальної речовини). Значення NOAEL вважали рівним 1 мг/кг/добу. Після введення нижчих доз визначали лише значення <math>S_{max}</math> і <math>T_{max}</math> тенофовіра алафенаміду фумарату, оскільки більшість результатів були нижчими за межу кількісного визначення. Тенофовіра алафенаміду фумарат швидко всмоктувався на 1-й день, медіанні пікові значення, зареєстровані через 0,25-0,5 год. після введення доз по 1,0, 3,0 і 10 мг/кг/добу, дорівнювали 18,5, 38,7 і 0,582 <math>\mu</math>г/мл, відповідно. Пікові концентрації тенофовіра відзначали впродовж 1 години. На 28-день введення доз 10 мг/кг/добу значення <math>S_{max}</math> і <math>AUC_{0-24}</math> тенофовіра дорівнювали 0,44 <math>\mu</math>г/мл та 5,26 <math>\mu</math>г<math>\cdot</math>год./мл, відповідно (у самців і самок разом). Порівняння результатів, отриманих на 1-й та 28-й дні введення доз 10 мг/кг/добу, демонстрували потенційну акумуляцію після введення повторних доз. Концентрацію тенофовіра у МКПК (18,6 <math>\mu</math>г/мл) можна було виміряти через 28 днів введення тенофовіра алафенаміду фумарату у дозах 10 мг/кг/добу.</p>

У ході 39-тижневого дослідження токсичності після перорального введення з 3-місячним періодом відновлення самцям і самкам собак породи бігль вводили добові пероральні дози (10 мл/кг) тенофовіра алафенаміду fumarату (монофумарату) по 2, 6 чи 18/12 мг/кг/добу (1,6, 4,8, 14,4/9,6 еквіваленту чистої основи/кг/добу) впродовж 13 тижнів (2/стать/групу) чи 39 тижнів (4/стать/групу). Дозозалежне зменшення проросту маси тіла через 39 тижнів відзначали у всіх самців, які отримували всі дози, та у самок, які отримували дози по 18/12 мг/кг/добу. Через розвиток тяжких клінічних ознак і зниження маси тіла у групі високих доз на 45-й та 51-й день їх зменшили з 18 до 12 мг/кг/добу у самців і самок, відповідно. Дослідники відзначали 2 випадки незапланованої смерті (2 самців, які отримували дози 18 мг/кг). Один із цих випадків стався через помилку при введенні за допомогою зонду. Іншого самця, який отримував дози 18 мг/кг, приспали на 45-й день дослідження через погіршення його клінічного стану, яке вважали пов'язаним із терапією. Перед аутопсією тварина демонструвала зниження маси тіла, зменшення споживання їжі, зростання рівнів АСТ, глобуліну, тригліцеридів, холестерину, загального білірубіну, а також зменшення числа моноцитів і тромбоцитів. При макроскопії дослідники реєстрували двостороннє збільшення підщелепних лімфатичних вузлів, що гістологічно спричиняло ознаки незначного запалення і плазмацитозу. Гістопатологічні результати включали легкий мононуклеарний інфільтрат на задній судинній оболонці ока, дегенерацію кори та канальців нирок, атрофію лімфоїдної тканини, пов'язаної зі слизовою оболонкою кишечника, а також брижових лімфатичних вузлів та вилочкової залози, що супроводжувалась інфільтрацією макрофагів, атрофію слизової оболонки залози дна шлунка, гіперплазію слизової оболонки пілоричної залози, а також дегенерацію слизової оболонки та/або регенерацію сліпої і товстої кишки.

У собак, яким вводили дози 18/12 мг/кг/добу, дослідники відзначали зростання середнього рівня АСТ (~2,6-разове у порівнянні з контролем) та загального рівня білірубіну (~1,6-разове у порівнянні з контролем). У групі 2 мг/кг/добу не відзначали змін ЕКГ. На 39-му тижні автори відзначали продовження інтервалу PR, пов'язане з введенням доз по 6 (~+13%) і 18/12 мг/кг/добу (~+24 %). Тенофовіра алафенаміду fumarат спричиняв зменшення частоти серцевих скорочень, а введення доз по 18/12 мг/кг/добу було пов'язане з подовженням інтервалу QT. За даними заявника, ці зміни пов'язані зі зниженням сироваткового рівня трийодотироніну (Т3). Після завершення 13-тижневого періоду відновлення сироваткові значення Т3 поверталися до рівнів, подібних до зафіксованих у контрольній групі.

Заявник зазначав, що всі кісткові маркери демонстрували зменшення, залежне від віку. Через 3 місяці дослідники фіксували деякі відмінності середніх значень показників утворення кісток (рівнів скелетної лужної фосфатази [сЛФ]) та маркерів резорбції кісткової тканини (вільного деоксипіридиноліну та N-телопептиду сечі) у всіх групах у порівнянні з контролем. Через 9 місяців автори відзначали статистично значуще зростання середніх рівнів маркера резорбції кісткової тканини N-телопептиду сечі тварин обох статей, які отримували дози по 18/12 мг/кг/добу ( $p \leq 0,05$ ) у порівнянні з контролем. Подібну, проте не статистично значущу тенденцію відзначали й у тварин, які отримували дози 6 мг/кг/добу, що дозволяє припустити дозозалежність відповіді. Дослідники не відзначали значних змін рівня вільного деоксипіридиноліну і жодного стабільного впливу на нього (зростання) у терапевтичних групах. Що стосується маркерів утворення, сироваткові рівні АЛП у всіх групах були порівнюваними з контрольною групою, окрім одного самця, який отримував дози 18/12 мг/кг/добу і демонстрував рівні АЛП, відмінні від контрольної групи. В кінці періоду відновлення значення маркерів кісткової тканини поверталися до рівнів, нижчих за відзначені у контрольній групі, що відповідали віку і ступеню відновлення

тварин. Після введення впродовж 39 тижнів доз 18/12 мг/кг/добу один раз на добу молодим собакам породи бігль дослідники відзначали зміни денситометричних параметрів кісткової тканини (вимірних методом двоенергетичної рентгенівської абсорбції [ДРА]), що відображали первинний вплив на ріст кісток. Заявник вважав ці зміни вторинними відносно впливу на масу тіла. Дослідники відзначали гістопатологічні зміни нирок, очей, легенів і селезінки як через 13, так і через 39 тижнів. Печінка та, ймовірно, наднирники були іншими органами-мішенями, ідентифікованими через 39 тижнів. Після 13-тижневого введення доз по 6 чи 18/12 мг/кг/добу дослідники відзначали дегенерацію ниркових каналців і коркової речовини / регенерацію і каріомегалію, після 39 тижнів результати були подібними. Після введення 6 мг/кг/добу ці зміни були мінімальними чи легкими (1-2 ступеня) у тварин обох статей. Після введення 18/12 мг/кг/добу тяжкість цих змін варіювалася від легкої до середньої (2-3 ступеня). Після 39-тижневого введення подібні вогнища каріомегалії та дегенерації каналців (мінімального 1 ступеня) відзначали й у 2 самців, які отримували дози 2 мг/кг/добу. Мінімальну чи легку інфільтрацію (1-2 ступеня) мононуклеарних клітин судинної оболонки задньої частини ока відзначали у деяких тварин, які отримували дози 18/12 мг/кг/добу, і після завершення обох періодів введення. Після 13-тижневого введення доз 18/12 мг/кг/добу у легенях реєстрували альвеолярний гістіоцитоз. Додаткові результати дослідження легенів фіксували після завершення 39-тижневого введення, вони включали акумуляцію макрофагів з пігментом, відзначену переважно у групі 18/12 мг/кг/добу, а також у кількох тварин з груп 6 чи 2 мг/кг/добу. Інфільтрацію макрофагів, наповнених пігментом, дуже часто відзначали у білій пульпі селезінки тварин з групи 18/12 мг/кг/добу після завершення обох періодів введення. Після завершення 39-тижневого введення дослідники реєстрували ацидофільні включення цитоплазматичних клітин у центральній долі печінки у групі 18/12 мг/кг/добу, а також відкладення пігментів у макрофагах печінки та/або синусоїдальних клітинах (клітинах Купффера) у групі 18/12 мг/кг/добу. Подібні відкладення пігментів відзначали й у синусоїдальних клітинах (тканинних макрофагах) наднирників деяких тварин з групи 18/12 мг/кг/добу. Заявник зазначав, що причини такого внутрішньоклітинного відкладення пігментів у тканинних макрофагах легенів, печінки, селезінки та наднирників невідомі, але це може свідчити про акумуляцію досліджуваної речовини та/або її метаболіту(-ів) у цих клітинах мононуклеарної фагоцитарної системи. Після завершення 13-тижневого періоду відновлення гістологічні зміни, пов'язані з досліджуваною речовиною, все ще відзначали у нирках, легенях та печінці, проте їхня частота і тяжкість зменшилися. У групі 18/12 мг/кг/добу дослідники реєстрували мінімальну інфільтрацію гістіоцитів у деяких органах (очах [у хоріоїдному сплетенні, циліарному тілі], легенях та селезінці) деяких тварин. Прижиттєві результати офтальмологічної оцінки були нормальними. Значення NOAEL після 39 тижнів введення вважали рівним 2 мг/кг/добу. Результати, пов'язані з терапією, були повністю чи частково оборотними після завершення 13-тижневого періоду відновлення. Токсикокінетичний аналіз демонстрував, що тенофовіра алафенаміду фуларат швидко всмоктувався і перетворювався на тенофовір після перорального введення, при цьому пікові концентрації тенофовіра алафенаміду фуларату і тенофовіра у плазмі досягалися вже через 0,5 і 1 годину після введення, відповідно. Системна концентрація тенофовіра алафенаміду фуларату була дозозалежною. Зростання плазмових значень C<sub>max</sub> і AUC<sub>GS-7340</sub> перевищувало пропорційне дозі у всьому діапазоні введених доз. Плазмові значення C<sub>max</sub> і AUC зростали приблизно пропорційно введеним дозам. Дослідники відзначали деяку акумуляцію тенофовіра після введення повторних доз (приблизно 3-разову). Відмінностей концентрації у самців та самок не відзначали.

Концентрації тенофовіра у МКПК можна було виміряти через 24 год. після введення всіх доз. Медіанний період напіввиведення загального вмісту тенофовіра алафенаміду fumarату з МКПК у кінцевій фазі вважали рівним 31 год. (подібно до плазмового значення для тенофовіра) з урахуванням концентрацій у МКПК тварин у період відновлення, які вимірювали впродовж максимум 72 годин. Зростання середніх значень AUC загального вмісту тенофовіра у МКПК, нормалізованих за дозою, впродовж 39/40-го тижнів перевищувало пропорційне дозі.

**Примати**  
 4-тижневе дослідження токсичності після перорального введення макакам-резус  
 Тваринам вводили тенофовіра алафенаміду fumarат (GS-7340-02) у дозах по 3 чи 30 мг/кг/добу (2,4, 24 мг еквіваленту чистої основи/кг/добу) чи тенофовір у дозах 15 мг/кг/добу. За даними компанії дослідники не реєстрували жодних прижиттєвих побічних реакцій чи впливу на масу тіла, біохімічний склад сироватки або плазми, гематологічні показники (в тому числі субпопуляції лімфоцитів, визначені методом проточної цитометрії), стандартні параметри сечі, масу органів, а також параметри, пов'язані з кістковою тканиною, чи гістологічні параметри, чітко пов'язаного з дослідним препаратом. Автори відзначали 1 випадок смерті тварини, яка отримувала тенофовіра алафенаміду fumarат у дозах 30 мг/кг/добу, цей випадок не вважали пов'язаним із дослідним препаратом (токсикологічне резюме не містить жодної детальної інформації). Зразки нирок, печінки та скелетної мускулатури, проаналізовані щодо свідчень мітохондріальної цілісності, не демонстрували жодних дефектів. Значення NOAEL тенофовіра алафенаміду fumarату вважали рівним 30 мг/кг/добу. Значення C<sub>max</sub> тенофовіра алафенаміду fumarату нелінійно змінювалися при збільшенні дози, їхнє зростання перевищувало прогнозоване. Значення AUC<sub>tau</sub> тенофовіра алафенаміду fumarату можна було розрахувати лише у групі 30 мг/кг/добу, середнє значення дорівнювало 1,03 µg·год./мл, а кінцевий період напіввиведення становив 0,335 год. Відмінностей концентрації у самців та самок не відзначали. На 28-й день значення C<sub>max</sub> і AUC тенофовіра демонстрували зростання, що трохи перевищувало пропорційне дозі. Порівняння результатів, отриманих на 1-й та 28-й дні, не демонструвало жодних статистичних відмінностей C<sub>max</sub> чи AUC, що свідчить про відсутність змін кліренсу у часі. Відмінностей концентрації у самців та самок не відзначали.

3) генотоксичність: *in vitro*

Дослідження генотоксичності

Дослідження	Випробув. система	Концентрації / діапазон концентрацій / метаболічна система	Результати
Мутації генів в бактеріях – дослідження НЛП номер V990212	TA98, TA100, TA1535, TA1537 і WP2uvrA	100, 333, 1000, 3330, 5000 µg/планшет +/-S9	Негативні
Лімфома у мишей – дослідження НЛП номер V990213	L5178Y/TK	До 5000 µg/мл (4000 µg еквіваленту чистої основи/мл), +/-S9	Негативні
Мікронуклеус у мишей – дослідження НЛП номер M2000113	Самці мишей / CD-1(ICR) BR	500 і 1000 мг/кг (400 і 800 мг еквіваленту чистої основи/кг) і 2000 мг/кг	Негативні

	Тенофовіра алафенаміду fumarat демонстрував негативні результати у ході 2 досліджень генотоксичності <i>in vitro</i> та одного дослідження <i>in vivo</i> .																
<i>in vivo</i> (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)	<p>Дослідження генотоксичності</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Дослідження</th> <th>Випробув. система</th> <th>Концентрації / діапазон концентрацій / метаболічна система</th> <th>Результати</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Мутації генів в бактеріях – дослідження НЛП номер V990212</td> <td>TA98, TA100, TA1535, TA1537 і WP2uvrA</td> <td>100, 333, 1000, 3330, 5000 μг/планшет +/-S9</td> <td>Негативні</td> </tr> <tr> <td>Лімфома у мишей – дослідження НЛП номер V990213</td> <td>L5178Y/TK</td> <td>До 5000 μг/мл (4000 μг еквіваленту чистої основи/мл), +/-S9</td> <td>Негативні</td> </tr> <tr> <td>Мікронуклеус у мишей – дослідження НЛП номер M2000113</td> <td>Самці мишей / CD-1(ICR) BR</td> <td>500 і 1000 мг/кг (400 і 800 мг еквіваленту чистої основи/кг) і 2000 мг/кг</td> <td>Негативні</td> </tr> </tbody> </table> <p>Тенофовіра алафенаміду fumarat демонстрував негативні результати у ході 2 досліджень генотоксичності <i>in vitro</i> та одного дослідження <i>in vivo</i>.</p>	Дослідження	Випробув. система	Концентрації / діапазон концентрацій / метаболічна система	Результати	Мутації генів в бактеріях – дослідження НЛП номер V990212	TA98, TA100, TA1535, TA1537 і WP2uvrA	100, 333, 1000, 3330, 5000 μг/планшет +/-S9	Негативні	Лімфома у мишей – дослідження НЛП номер V990213	L5178Y/TK	До 5000 μг/мл (4000 μг еквіваленту чистої основи/мл), +/-S9	Негативні	Мікронуклеус у мишей – дослідження НЛП номер M2000113	Самці мишей / CD-1(ICR) BR	500 і 1000 мг/кг (400 і 800 мг еквіваленту чистої основи/кг) і 2000 мг/кг	Негативні
Дослідження	Випробув. система	Концентрації / діапазон концентрацій / метаболічна система	Результати														
Мутації генів в бактеріях – дослідження НЛП номер V990212	TA98, TA100, TA1535, TA1537 і WP2uvrA	100, 333, 1000, 3330, 5000 μг/планшет +/-S9	Негативні														
Лімфома у мишей – дослідження НЛП номер V990213	L5178Y/TK	До 5000 μг/мл (4000 μг еквіваленту чистої основи/мл), +/-S9	Негативні														
Мікронуклеус у мишей – дослідження НЛП номер M2000113	Самці мишей / CD-1(ICR) BR	500 і 1000 мг/кг (400 і 800 мг еквіваленту чистої основи/кг) і 2000 мг/кг	Негативні														
4) канцерогенність:	<p>Згідно наукових рекомендацій, схвалених Комітетом з лікарських засобів для медичного застосування (ЕМА/СНМР/SAWP/629722/2012; ЕМЕА/Н/SA/2410/1/2012/1), при реєстрації тенофовіра алафенаміду fumarату немає необхідності проводити дослідження канцерогенності, оскільки дані щодо концентрацій тенофовіра алафенаміду fumarату у щурів і мишей TgRasH2 відсутні, а нижча концентрація тенофовіра у щурів та мишей порівнювана з концентрацією тенофовіра дизопроксилу fumarату.</p> <p>Щоденне введення тенофовіра дизопроксилу fumarату у дозах до 300 мг/кг/добу впродовж 104 тижнів не спричиняло жодних ознак канцерогенності у мишей. Після введення 600 мг/кг/добу відзначали низьку частоту розвитку пухлин дванадцятипалої кишки, ймовірно, пов'язаних з високою місцевою концентрацією дослідного препарату у шлунково-кишковому тракті. Щоденне введення тенофовіра дизопроксилу fumarату щурам у дозах до 300 мг/кг/добу не спричиняло жодних ознак канцерогенності.</p>																
довгострокові дослідження	Не застосовно.																
короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості	Не застосовно.																
додаткові дослідження	Не застосовно.																
5) репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	<p>Репродуктивну і розвиткову токсичність тенофовіра алафенаміду fumarату оцінювали у ході імплантаційного дослідження фертильності і раннього ембріонального розвитку у щурів, а також у ході досліджень ембріо-фетального розвитку у щурів та кролів. Згідно наукових рекомендацій, схвалених Комітетом з лікарських засобів для медичного застосування (ЕМА/СНМР/SAWP/214541/2013; ЕМЕА/Н/SA/2410/1/FU/1/2013/1), при реєстрації тенофовіра алафенаміду fumarату немає необхідності проводити дослідження пері / постнатального розвитку, оскільки дані щодо концентрацій тенофовіра алафенаміду fumarату у щурів відсутні, а нижча концентрація тенофовіра у щурів та мишей порівнювана з концентрацією тенофовіра дизопроксилу fumarату.</p>																



<p>вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток</p>	<p>Дослідження фертильності та загальної репродуктивної токсичності перорального введення тенофовіра алафенаміду fumarату щурам Спрег-Доулі (дослідження номер TX-120-2012).</p> <p>Самцям і самкам щурів Crl:CD(SD) вводили по 20, 80 чи 160 мг еквіваленту чистої основи/кг/добу (22, 90, 180 мг тенофовіра алафенаміду (тенофовіра алафенаміду fumarату) геміfumarату/кг/добу. Після принаймні 10 тижнів введення самців приспали і проаналізували результати. Репродуктивні органи щурів зважували після оцінки рухливості та загальної концентрації сперматозоїдів. Репродуктивну функцію самців і самок оцінювали з урахуванням результатів підтвердження їх спарювання та вагітності. Дослідники відзначали деякий вплив введення на масу тіла самців, які отримували дози по 80 і 160 мг/кг/добу, та самок, які отримували дози 160 мг/кг/добу впродовж усього дослідження.</p> <p>Відмінностей статевого циклу до спарювання не відзначали. Дослідники не реєстрували жодних відмінностей репродуктивних параметрів самців чи самок, пов'язаних із досліджуваним препаратом. Також автори не відзначали жодного впливу досліджуваного препарату на параметри матки і плода чи значущих відмінностей маси репродуктивних органів самок. Дослідники фіксували незначне збільшення абсолютної маси яєчок (значне зростання (9 %) відзначали лише для відкоригованої середньої маси лівого яєчка) після введення доз 160 мг/кг/добу. Заявник вважав цей результат пов'язаним із досліджуваним препаратом, але не побічним явищем, оскільки дослідники не реєстрували впливу введення на масу чи функцію інших репродуктивних органів. Автори не відзначали жодного впливу на середню епидидимальну рухливість чи концентрацію сперматозоїдів, пов'язаного з досліджуваним препаратом. Значення NOAEL токсичності у самців і самок вважали рівним 80 мг/кг/добу. Значення NOAEL репродуктивної та ранньої ембріональної токсичності тенофовіра алафенаміду fumarату вважали рівним 160 мг/кг/добу.</p>
<p>ембріотоксичність</p>	<p>Дослідження ембріо-фетального розвитку після перорального введення тенофовіра алафенаміду fumarату щурам (дослідження номер TX-120-2002)</p> <p>Чотирьом групам, що склалися з 25 вагітних самок щурів Crl:CD(SD) вводили добові дози тенофовіра алафенаміду fumarату (моноfumarату) за допомогою зонду з 6-го по 17-й день включно. Цільові рівні доз дорівнювали 0 (контрольний транспортер), 25, 100 і 250 мг/кг/добу. Аналіз складу доз продемонстрував, що кожна тварина з групи 5 мг/кг/добу з 5-го по 8-й день терапії отримувала концентрацію GS-7340-02, рівну 3,85 мг/мл, замість 5 мг/мл внаслідок введення у ці дні добових доз по 19,3 мг/кг/добу (77 % цільової дози). Аналіз складу доз продемонстрував, що з 4-го по 7-й день терапії кожна тварина з групи 20 мг/кг/добу отримувала концентрацію GS-7340-02, рівну 12,9 мг/мл, замість 20 мг/мл внаслідок введення у ці дні добових доз по 64,6 мг/кг/добу (65 % цільової дози).</p> <p>У групі 250 мг/кг/добу фіксували статистично значуще зменшення числа тварин з неповним окостенінням міжпарієнтальних та під'язикових кісток. Частота розвитку інших незначних скелетних аномалій була порівнюваною з контрольною групою. Маса тіла, приріст маси тіла та споживання їжі у цій групі значно зменшувалися впродовж періоду введення. На 21-й день середня маса тіла у групі 250 мг/кг/добу була на 10 % нижчою, ніж у контрольній групі. Середня відкоригована маса тіла (маса тіла на 21-й день мінус маса вагітної матки) і приріст середньої відкоригованої маси тіла (приріст маси тіла з 6-го по 21-й день мінус маса вагітної матки) також був нижчим у групі 250 мг/кг/добу, а відкоригована середня маса тіла на 21-й день була на 10 % нижчою, ніж у контрольній групі. Маса плода (самців, самок і обох статей) знижувалася дозозалежно і залишалася у межах діапазону ретроспективних контрольних даних, проте маса плода у групі</p>

	<p>250 мг/кг/добу була на нижній межі цього діапазону. Тенофовіра алафенаміду фумарат не впливав на частоту розвитку великих дефектів плода, а також незначних зовнішніх, вісцеральних та скелетних аномалій. Варіанти сегментів груднини (1-4 та 5-6) зростали у групі 250 мг/кг/добу.</p> <p>У підсумку, після введення 250 мг/кг/добу дослідники відзначали зменшення маси тіла плода, пов'язане з деяким зменшенням швидкості окостеніння. У ході цього дослідження не фіксували свідчень ембріолетальності чи тератогенності, пов'язаних з тенофовіра алафенаміду фумаратом. Значення NOAEL тенофовіра алафенаміду фумарату для матері та ембріофетального розвитку вважали рівним 100 мг/кг/добу, що дозволило отримати значення AUC<sub>0-t</sub> тенофовіра і тенофовіра алафенаміду фумарату на 17-день, рівні 17,4 і 0,2 <math>\mu\text{г}\cdot\text{год}/\text{мл}</math>, відповідно.</p> <p>Всі плазмові концентрації тенофовіра алафенаміду фумарату у групі 25 мг/кг/добу не перевищували меж кількісного визначення. Концентрації тенофовіра алафенаміду фумарату зростали при збільшенні доз із 25 до 250 мг/кг/добу. Концентрації тенофовіра зростали при збільшенні доз тенофовіра алафенаміду фумарату з 25 до 250 мг/кг/добу.</p>
пренатальна і постнатальна токсичність	Враховуючи відсутність пери / постнатальних досліджень тенофовіра алафенаміду фумарату, публікації щодо препарату повинні містити репродуктивні дані про тенофовіра дизопроксил фумарат (тобто описувати зниження індексу виживаності і маси посліду у ході досліджень пери / постнатальної токсичності доз, токсичних для матері).
дослідження, при яких препарат уводиться потомству (нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія	Не застосовно.
б) місцева переносимість	<p>У ході визначення помутніння та проникності рогівки великої рогатої худоби <i>in vitro</i> з 4-годинною інкубацією тенофовіра алафенаміду фумарат (GS-7340-03) демонстрував час подразнення <math>21,0 \pm 8,7</math> год., його вважали некорозивним / нетяжким подразнювачем очей.</p> <p>У ході дослідження подразнення шкіри кролів тваринам застосовували приблизно 0,5 г тенофовіра алафенаміду фумарату (GS-7340-03) шляхом одноразового 4-годинного, напівзакритого нашкірного нанесення з наступною обсервацією впродовж 4 днів (дослідження номер ТХ-120-2011). У жодної тварини дослідники не відзначали жодних місцевих шкірних реакцій впродовж усього дослідження. Розрахований індекс первинного подразнення дорівнював 0,0, тенофовіра алафенаміду фумарат класифікували як «такий, що не подразнює».</p>
7) додаткові дослідження токсичності:	
антигенність (утворення антитіл)	<p>Антигенність</p> <p>Тенофовіра алафенаміду фумарат (GS-7340-03) наносили самкам щурів у дозах 10, 25 чи 50 % (м/об). Тварини отримували тенофовіра алафенаміду фумарат щоденно шляхом нанесення 25 <math>\mu\text{л}</math> розчину відповідної концентрації чи контролю (транспортера чи позитивного контролю) на тильну поверхню обох вух впродовж 3 послідовних днів. Проліферативну відповідь клітин найближчих вушних лімфатичних вузлів оцінювали через 5 днів після початку нанесення шляхом вимірювання включення ЗН-метилтимідину (ЗНТdR) за допомогою <math>\beta</math>-сцинтиляційного вимірювання суспензій клітин лімфатичних вузлів.</p> <p>Відповідь виражали як інтенсивність радіоактивного розпаду на хвилину на лімфатичний вузол та співвідношення включення ЗНТdR до клітин випробуваних лімфатичних вузлів до значення, зафіксованого для контрольних вузлів (співвідношення «тест / контроль») і позначали «SI». Випробувану речовину вважали сенсibilізатором, якщо принаймні одна концентрація хімічної речовини демонструвала значення SI, рівне чи вище 3. Значення SI, отримані для концентрацій 10, 25 і 50 % (м/об)</p>

	дорівнювали 0,9, 1,0 та 1,0, відповідно, що свідчило про відсутність сенсibilізуючого потенціалу тенофовіра алафенаміду fumarату щодо шкіри. Отримане значення EC3 («розрахункова концентрація 3», тобто, концентрація випробуваної речовини, що у ході оцінки локальних лімфатичних вузлів спричиняє значення SI, рівне 3) перевищувало 50 % (м/об). Значення SI позитивного контролю (речовини гексилкоричного альдегіду) дорівнювало 6,3, що свідчить про валідність цього дослідження.
імунотоксичність	Не застосовно.
дослідження механізмів дії	Не застосовно.
лікарська залежність	Не застосовно.
токсичність метаболітів	Не застосовно.
токсичність домішок	<p>Оцінку токсичності і визначення потенційних домішок тенофовіра алафенаміду fumarату проводили у ході 2-тижневого дослідження перорального введення самцям щурів. Тваринам вводили GS-7340-02 у дозах по 5 чи 50 мг/кг/добу (10 мл/кг) із 2 різних за чистотою серій (серії № 1 із вмістом 97,7 % та серії № 2 з вмістом 83,1 %). Домішки, у тому числі й 13 % GS-7339, додавали до чистішої серії. Дослідники не відзначали результатів, пов'язаних із досліджуваним препаратом, чи відмінностей двох випробуваних серій.</p> <p>Також проводили 4-тижневе дослідження перорального введення шурам (самцям і самкам). Три серії GS-7340-03 вводили шурам у дозах 25 і 50 мг/кг/добу (еквіваленту чистої основи). Чистота GS7340-03 у випробуваній серії 1 дорівнювала 99,3 %. Чистота GS7340-03 у випробуваній серії 2 дорівнювала 98 %, ця серія містила 11 доданих домішок. Чистота GS7340-03 у випробуваній серії 3 дорівнювала 97,8 %, ця серія містила 4 доданих домішки. Дослідники не відзначали значущих прижиттєвих чи гістопатологічних відмінностей 3 випробуваних серій. Значення NOAEL всіх 3 серій вважали рівним 50 мг еквіваленту чистої основи/кг/добу.</p> <p>З урахуванням профілів безпеки численні НЛП серії тенофовіра алафенаміду fumarату досліджували у рамках токсикологічної програми. Ці серії, як правило, вважали репрезентативними матеріалами НВП, що підтверджували визначені межі вмісту домішок та продуктів розпаду, запропоновані для комерційного виробництва.</p>
інше	<p>Оцінка екотоксичності / ризику для навколишнього середовища: повна оцінка ризику для навколишнього середовища надана у відповідності з «Настановою з оцінки ризику лікарських засобів для навколишнього середовища» [ЕМЕА/СНМР/SWP/4447/00].</p> <p>Фаза I</p> <p>Проводили скринінг стійких біоаккумулятивних токсичних речовин. Враховуючи експериментально зібрані дані щодо значення logKow, яке дорівнює -4,3 при рН 7 і є нижчим за тригерне значення 4,5, можна дійти висновку, що тенофовір не належить до потенційно стійких біоаккумулятивних токсичних речовин. Отже, у детальній оцінці стійкої біоаккумулятивної токсичної речовини немає необхідності.</p> <p>Початкове значення прогнозованої концентрації в поверхневих водах розраховували з урахуванням максимальної добової дози тенофовіра алафенаміду fumarату 28 мг, припускаючи, що коефіцієнт проникнення на ринок за замовчуванням дорівнював 0,01. Отримане значення прогнозованої концентрації тенофовіра алафенаміду fumarату в поверхневих водах дорівнювало 0,14 мкг/л, що явно перевищувало тригерне значення 0,01 мкг/л. Таким чином провели оцінку II фази.</p>

	<p>II фаза, рівень А</p> <p>Тенофовіра алафенамід є пропрепаратом, що після всмоктування швидко перетворюється на діючу речовину тенофовір. Отже, оцінку ризику для навколишнього середовища проводили для водної системи тенофовіра. Дослідження перетворення у системі «вода / осад» демонструвало значне накопичення діючої речовини в осаді, тому проводили й дослідження токсичності осаду для мікрофлори житлових приміщень. Проведення польових досліджень не вважали необхідним, оскільки коефіцієнт поглинання був нижчим за відповідне тригерне значення, що дорівнювало 10 000 л/кг.</p>
<p>5. Висновки щодо доклінічного вивчення</p>	<p>Фармакологію тенофовіра алафенаміду (тенофовіра алафенаміду fumarату) належним чином досліджували у ході низки досліджень <i>in vitro</i> та <i>ex vivo</i>.</p> <p>У ході 39-тижневого дослідження тенофовіра алафенаміду fumarату у собак автори відзначали подовження інтервалу PR (приблизно на 13-24 %) разом із відповідним подовженням інтервалу QT. У ході дослідження фармакології токсичності, автори якого оцінювали дози тенофовіра алафенаміду fumarату до 100 мг/кг, або у ході клінічного дослідження подовження інтервалу QT і відкоригованого інтервалу QT не відзначали подовження інтервалу PR чи інших змін ЕКГ.</p> <p>Автори іншого дослідження фармакології безпеки не виявили значних проблем безпеки застосування тенофовіра алафенаміду fumarату. Всмоктування, розподіл, метаболізм і виведення тенофовіра / тенофовіра алафенаміду fumarату оцінювали <i>in vitro</i> та у рамках різноманітних тваринних моделей.</p> <p>Результати вивчення кісток і нирок, відзначені у ході токсикологічних досліджень у щурів та собак, відповідали відомим даним із токсичності тенофовіра. Після введення доз 18/12 мг/кг/добу собакам (у ході 39-тижневого дослідження у собак), у деяких органах (очах [хоріоїдному сплетенні, циліарному тілі], легенях та селезінці) деяких тварин відзначали мінімальну інфільтрацію гістіоцитів. Увеїт задньої стінки фіксували після введення доз 18/12 мг/кг/добу, що спричиняли концентрації тенофовіра алафенаміду fumarату і тенофовіра, відповідно, у 3,7 і 17 разів вищі за відзначені у людини після прийому 25 мг тенофовіра алафенаміду fumarату. Прижиттєві результати офтальмологічної оцінки у ході цього дослідження були нормальними. Дослідники повідомляли про одного підлітка з увеїтом, і вважали цей випадок пов'язаним із терапією. Наразі видається доцільним тримати цей випадок під ретельним наглядом, що зазначено у плані управління ризиками.</p> <p>Під час офтальмологічного огляду чи мікроскопічної оцінки тканин ока дослідники не відзначали побічних реакцій, пов'язаних з досліджуваним препаратом, у ході досліджень токсичності повторних доз у мишей (до 13 тижнів), щурів (до 26 тижнів), приматів (4 тижні) чи 4-тижневого токсикологічного дослідження у собак. Побічні дегенеративні (нюхові) та гострі запальні (інфільтрат нейтрофілів) зміни слизової оболонки носа, зареєстровані у мишей, які отримували тенофовіра алафенаміду fumarат впродовж 13 тижнів, не фіксували у інших видів, а отже, можна припустити, що вони, ймовірно, не становлять клінічного ризику.</p> <p>У ході дослідження фертильності та репродуктивної токсичності у щурів відзначали зростання абсолютної маси яєчок (значне зростання (9 %) відзначали лише для відкоригованої середньої маси лівого яєчка) після введення 160 мг/кг/добу. Заявник вважав цей результат пов'язаним із досліджуваним препаратом, але не побічним явищем, оскільки дослідники не реєстрували впливу на масу чи функцію інших репродуктивних органів. Варіанти сегментів груднини (1-4 та 5-6) зростали у групі 250 мг/кг/добу. У ході дослідження ембріо-фетального розвитку щурів (значення NOEL вважали рівним 100 мг/кг/добу [досягнуте значення дорівнювало 84 мг/кг/добу]). У ході досліджень у кролів не відзначали впливу на ембріофетальний розвиток. Враховуючи відсутність</p>

	<p>пери / постнатальних досліджень тенофовіра алафенаміду fumarату, публікації щодо препарату повинні містити репродуктивні дані для тенофовіра дизопроксилу fumarату (тобто описувати зниження індексу виживаності і маси посліду у ході досліджень пери / постнатальної токсичності доз, токсичних для матері). За результатами доклінічних даних не виявили жодних значних проблем безпеки.</p>
Заявник (власник реєстраційного посвідчення)	<p><b>Підпис:</b> _____</p> <p><b>Прізвище:</b> <u>Шеєншо</u> _____</p> 

Додаток 30

до Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення (пункт 4 розділу IV)

Звіт про клінічне випробування

1. Назва лікарського засобу (за наявності – номер реєстраційного посвідчення):	ТАФНАТ (тенофовіра алафенаміду таблетки по 25 мг)				
2. Заявник	Натко Фарма Лімітед				
3. Виробник	Натко Фарма Лімітед				
4. Проведені дослідження	<input checked="" type="checkbox"/>	так	<input type="checkbox"/>	ні	якщо ні, обґрунтувати
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Генеричний лікарський засіб				
5. Повна назва клінічного випробування, кодовий номер клінічного випробування	Ламбда Терапевтiк Рiсерч Лтд. Код дослідження: 0068-18				
6. Фаза клінічного випробування	Фаза дослідження біоеквівалентності, призначена для ANDA				
7. Період проведення клінічного випробування	3 29 жовтня 2018 р. до 12 січня 2019 р.				
8. Країни, де проводилося клінічне випробування	Індія				
9. Кількість досліджуваних	Заплановано: 30 фактично: 30				
10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування	Порівняти біодоступність та охарактеризувати фармакокінетичний профіль досліджуваного препарату спонсора у порівнянні з референтним препаратом у нормальних, здорових, дорослих добровольців, після вживання їжі, та оцінити біоеквівалентність. Провести моніторинг безпеки для пацієнтів.				
11. Дизайн клінічного випробування	Відкрите, збалансоване, рандомізоване, частково повторне, перехресне дослідження біоеквівалентності одноразових пероральних доз у двох терапевтичних групах з трьома послідовностями і трьома періодами.				
12. Основні критерії включення	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Нормальні, здорові, дорослі добровольці віком від 18 до 45 років (включно) з міста Ахмедабад або з його околиць, або західної частини Індії.</li> <li>• Наявність індексу маси тіла (ІМТ) від 18,5 до 29,9 (включно), розраховане як вага в кг / висота в м<sup>2</sup>.</li> <li>• Відсутність значних захворювань або клінічно значущих аномальних результатів під час скринінгу, анамнезу, клінічного обстеження,</li> </ul>				

	лабораторних досліджень, зняті 12-канальної ЕКГ та рентгенографії органів грудної клітини.																																									
13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії	Тенофовіра алафенаміду таблетки по 25 мг, внутрішньо, одноразова доза																																									
14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії	Вемліді® (тенофовіра алафенаміду таблетки по 25 мг), внутрішньо, одноразова доза																																									
15. Супутня терапія	Добровольцям було наказано не приймати/застосовувати будь-які лікарські засоби (включаючи рослинні засоби), крім досліджуваного лікарського засобу за 14 днів до Періоду-I та до завершення дослідження. Однак добровольцю № 1029 вводили лікарські засоби для лікування його несприятливого стану. Інформація про ці лікарські засоби представлена в Додатку № 16.2.7 - Перелік несприятливих подій (кожному добровольцю).																																									
16. Критерії оцінки ефективності	Оцінку ефективності дослідження не проводили, оскільки воно являло собою кінцеве дослідження фармакокінетики Відібрано тридцять шість (36) зразків венозної крові. Фармакокінетичні властивості досліджуваного та референтного препарату провели шляхом вимірювання концентрації тенофовіра алафенаміду та тенофовіра в плазмі.																																									
17. Критерії оцінки безпеки	Життєво важливі ознаки (артеріальний тиск у сидячому положенні і частота пульсу на променевої артерії) реєструвалась до введення дози та в 01, 03, 06, 10, 24 та 36 год після введення дози у кожен період. Усі життєво важливі показники, що вимірювалися записані протягом $\pm 40$ хвилин від запланованого часу. Добровольців під час клінічних обстежень, під час амбулаторії, було запитано про стан здоров'я та зафіксовано життєво важливі показники у кожному періоді.																																									
18. Статистичні методи	Статистичний аналіз проводився із використанням SAS® версії 9.3 або новішої (SAS Institute Inc., США).																																									
19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)	Всі добровольці, включені у дослідження, були азіати із середнім віком випробовуваних 32,5 років. Середній зріст випробовуваних становив 165,65 см, а середня вага 64,93 кг. ІМТ обстежених становив 23,65 кг / м <sup>2</sup> .																																									
20. Результати ефективності	<p>Результати відносної біодоступності для тенофовіру алафенаміду (N = 28)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Параметри</th> <th colspan="3">Геометричне середнє значення, розраховане методом найменших квадратів</th> <th rowspan="2">90% довірчий інтервал</th> <th rowspan="2">Критерій прийнятності (%)</th> <th rowspan="2">Внутрішньосуб'єктивна варіабельність референтного продукту (%)</th> <th rowspan="2">Потужність (%)</th> </tr> <tr> <th>Випробований продукт T (N=28 спостережень)</th> <th>Референтний продукт R (N=54 спостереження)</th> <th>Відношення (T/R), %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>InC<sub>max</sub></td> <td>293.119<sup>~</sup></td> <td>284.160</td> <td>103.2</td> <td>91.09-116.81</td> <td>78.29-127.74</td> <td>33.1</td> <td>94.5</td> </tr> <tr> <td>InAUC<sub>0-t</sub></td> <td>401.600</td> <td>394.984</td> <td>101.7</td> <td>92.62-111.61</td> <td>80.00-125.00</td> <td>20.8</td> <td>98.8</td> </tr> <tr> <td>InAUC<sub>0-∞</sub></td> <td>405.186</td> <td>400.748<sup>#</sup></td> <td>101.1</td> <td>92.11-110.99</td> <td>Не застосовано</td> <td>20.5</td> <td>98.8</td> </tr> </tbody> </table> <p><sup>#</sup>N=53 спостереження</p>							Параметри	Геометричне середнє значення, розраховане методом найменших квадратів			90% довірчий інтервал	Критерій прийнятності (%)	Внутрішньосуб'єктивна варіабельність референтного продукту (%)	Потужність (%)	Випробований продукт T (N=28 спостережень)	Референтний продукт R (N=54 спостереження)	Відношення (T/R), %	InC <sub>max</sub>	293.119 <sup>~</sup>	284.160	103.2	91.09-116.81	78.29-127.74	33.1	94.5	InAUC <sub>0-t</sub>	401.600	394.984	101.7	92.62-111.61	80.00-125.00	20.8	98.8	InAUC <sub>0-∞</sub>	405.186	400.748 <sup>#</sup>	101.1	92.11-110.99	Не застосовано	20.5	98.8
Параметри	Геометричне середнє значення, розраховане методом найменших квадратів			90% довірчий інтервал	Критерій прийнятності (%)	Внутрішньосуб'єктивна варіабельність референтного продукту (%)	Потужність (%)																																			
	Випробований продукт T (N=28 спостережень)	Референтний продукт R (N=54 спостереження)	Відношення (T/R), %																																							
InC <sub>max</sub>	293.119 <sup>~</sup>	284.160	103.2	91.09-116.81	78.29-127.74	33.1	94.5																																			
InAUC <sub>0-t</sub>	401.600	394.984	101.7	92.62-111.61	80.00-125.00	20.8	98.8																																			
InAUC <sub>0-∞</sub>	405.186	400.748 <sup>#</sup>	101.1	92.11-110.99	Не застосовано	20.5	98.8																																			

<p>21. Результати безпеки</p>	<p>Три (03) побічні явища були зареєстровані, три (03) із 30 добровольців, які отримували принаймні одну дозу досліджуваного препарату (безпека населення). Розподіл за групами лікування полягав в наступному: Два (02) побічних явища (Adverse Event — AE) були зареєстровані 3.33 % (N=02) з 30 суб'єктів, які отримували лікування референтним препаратом, а одне (01) побічне явище AE було зареєстровано 3,57 % (N=01) з 28 суб'єктів, які отримували лікування досліджуваним препаратом. Оцінку причинності сприйняли як можливе для побічного явища (AE). Після закінчення клінічної частини дослідження отримані результати всіх добровольців, які пройшли процедури після дослідження, включаючи лабораторні тести та вимірювання життєво важливих показників, підтвердили відсутність суттєвих змін у стані здоров'я добровольців.</p>
<p>22. Висновок (заключення)</p>	<p>Досліджуваний препарат (Т) (тенфовіра алафенаміду таблетки по 25 мг) порівняно з референтним препаратом-(R) (Вемліді® (тенфовіра алафенаміду таблетки по 25 мг) відповідає критеріям біоеквівалентності щодо C<sub>max</sub>, AUC<sub>0-t</sub> і AUC<sub>0-∞</sub> тенфовіра алафенаміду після вживання їжі.</p>
<p>Заявник (Натко Фарма Лімітед)</p>	<p>(підпис) Санджів Кумар Бхатті (П. І. Б.)</p> 