

Додаток 29
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 10 Розділу IV)

Звіт про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення):	Превиміс (Prevymis)
1) вид лікарського засобу, що подається на реєстрацію	Мерк Шарп і Доум ІДЕА ГмБХ, Швейцарія
2) проведені дослідження	✓ Так □ Ні Якщо ні, слід обґрунтувати
2. Фармакологія:	
1) первинна фармакодинаміка	<p>Фармакологія in vitro Вірусологія - Механізм дії Виділення та генотипування ряду мутантних вірусів, які уникли інгібування летермовіром, показали, що мішенню є вірусний терміназний комплекс, який відіграє ключову роль у розщепленні та упаковці вірусної ДНК потомства. Терміназний комплекс мінімально складається з великої та малої субодиниць, кодованих двома вірусними генами (UL56 та UL89). Вважається, що терміназний комплекс взаємодіє з передчасними вірусними капсидами, зв'язуючись з вірусним порталним білком pUL104. Нещодавно був виявлений ще один вірусний білок (pUL51) у комплексі з pUL56 та pUL89, хоча його функціональна роль у механізмі вірусної термінази ще не з'ясована. Відповідно до мутацій резистентності до летермовіру, які відповідають UL56, біохімічні експерименти та електронна мікроскопія продемонстрували, що летермовір впливає на формування геномів належної довжини з конкатемерів вірусної ДНК та перешкоджає дозріванню віріону (PD012). Мутантні ізоляти ЦМВ, резистентні до летермовіру, генерувалися in vitro. Секвенування ДНК виявило мутації гена термінази ЦМВ UL56, а аналізи перенесення маркерів підтвердили, що ці мутації були необхідними та достатніми для надання резистентності до летермовіру. У генах UL51, UL89 або UL104 (PD001) не було виявлено мутацій, пов'язаних з резистентністю.</p> <p>Доза-відповідь летермовіру in vitro Противірусну ефективність летермовіру порівнювали з ефективністю сполуки порівняння GCV в противірусних аналізах із використанням лабораторних та клінічних ізолятів ЦМВ. В одній моделі клітинної культури інфекції значення ЕК50 та ЕК90</p>

для летермовіру були щонайменше в 450 та 2000 разів нижчими, відповідно, ніж порівнянні значення ефективності для GCV (PD002).

Моношари фібробластів, використані в цих експериментах, не виявляли цитотоксичної дії при найвищій дослідженій концентрації летермовіру (33 мкМ). Типовий приклад кривої нелінійної регресії летермовіру наведений в (PD002). Противірусна активність летермовіру характеризується дуже крутою кривою доза-відповідь, на яку припадають лише незначні відмінності між значеннями ЕК50 та ЕК90. В іншому дослідженні значення ЕК50 для летермовіру у порівнянні з колекцією 74 ізолятів ЦМВ (включаючи 50 клінічних штамів низьких пасажів) коливалися від 0,7 до 6,1 нМ, тоді як значення ЕК50 для GCV коливалися від 0,6 до 55,0 мкМ. Противірусну активність летермовіру та GCV також оцінювали в ембріональних фібробластах легень MRC-5, інфікованих 5 різними клінічними ізолятами ЦМВ - значення ІК50 летермовіру становили від 8,88 до 18,0 нМ, а значення ІК50 GCV від 4,25 до 12,1 мкМ (PD008). Еквівалентна активність летермовіру проти ЦМВ, доданого до та після інфікування, також була продемонстрована в окремому дослідженні ефективності препарату на моделі клітинної культури інфекції (PD014).

Противірусна активність на різних типах клітин

Для деяких противірусних препаратів зафіксовано великі відмінності у значеннях ЕК50 на підставі умов культури клітин або походження клітин, що використовуються для моделі *in vitro*. Значення ЕК50 визначали для фібробласт-специфічного штаму AD169 з використанням різних клітинних ліній фібробластів. Противірусна активність летермовіру була еквівалентною на всіх клітинних лініях. На відміну від цього, значення ЕК50 GCV варіювалися до 7 разів залежно від фібробластів, що використовували (PD002, PD008 та PD013).

Вплив концентрації вірусу на ЕК50

Противірусна активність деяких анти-ЦМВ сполук зменшується із збільшенням відношення вхідного вірусу в клітинах (множинність зараження або МЗ). Ефективність летермовіру в моделі зараження клітинної культури була лише помірно зміщена (~3,2-кратне збільшення ЕК50) через значне збільшення МЗ (~333-кратне). На відміну від цього, значення ЕК50 для GCV зросло до ~6-кратного в паралельних експериментах. Ці результати дозволяють припустити, що летермовір ефективно інгібує реплікацію ЦМВ в умовах культури клітин, які імітують високі вірусні навантаження.

Противірусна активність летермовіру проти штамів вірусу та клінічних ізолятів ЦМВ, резистентних до GCV/FOS/CDV

Активність летермовіру проти групи клінічних ізолятів ЦМВ людини та кількох лабораторних штамів, резистентних до зареєстрованих на даний час препаратів, вимірювали на моделі інфекції клітинної культури. Усі віруси, включаючи лабораторні штами, резистентні до GCV, FOS та CDV, були чутливими до летермовіру з низькою нМ 50% інгібуючою концентрацією (PD001, PD006, PD007 та PD008).

Селективність

Активність летермовіру проти кількох патогенних вірусів людини, крім ЦМВ, оцінювали за допомогою клітинних моделей інфекції. Інші віруси герпесу в наборі включали членів підродини альфа (вірус *Varicella zoster*, HSV-1, HSV-2), бета (мишачий ЦМВ, ЦМВ шурів, HHV6) та гама (вірус Епштейна-Барра). Ізоляти ВІЛ, грипу А, ВГС, ВГВ та аденовірусу також тестували на чутливість до летермовіру. Не було виявлено значної противірусної активності проти жодного з перевірених вірусів (PD004, PD009 та PD011).

Взаємодія із зареєстрованими противірусними препаратами проти ЦМВ у пригніченні реплікації ЦМВ

Інгібування ЦМВ летермовіром у поєднанні з декількома зареєстрованими на сьогодні противірусними препаратами проти ЦМВ, які націлені на реплікацію ДНК ЦМВ, оцінювали в аналізі методом «шахової дошки» на культурі клітин. Використовуючи дві математично надійні методики (адитивність Льове та незалежний аналіз Блісса) для аналізу, поєднання летермовіру з GCV, CDV, FOS або ацикловіром, як правило, давало адитивний ефект. Відсутність значного антагонізму між летермовіром та цими сполуками свідчить про те, що інгібування ДНК-полімерази ЦМВ не перешкоджає одночасному інгібуванню термінази ДНК ЦМВ у моделі інфекції на клітинній культурі.

Вплив летермовіру на активність *in vitro* окремих препаратів проти ВІЛ

Комбінації з двох препаратів летермовіру та засобу проти ВІЛ оцінювали на моделі клітинної культури ВІЛ-інфекції. Спочатку аналіз методом «шахової дошки» (PD010) виявив потенціал фармакодинамічної (ФД) взаємодії між летермовіром та досліджуваними препаратами проти ВІЛ. Однак дизайн дослідження було переглянуто та проведено з використанням фіксованої концентрації летермовіру (3 мкМ, розрахунковий *Stax*) плюс діапазон концентрацій кожної сполуки проти ВІЛ. Сполуки проти ВІЛ включали інгібітори протеаз ВІЛ (ATV, DRV, LPV та RTV), нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (FTC, TDF), нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (EFV, ETR, NVP та RPV) та два інгібітори ВІЛ-інтегрази (ELV, RAL). Клітини MT4 людини заражали штамом LAI ВІЛ і цитопатичний ефект вимірювали через 5 днів після зараження. Кожна комбінація тестувалася кілька разів у незалежних експериментах. Суттєвого впливу летермовіру на активність жодної із сполук проти ВІЛ не спостерігалось. На підставі результатів аналізу з переглянутим дизайном не отримано доказів фармакодинамічної взаємодії між летермовіром та різними препаратами проти ВІЛ.

Резистентність до противірусних препаратів

Для того, щоб ідентифікувати мутації ЦМВ, пов'язані з резистентністю до летермовіру, використовували процедури відбору клітинних культур для виділення мутантних вірусів, які уникли інгібування летермовіром.

Характеристика цих мутантів ЦМВ встановила, що: i) всі мутанти були резистентними до летермовіру, із значеннями EC_{50} , які були в 13-5870 разів вищими, ніж для батьківського вірусу дикого типу; i ii) кожен ізолят мав мутацію в UL56, вірусного гена, що кодує

велику субодиночку терміназного комплексу ДНК ЦМВ. Отримані заміни амінокислот в UL56 були згруповані в консервативній області між амінокислотами 231 і 369. Експерименти з перенесення маркерів та рекомбінантне фенотипування підтвердили, що кожна мутація UL56 була необхідною та достатньою для резистентності до летермовіру, а зміни у чутливості до лікарських засобів для кожного рекомбінантного мутантного вірусу та відповідного вихідного мутантного ізоляту були рівноцінними. Не було виявлено мутацій, пов'язаних з резистентністю, в інших регіонах UL56 або в генах UL51, UL89 або UL104. Жодна з мутацій не впливала на ріст вірусу в клітинній культурі, хоча придатність цих варіантів *in vivo* ще потрібно визначити (PD015). Вибрані мутації UL56 показали знижену чутливість до летермовіру, але не вплинули на чутливість до інгібіторів ДНК-полімераз ЦМВ, включаючи ганцикловір, цидофовір та фоскарнет (PD015).

Поширені поліморфізми UL56 та UL89

На додаток до генотипів UL56, вплив яких на чутливість до летермовіру було виміряно, послідовності ДНК ЦМВ у загальнодоступній базі даних використовували для виявлення додаткових варіантів генотипів як UL56, так і UL89 (PD018). Серед записів у базі даних послідовностей ДНК NCBI було виявлено сто вісімдесят сім унікальних послідовностей цілого геному ЦМВ. Виведені послідовності амінокислот (ПА) для білків UL56 та UL89, генеровані з цих записів послідовностей ДНК, узгоджували з послідовностями амінокислот UL56 та UL89 із чутливого до летермовіру штаму ЦМВ Merlin (обліковий номер NCBI NC_006273.2). Відмінності від еталону включають як рідкісні, так і поширені поліморфізми. У UL56, у 44 з 850 ПА були виявлені один або кілька варіантів. У 37 із цих 44 ПА був один варіант порівняно з референтною послідовністю ПА Merlin UL56; у 5 із 44 ПА було два варіанти; а у 2 з 44 ПА було 3 варіанти. Загальна кількість варіантів становила 53; серед цих 53 варіантів були 17, чий вплив на чутливість до летермовіру був визначений раніше. У UL89, у 18 із 674 ПА був виявлений один варіант. Жоден із цих варіантів не характеризувався своїм впливом на чутливість до летермовіру. Нарешті, серед записів у базі даних NCBI (PD018) не було знайдено жодного з раніше охарактеризованих варіантів генотипів UL56, резистентних до летермовіру.

Фармакологія *in vivo*

Оскільки ЦМВ людини не інфікує інших ссавців, стандартні моделі мишачої інфекції не можуть використовуватися для вивчення ефективності летермовіру *in vivo*. Натомість оцінювали летермовір в розробленій моделі ксенотрансплантації у мишей. Фібробласти крайньої плоти людини, інфіковані штамом ЦМВ Davis, імплантували мишам NOD SCID на клітинному каркасі з колагенової губки. Миші отримували препарат орд через оральний апарат протягом 9 днів. Титри вірусів після культивування на клітинних культурах показали *in vivo* активність летермовіру з ED₅₀ 3,4 мг/кг/добу та ED₉₀ 7,9 мг/кг/добу. Для контрольної сполуки VGCV ED₅₀ становила 16 мг/кг/добу, але ED₉₀

	<p>неможливо було визначити, оскільки 90% ефективність не була досягнута при найвищій дозі (100 мг/кг/добу), що застосовувалась у цьому дослідженні (PD003).</p> <p>Титр ЦМВ Davis в колагеновому імплантаті знизився майже на 2 log₁₀ відносно плацебо у мишей, яким давали 30 мг/кг/добу летермовіру орд протягом 9 днів. Для порівняння, VGCV у дозі 100 мг/кг/добу орд протягом 9 днів досягав зниження титру ЦМВ на 1 log₁₀ порівняно з мишами, яким давали плацебо. Летермовір показав принаймні таку саму ефективність, як VGCV, у цій розробленій мишиній моделі ксенотрансплантації інфекції ЦМВ.</p>
<p>2) вторинна фармакодинаміка</p>	<p>На початку розробки летермовіру були проведені попередні дослідження в культурі клітин для оцінки потенціалу клітинної цитотоксичності (КЦ). Ці експерименти проводили з клітинними лініями мишей, щурів та людини, включаючи епітеліальні клітини, отримані з печінки та нирок, клітини серцевого м'яза, фібробласти, отримані з ембріонів та дерми, моноцити, Т-лімфоцити, макрофаги, а також клітини нейробластоми та гепатоми. Для ембріональних фібробластів легень MRC-5 не спостерігалася цитотоксичність до найвищої концентрації (100 нМ) досліджуваного летермовіру (PD008). Для всіх інших клітинних ліній виміряна ЦК50 коливалася від 27±1,0 мкМ до >30 мкМ, що було найвищою концентрацією досліджуваного летермовіру (PD013).</p> <p>Летермовір аналізували в 63 радіолігандних аналізах для оцінки потенційних нецільових ефектів (взаємодія з рецепторами та ферментами ссавців) (PD016). Жоден з результатів не відповідав критеріям суттєвого впливу при досліджуваній концентрації (10 мкМ).</p> <p>Летермовір також оцінювали у пошукових дослідженнях, що проводили для внутрішнього прийняття рішень на ранній стадії розробки лікарських засобів, щоб виявити потенційні основні побічні ефекти на основні фізіологічні функції (PD017).</p> <p>Летермовір у кінцевій концентрації 30 мкМ (0,1% диметилсульфоксиду (ДМСО)) не виявляв суттєвої активності (≥50% зміни) в наступних аналізах тканин: серцева інотропія в лівому передсерді морських свинок з польовим стимулюванням, серцева хронотропія в аорті правого передсердя морської свинки зі спонтанним серцебиттям, скорочувальний агонізм або антагонізм індукованих КСІ скорочень клубової кишки щурів, скорочувальний агонізм або антагонізм індукованих КСІ скорочень трахеї морської свинки, скорочувальний агонізм або антагонізм індукованих КСІ скорочень ворітної вени морської свинки та скорочувальний агонізм або антагонізм індукованих КСІ скорочень у щурів.</p> <p>Летермовір викликав збільшення рівня глюкози в сироватці крові, що має незначну токсикологічну значимість у мишей натще, як описано нижче. Дози летермовіру готували у вигляді розчину або дрібнодисперсно гомогенізованої суспензії в 2% Твін 80 і вводили перорально по 30 мг/кг в обсязі 10 мл/кг. У тесті на рівень глюкози у сироватці крові натще у мишей глюкоза, яку вимірювали через 90 хвилин після введення летермовіру п'яти мишам ICR-походження вагою 22±2 г, була значно підвищена</p>

	<p>(139%) порівняно з контрольними тваринами, які отримували речовину-носії, але підвищення незначне з токсикологічної точки зору (PD017).</p> <p>Додаткові тести з летермовіром 30 мг/кг, виконані на мишах, включають: вегетативні ознаки, поведінку, смертність, температуру тіла, поведінкову депресію, порушення координації рухів, моторну стимуляцію, частоту та глибину дихання, час кровотечі, мідріаз, холестерин у сироватці крові, тригліцериди, ліпопротеїни високої щільності, аланінамінотрансферазу та моторику шлунково-кишкового тракту. У цих тестах не спостерігали змін, пов'язаних із досліджуваним продуктом (PD017).</p> <p>У щурів, яким вводили 30 мг/кг летермовіру, не було значущих відмінностей порівняно з контрольною групою речовини-носія в таких параметрах: середній артеріальний тиск у стані спокою або після нахилу, кислотність/подразнення шлунку (у щурів натще), об'єм виведення сечі та виведення натрію або калію (PD017).</p>
<p>3) фармакологічні дослідження з безпеки</p>	<p>Фармакологічні дослідження з безпеки проводили як у тест-системах <i>in vitro</i>, так і <i>in vivo</i>, щоб оцінити потенційні серцево-судинні, дихальні та нейро-поведінкові ефекти летермовіру. Додатково досліджували функцію нирок, ліпідний обмін, гематологічні параметри, концентрацію глюкози в крові, моторику шлунково-кишкового тракту після введення летермовіру.</p> <p>Усі основні фармакологічні дослідження з безпеки проводили відповідно до принципів належної лабораторної практики (GLP).</p> <p>Вплив на струм hERG (ТТ #03-5594 та ТТ #16-4701)</p> <p>Летермовір оцінювали щодо його впливу на хвостові струми калієвих каналів, кодованих людським ефір-а-го-го пов'язаним геном (hERG), (ТТ #16-4701). Використовуючи функціональний електрофізіологічний аналіз, летермовір, розроблений у буферизованому HEPES розчині, що містить 0,3% ДМСО, тестували у фактичних концентраціях 8,9, 29 та 86 мкМ на струмі каналу hERG (IKr; переважна сила струму, відповідальна за реполяризацію шлуночків) при кімнатній температурі на клітинах яєчників китайського хом'ячка (CHO) (n=5). Летермовір пригнічував струм hERG зі значенням IK50 67 мкМ (~38360 мкг/л) та значенням IK20 27 мкМ (~15500 мкг/л).</p> <p>Ці результати підтвердили результати дослідження не в умовах GLP, в якому летермовір оцінювали на предмет його потенційного впливу на кодовані hERG хвостові струми калієвих каналів, записані з клітин HEK293, що стабільно експресують hERG (ТТ #03-5594). У цьому дослідженні летермовір пригнічував струм hERG зі значенням IK50 ~68 мкМ (~38900 мкг/л).</p> <p>Серцево-судинна та дихальна функції у собак породи бігль (ТТ #03-5593 та ТТ #06-5561)</p> <p>Потенційні серцево-судинні ефекти летермовіру оцінювали у собак породи бігль (5 тварин/група), яким вводили одну дозу летермовіру по 1, 3 або 10 мг/кг у суміші з етанолом/солютолом HS 15/вода (10/40/50, об/об/об) або речовину-носії (ТТ #03-5593). Частоту серцевих скорочень, артеріальний тиск (систоличний, діастолічний та середній тиск), електрокардіографічні параметри (PR, QRS та QT інтервали) контролювали за допомогою телеметрії</p>

протягом приблизно 15 годин після введення дози. У цьому дослідженні летермовір не виявляв впливу на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень та ЕКГ.

Вплив летермовіру на серцево-судинну функцію та дихання досліджували у собак бігль під анестезією та на штучному диханні після одноразового внутрішньодуоденального введення 0, 5, 15 та 45 мг/кг (ТТ #06-5561). Гемодинаміка (систоличний, діастолічний та середній артеріальний тиск), параметри ЕКГ (інтервал RR, інтервал PQ, інтервал QT та комплекс QRS), частоту дихання, тиск дихання та обсяг дихання, артеріальний рН, парціальний тиск O₂ та CO₂, концентрацію натрію та калію в плазмі крові та гематокрит визначали до 4 годин після прийому. Летермовір не чинив жодного впливу на серцево-судинну функцію, параметри ЕКГ, дихальну функцію та кислотний/лужний статус та електроліти в плазмі.

Концентрації в плазмі 1541, 3737 та 6886 нг/мл були отримані після введення 5, 15 та 45 мг/кг відповідно.

Функція центральної нервової системи у щурів (ТТ #05-7833 та ТТ #05-7834)

Потенційний вплив одноразового перорального введення летермовіру на поведінковий та фізіологічний стан, поведінку на відкритому полі та температуру тіла оцінювали у щурів (ТТ #05-7833). Летермовір вводили перорально через зонд у дозах 5, 15 та 45 мг/кг. Контрольні тварини отримували речовину-носії (етанол/солутол NS15/демінералізована вода (10:40:50, об/об/об)). Кожна група лікування складалася з шести самців щурів. Тварин оцінювали за клінічними ознаками, температурою тіла з інтервалами 0,5 години протягом двох годин після отримання препарату. Приблизно через 0,5 та 2 години після введення тварин додатково досліджували на предмет потенційних змін, викликаних препаратом, у дослідницькій поведінці на відкритому полі.

Помітні клінічні ознаки були відсутні, крім стереотипного жування у 1 з 6 тварин через 1,5 та 2 години після введення найвищої дози. Спонсор вважав цю останню поведінку в межах норми, оскільки це може відбуватися спонтанно та зрідка у нормальних щурів, і спостерігалось дуже тимчасово лише у однієї тварини. Летермовір не впливав на поведінку на відкритому полі або температуру тіла щурів.

На закінчення слід зазначити, що не спостерігалось жодних нейроповедінкових ефектів та змін температури тіла до найвищої досліджуваної дози, 45 мг/кг.

Потенційний вплив летермовіру на судомну порогову дозу пентилентетразолу, ноцифенсивну реакцію на нагрівання та тривалість анестезії, викликані гексобарбіталом, також оцінювали у щурів після одноразового перорального прийому (ТТ #05-7834). Летермовір вводили перорально у дозах 5, 15 та 45 мг/кг. Контрольні тварини отримували речовину-носії (етанол/солутол NS15/демінералізована вода (10:40:50, об/об/об)). Кожна група дози складалася з 7-8 щурів-самців. Було проведено два незалежних експерименти. Один із них досліджував вплив досліджуваної речовини на судомну порогову дозу пентилентетразолу через 30 хвилин після прийому. В іншому

експерименті спочатку оцінювали латентність до ноцифенсивних реакцій на гарячій пластині через 30 хвилин після введення, а потім визначали тривалість анестезії, індукованої гексобарбіталом, у тих самих тварин, починаючи через 45 хвилин після введення препарату.

Летермовір не змінював судомну порогову дозу пентилентетразолу, за винятком незначного, статистично значущого, але фізіологічно нерелевантного збільшення при найнижчій досліджуваній дозі. Летермовір не впливав на ноцифенсивну реакцію на нагрівання та тривалість анестезії, індукованої гексобарбіталом.

Функція нирок у щурів (ТТ #05-7835, ТТ #05-7836 та ТТ #05-7839)

Потенційний вплив летермовіру на функцію нирок, фармакологічні показники крові та ліпідний обмін оцінювали у щурів (ТТ #05-7835). Летермовір вводили у разових дозах 5, 15 та 45 мг/кг. Контрольні тварини отримували речовину-носії (етанол/солютол HS15/демінералізована вода (10:40:50,% об/об/об)). Кожна група лікування складалася з десяти щурів-самців. Проби сечі відбирали протягом двох годин, починаючи відразу після прийому препарату. Після цього кров збирали з черевної аорти для проведення гематологічних та метаболічних аналізів.

Летермовір не впливав на число клітин крові (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити), згортання крові (тромбіновий час, протромбіновий час), гематокрит, загальний гемоглобін, вільний гемоглобін і концентрацію тригліцеридів або холестерину в плазмі крові. Не спостерігали статистично значущого впливу на об'єм сечі, на ниркову екскрецію калію або хлориду, тоді як ниркова екскреція натрію була незначно залежною від дози летермовіру (статистично значущою лише при 15 мг/кг). Спонсор вважав зв'язок з летермовіром цієї останньої зміни невизначеним на основі високої міжособистісної мінливості та таким, що не має токсикологічного значення.

Для оцінки потенційного впливу летермовіру на концентрацію глюкози в крові щурів (після прийому їжі або натще) летермовір вводили в разових дозах 5, 15 та 45 мг/кг (ТТ #05-7836). Контрольні тварини отримували речовину-носії (етанол/солютол HS15/демінералізована вода (10:40:50, % об/об/об)). Кожна група лікування складалася з шести самців щурів. Концентрацію глюкози в крові контролювали через 30, 60, 120 та 180 хвилин після прийому препарату. Летермовір не змінював концентрацію глюкози в крові щурів, після прийому їжі або натще.

Потенційний вплив летермовіру на концентрацію глюкози в крові щурів (після прийому їжі або натще) оцінювали у другому дослідженні, в якому летермовір вводили в одноразових пероральних дозах 3, 10 та 30 мг/кг (ТТ #05-7839). Контрольні тварини отримували речовину-носії (етаноVPEG400/H2O, 10:40:50, об/об/об%). Кожна група лікування складалася з шести самців щурів. Концентрацію глюкози в крові контролювали через 30, 60, 120 та 180 хвилин після прийому препарату. Летермовір не змінював концентрацію глюкози в крові щурів після прийому їжі

	<p>або натще.</p> <p>Функція шлунково-кишкового тракту (ТТ #05-7837 та ТТ #05-7838)</p> <p>Потенційний вплив летермовіру на моторику шлунково-кишкового тракту оцінювали на щурах після одноразових пероральних доз 5, 15 та 45 мг/кг (ТТ #05-7837). Контрольні тварини отримували речовину-носіє (ДМСО). Кожна група лікування складалася з п'яти щурів-самців. 20% суспензію сульфату барію в 0,5% водному розчині Tylose® давали перорально через 15 хвилин після введення препарату або речовини носія. Ще через тридцять хвилин тварин умертвляли і визначали довжину кишкового сегмента, покритого сульфатом барію. Летермовір не мав статистично значущого впливу на кишкову транспортну відстань сульфату барію у щурів. Однак летермовір знижував ступінь спорожнення шлунку та робив вміст кишечника більш рідким в залежності від дози.</p> <p>Летермовір оцінювали на предмет можливого внутрішнього впливу на скорочувальну функцію ізольованої клубової кишки морської свинки або на спазми клубової кишки, викликані ацетилхоліном, серотоніном, гістаміном та хлоридом барію (ТТ #05-7838). Летермовір досліджували <i>in vitro</i> при концентраціях у ванні 10⁻⁷ та 10⁻⁶ г/мл. Вплив летермовіру порівнювали з ефектами, викликаними відповідною аліквотою речовини-носія (ДМСО). Інкубація з летермовіром не спричиняла скорочень або розслаблення сегментів клубової кишки, а також досліджувана речовина не чинила жодного клінічно або фізіологічно значущого впливу на скорочення клубової кишки, викликані ацетилхоліном, хлоридом барію, серотоніном або гістаміном.</p>
<p>4) фармакодинамічні взаємодії</p>	<p>Летермовір оцінювали на противірусну активність у парних комбінаціях з проти-ЦМВ засобами GCV, CDV, FOS та ацикловіром. Серійні 3-кратні розведення летермовіру від 36 до 0,4 нМ поєднували з іншими препаратами проти ЦМВ, починаючи з максимальної концентрації, яка перевищувала ЕК50 у 9-27 разів. Нормальні фібробласти шкіри людини інфікували ЦМВЛ RV-NG, що експресує зелений флуоресцентний білок (GFP), при множинності зараження (МЗ) 0,2, а одиниці GFP визначали через 7 днів при 37 °С. При використанні двох математично надійних методик (адитивність Льове та незалежний аналіз Блісса) для аналізу, комбінація летермовіру з кожним препаратом, як правило, була адитивною, без доказів значного антагонізму.</p>
<p>3. Фармакокінетика:</p>	
<p>1) аналітичні методики та звіти про валідацію</p>	<p>Концентрації в плазмі для оцінки ФК/абсорбції, розподілу, метаболізму та виведення (ADME) (фармакокінетичні експерименти не в умовах GLP) летермовіру визначали методом РХ/МС/МС за допомогою турбо-іонного спрею в режимі позитивних іонів після осадження білка. Нижня межа кількісного визначення становила від 0,1 до 21 нг/мл у плазмі в різних дослідженнях.</p> <p>Радіоактивність визначали шляхом прямого рідинного сцинтиляційного підрахунку (LSC) зразків. Для зразків з обмеженою сумарною радіоактивністю, таких як зразки, отримані з досліджень ADME у людини, елюент ВЕРХ аналізували на вміст</p>

14C методом прискорювальної мас-спектрометрії (ПМС). Використовували зворотно-фазову ВЕРХ у поєднанні з офлайн-радіометричним детектуванням для отримання профілів метаболітів [14C]летермовіру. Структури метаболітів були запропоновані з використанням мас-спектрометрії, а у випадку з ацил-глюкуронідом М7, були аутентифіковані за допомогою синтетичного стандарту.

Для токсикокінетичних досліджень концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали методами РХ/МС/МС, які були валідовані відповідно до належної лабораторної практики (GLP).

Таблиця 2.6.4:1 Правильність та точність кількісного визначення летермовіру в плазмі

Вид/Матриця	Стандарти		Зразки контролю якості	
	Правильність аналізу GLP (%)	Точність аналізу GLP (%)	Правильність аналізу GLP ^a (%)	Точність аналізу GLP ^a (%)
Щур/Плазма ^b	-5,81 - 5,07	1,0 - 6,5 ^b	-12,6 - 4,07	0,693 - 14,7
Собака/Плазма ^c	-5,46 - 10,9	НР ^b	-8,21 - 1,85	0,8 - 10,2
Мавпа/Плазма ^d	-6,15 - 6,96	НР ^b	-8,90 - 1,38	0,418 - 8,87
Кролик/Плазма ^e	-5,88 - 5,51	НР ^b	-12,4 - -4,0	2,6 - 15,1
Миша/Плазма ^e	-3,61- 3,02	НР ^b	-9,99 - -2,27	1,24 - 2,95

^a Включає статистику нижньої межі кількісного визначення (НМКВ)

^b НР = не розраховували; n ≤ 2.

^b Результати на основі середніх значень та значень правильності, сформованих у M1187 Версія 4 [Посил. 4.2.2.1:04НМW0], A&M 09-043 [Посил. 4.2.2.1: 04KB35], VR BP-0079 GLP Плазма Щури [Посил. 4.2.2.1:03X9JY].

^c Результати на основі середніх значень та значень правильності, сформованих у M1187 Версія 1 [Посил. 4.2.2.1:04КМV6] та 2 [Посил. 4.2.2.1:04НМVY].

^d Результати на основі середніх значень та значень правильності, сформованих у M1187 Версія 3 [Посил. 4.2.2.1:04НМVZ], A&M 09-043, LCMS 443 [Посил. 4.2.2.1: 04HSSR]. LCMS 443.1 [Посил. 4.2.2.1: 04HS6B]

^e Результати на основі середніх значень та значень правильності, сформованих у M1187 Версія 4.

^e Результати на основі середніх значень та значень правильності, сформованих у A&M 09-043.

* Результати з VR BP-0079 GLP Плазма Щури; результати %КВ інших методів НР.

Примітка. Повна інформація про наведені тут значення представлена у Зведеному звіті про валідацію біоаналітичних методик, що використовуються для підтримки доклінічної програми летермовіру [Посил. 4.2.2.1: 04KSFR]. Додаткова інформація представлена в РК036 [Посил. 4.2.2.7: РК036МК8228].

Таблиця 2.6.4:2 Біоаналітичні методики та опис кількісного визначення для аналізу летермовіру

ТТ#	Назва дослідження	Вид (шгам)	Опис методу РХ/МС/МС	GLP
		Собака		

TT# 05- 7831	AIC090027: Дослідження фармакокінетики/токсичності одноразової пероральної дози у собак бігль, не- GLP	Собака (Бігль)	Матриця аналізу: плазма собаки Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,25-1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 1 [Посил.4.2.2.1:04HNV6]	Ні
TT# 05- 7832	AIC090027: 14-денне дослідження токсичності перорального застосування через зонд у собак бігль, не-GLP	Собака (Бігль)	Пошуковий лабораторний аналіз	Ні
TT# 00- 5561	BAU 73-6327: Вплив на гемодинаміку, ЕКГ та дихання у собак бігль під анестезією після одноразового внутрішньодуоденального введення	Собака (Бігль)	Матриця аналізу: плазма собаки Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 1,0 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 2 [Посил.4.2.2.1:04HNVY]	Так
Щур				
TT# 05- 7817	BAU 73-6327: Дослідження субгострої токсичності у щурів Вістар (4-тижневе введення через зонд)	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,5 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 2 [Посил.4.2.2.1:04HNVY]	Так
TT# 05- 7818	BAU 73-6327: Дослідження субхронічної токсичності перорального застосування у щурів (13-тижневе введення через зонд з періодом відновлення 4 тижні)	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,25 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 4 [Посил.4.2.2.1:04HNVW0]	Так
TT# 05- 7825	BAU 73-6327: Дослідження онтогенетичної токсичності у щурів після перорального введення	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,25 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 3 [Посил.4.2.2.1:04HNVZ]	Так
TT# 05- 7829	BAU 73-6327: Токсикокінетичне дослідження у щурів після 14-денного перорального введення (240 мг/кг/доза)	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,5 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 3 [Посил.4.2.2.1:04HNVZ]	Так

TT# 10- 7840	AIC090027 (AIC246): Дослідження фармакокінетики/токсичності внутрішньовенного (болосного) застосування одноразових доз у щурів	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5]	Ні
TT# 10- 7852	AIC090027: Дослідження фертильності та ранньої ембріональної токсичності перорального (зонд) застосування у самців щурів	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5]	Так
TT# 10- 7855	AIC090027: Дослідження токсичності 26-тижневого перорального (зонд) застосування у щурів з 4-тижневим періодом без лікування	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5]	Так
TT# 10- 7856	AIC090027 (AIC246): Дослідження пошуку діапазону доз з 14-денним внутрішньовенним (болосним) застосуванням у щурів	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5]	Ні
TT# 10- 7858	AIC090027 (AIC246): Дослідження токсичності 28-денного внутрішньовенного (болосного) застосування у щурів з 2-тижневим періодом без лікування	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5]	Так

		АІС090027: Дослідження пре- та постнатального розвитку після перорального (зонд) застосування у щурів	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 - 5000 нг/мл Метод валідації: A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04КВВ5] Матриця аналізу: кров щура Обробка зразків: метод сухої краплини крові Діапазон аналізу: 1,00 - 1000 нг/мл Метод валідації: A&M 10-038 Частина I [Посил.4.2.2.1: 04HNRM] Матриця аналізу: молоко щура (біоаналітичний аналіз не проводили)	Так
ТТ# 10-7860					
ТТ# 14-1010		МК-8228: Пошукове токсикокінетичне дослідження одноразових пероральних доз у самок щурів лонг еванс	Щур (Лонг- Еванс)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 21 - 21000 нг/мл Метод валідації: ВР-0079 [Посил.4.2.2.1: 03VХJ9]	Ні
ТТ# 14-9001		3-денне дослідження фототоксичності та оцінка біоаналізу у пігментованих самок щурів лонг еванс	Щур (Лонг- Еванс)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 21 - 21000 нг/мл Метод валідації: ВР-0079 [Посил.4.2.2.1: 03VХJ9]	Так
ТТ# 16-7150		Дослідження фертильності та токсикокінетики після перорального введення у самців щурів	Щур (Вістар)	Матриця аналізу: плазма щура Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 21 - 21000 нг/мл Метод валідації: ВР-0079 [Посил.4.2.2.1: 03VХJ9]	Так
Мавпа					
ТТ# 05-7819		ВАУ 73-6327: Дослідження субгострої токсичності перорального застосування у макак резус (4-тижневе введення через зонд)	Мавпа (Резус)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 0,2 - 200 нг/мл Метод валідації: М1187 Версія 3 [Посил.4.2.2.1:04НМVZ]	Так

TT# 05- 7821	AIC-001: 13-тижневе дослідження токсичності перорального застосування у мавп з 4-тижневим періодом відновлення	Мавпа (Cynomolgus)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: а) 0,100 - 100 нг/мл б) 20,0 – 20000 нг/мл Метод валідації: а) LCMSC 443 V 1.00 [Посил.4.2.2.1:04HS5R] б) LCMSC 443 V 1.00 [Посил.4.2.2.1:04HS6B]	Так
TT# 08- 7908	AIC-001: Дослідження токсичності з 14-денним пошуком діапазону пероральних доз у мавп	Мавпа (Cynomolgus)	Пошуковий лабораторний аналіз (Аналіз плазми проводили не за умов GLP за Додатком № 1 до Протоколу)	Так
TT# 11- 7853	AIC090027: 39-тижневе дослідження токсичності перорального (зонд) введення у мавп з 6-тижневим періодом без лікування	Мавпа (Cynomolgus)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 – 5000 нг/мл Метод валідації: : A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04KBB5]	Так
TT# 11- 7857	AIC090027 (AIC246): Дослідження токсичності максимальної переносимої дози (МПД) з подальшим 14-денним внутрішньовенним (болосним) введенням фіксованої дози у мавп	Мавпа (Cynomolgus)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 – 5000 нг/мл Метод валідації: : A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04KBB5]	Ні
TT# 11- 7859	AIC090027 (AIC246): 28 днів: Дослідження токсичності внутрішньовенного (болосного) введення у мавп з 2-тижневим періодом без лікування	Мавпа (Cynomolgus)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 – 5000 нг/мл Метод валідації: : A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04KBB5]	Так
TT# 11- 7863	AIC090027 (AIC246): Дослідження чоловічої фертильності після 13-тижневого перорального (зонд) введення у мавп Cynomolgus з 8-тижневим періодом відновлення	Мавпа (Cynomolgus)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 – 5000 нг/мл Метод валідації: : A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04KBB5]	Так

ТТ# 13- 1135	МК-8228: Пошукове дослідження переносимості одноразової внутрішньовенної дози у мавп <i>Cynomolgus</i>	Мавпа (<i>Cynomolgus</i>)	Матриця аналізу: плазма мавпи Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5,25 – 5250 нг/мл Метод валідації: : BP-0071 [Посил.4.2.2.1: 04JFK]	Ні
Миша				
ТТ# 11- 7854	AIC090027: 13-тижневе дослідження токсичності перорального (зонд) введення у мишей	Миша (CD-1)	Матриця аналізу: плазма миші Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 5 – 5000 нг/мл Метод валідації: : A&M 09-043 [Посил.4.2.2.1: 04KBV5]	Так
Кролик				
ТТ# 05- 7830	BAU 73-6327: Дослідження онтогенетичної токсичності у кроликів після перорального застосування	Кролик (Гімалайський)	Матриця аналізу: плазма кролика Обробка зразків: осадження білку Діапазон аналізу: 1 - 1000 нг/мл Метод валідації: M1187 Версія 4 [Посил.4.2.2.1:04NMW]	Так
2) абсорбція	<p>Щур</p> <p>Фармакокінетичну поведінку летермовіру вивчали після одноразового внутрішньовенного (в/в) та перорального (п/о) введення шурам Вістар. Після одноразового в/в введення 0,3 і 1 мг/кг концентрація летермовіру в плазмі виявляла двофазне зниження. На основі некомпартментного аналізу було розраховано, що CL_p, V_{dss} і T_{1/2} становлять 35,8 мл/(хв•кг), 3,01 л/кг та 3,3 год відповідно.</p> <p>Корекція CL_p для розподілу з крові на плазму 0,64 у щурів призвела до кліренсу з крові 56,7 мл/(хв•кг), що вказує на те, що летермовір має помірний кліренс у цього виду.</p> <p>Після одноразового перорального введення 1 мг/кг шурам летермовір швидко досягав середньої максимальної концентрації у плазмі (C_{max}) 201 нг/мл через 0,5 год. Абсолютна пероральна біодоступність летермовіру у щурів становила 55% на основі пероральної дози 1 мг/кг та в/в дози 0,3 мг/кг. Форма та нахил термінальної фази профілів концентрація/час після внутрішньовенного та перорального введення шурам виявилися подібними, що свідчить про те, що механізми розподілу та елімінації подібні для обох шляхів введення.</p> <p>Дозозалежність експозиції летермовіру вивчали після одноразового в/в та п/о введення. Результати свідчать про те, що летермовір демонстрував дещо більше, ніж пропорційно дозі, збільшення AUC_{0-∞} після в/в введення в діапазоні доз 0,3-1 мг/кг. Подібним чином AUC_{0-∞} та C_{max} збільшилися більше, ніж пропорційно дозі, після перорального введення в діапазоні доз від 1 до 10 мг/кг.</p>			

У токсикологічних дослідженнях після в/в та перорального введення в діапазоні доз від 3 до 100 мг/кг та від 17 до 180 мг/кг відповідно $AUC_{0-24 \text{ год}}$ збільшувалася більше, ніж пропорційно дозі, після в/в та перорального введення, значущої різниці в експозиції летермовіру між самцями та самками щурів не спостерігали. Крім того, експозиція летермовіру в токсикологічних дослідженнях загалом була подібною між одноразовою та багаторазовою дозами в діапазоні доз від 3 до 100 мг/кг (в/в) та від 17 до 180 мг/кг (п/о).

Кролик

Пероральну фармакокінетику летермовіру оцінювали у самиць гімалайських кроликів ($n=3$) з токсикологічних досліджень після багаторазових доз 25, 75 та 225 мг/кг. $AUC_{0-24 \text{ год}}$ збільшувалася більше, ніж пропорційно дозі, в усьому діапазоні доз. C_{max} збільшувалася більше, ніж пропорційно дозі, між низькою та середньою дозою та менше, ніж пропорційно дозі, між середньою та високою дозою у кроликів.

Примати, крім людини

Макака резус

Фармакокінетичну поведінку летермовіру оцінювали у самок макак резус після одноразового внутрішньовенного та перорального введення. Після одноразового в/в введення 0,1 і 1 мг/кг концентрація летермовіру в плазмі виявляла двофазне зниження. Некомпаративний аналіз даних концентрації/час при в/в дози 0,1 мг/кг показав середні геометричні значення (\pm СВ, геометричні) для CL_p , V_{dss} та $T_{1/2}$ $17,3 \pm 1,10$ мл/(хв•кг), $1,30 \pm 1,83$ л/кг та $4,9 \pm 1,5$ год відповідно. Корекція CL_p для розподілу з крові на плазму 0,61 у мавпи призвела до кліренсу з крові $28,3$ мл/(хв•кг), що вказує на те, що летермовір мав помірний кліренс у цього виду.

Після одноразового перорального введення 1 мг/кг макаці резус летермовір швидко досягав середньої C_{max} у плазмі (\pm СВ, геометричний) $19,1 \pm 2,15$ нг/мл при $1,82 \pm 1,74$ год. Абсолютна пероральна біодоступність летермовіру у макак резус становила $14,2 \pm 1,4\%$ на основі пероральної дози 1 мг/кг та в/в дози 0,1 мг/кг. Форма та нахил термінальної фази летермовіру після одноразової пероральної та в/в дози у мавп виявилися подібними, що свідчить про те, що механізми розподілу та елімінації були подібними після в/в та п/о введення. У деяких дослідженнях у макак резус незначний вторинний пік спостерігався пізніше (≥ 30 год). Хоча у окремих осіб це не спостерігається постійно, не можна виключати потенціал ентерогепатичної рециркуляції.

Дозозалежну експозицію летермовіру вивчали після одноразового в/в та п/о введення макакам резус. Результати свідчать про те, що летермовір демонстрував незначно більше, ніж пропорційно дозі, збільшення $AUC_{0-\infty}$ після в/в введення в діапазоні доз від 0,1 до 1 мг/кг. Подібним чином $AUC_{0-\infty}$ та C_{max} після перорального введення збільшувалися більше, ніж пропорційно дозі, в межах доз від 1 до 10 мг/кг.

Мавпа *Сynomolgus*

Фармакокінетичну поведінку летермовіру оцінювали у самців та самиць мавп *Сynomolgus* у діапазоні доз від 10 до 100 мг/кг після

	<p>внутрішньовенного введення та від 25 до 250 мг/кг після пероральних одноразових та багаторазових доз. Після одноразового та багаторазового введення мавпам Synomolrus AUC_{0-24 год} летермовіру збільшувалася більше, ніж пропорційно дозі, в усьому діапазоні доз, незалежно від шляху введення. Експозиція летермовіру після багаторазових пероральних доз у мавп Synomolrus, як правило, зменшувалася більше ніж у 2 рази в декількох токсикологічних дослідженнях в межах досліджуваного діапазону доз. Зменшення експозиції після багаторазових доз відповідає тому, що летермовір є індуктором шляхів його кліренсу. Спостереження in vivo було доповнено дослідженнями in vitro, яке оцінювало схильність летермовіру індукувати експресію CYP3A64 у гепатоцитах мавп Synomolrus. Інкубації летермовіру в цій системі in vitro призвели до збільшення залежної від концентрації експресії інформаційної РНК (іРНК) CYP3A64 (73% позитивного контролю рифампіцину (10 мкМ) при 30 мкМ летермовіру), що підтверджує гіпотезу про те, що летермовір може індукувати шляхи його елімінації in vivo у мавп.</p>
3) розподіл	<p>Розподіл у тканинах щурів</p> <p>Розподіл радіоактивності, пов'язаної з [¹⁴C]летермовіром, у тканинах щурів вивчали за допомогою якісної та кількісної авторадіографії всього тіла.</p> <p>Під час дослідження з якісною авторадіографією всього тіла [¹⁴C]летермовір вводили у дозі 3 мг/кг внутрішньовенно або перорально самцям білих щурів лінії Вістар, перорально самкам білих щурів лінії Вістар та перорально самцям пігментованих щурів Лонг-Еванс. Розподіл радіоактивності, пов'язаної з [¹⁴C]летермовіром у тканинах визначали через 2, 4, 8, 24, 72 та 168 годин після перорального прийому та через 5 хв та 2 години після внутрішньовенного введення для самців білих щурів лінії Вістар, через 2 та 24 год у самок білих щурів лінії Вістар, та через 24 год у самців пігментованих щурів Лонг-Еванс. Розподіл радіоактивності [¹⁴C]летермовіру був подібним серед непігментованих щурів, незалежно від статі та шляху введення. Радіоактивність [¹⁴C]летермовіру швидко і широко поширювалася по органах і тканинах, її найбільша інтенсивність була виявлена в шлунково-кишковому тракті, жовчному протоці та печінці. Протягом усього дослідження, пов'язана з радіоактивністю активність була низькою або нижчою за вимірюваний рівень у центральній нервовій системі, а саме у головному та спинному мозку, що вказує на те, що летермовір не проникає легко через гематоенцефалічний бар'єр. Найвищий рівень радіоактивності в різних тканинах спостерігався через 5 хв після внутрішньовенного введення та через 2 години після перорального введення, незалежно від статі та штаму щурів.</p> <p>В усіх тканинах елімінація радіоактивності, пов'язаної з [¹⁴C]летермовіром, була майже повною через 72 години, за винятком печінки та шлунково-кишкового тракту. Низький рівень радіоактивності все ще спостерігався в печінці та шлунково-кишковому тракті через 168 годин. У пігментованого щура Лонг-Еванс радіоактивність в тканині ока через 24 години відповідала фоновому рівню, що свідчить про те, що летермовір та пов'язана з</p>

ним радіоактивність не зв'язується з меланіном.

Схожий результат спостерігався в дослідженні з кількісною авторадіографією всього тіла після перорального введення [¹⁴C]летермовіру вагітним білим щурам лінії Спраг-Долі у дозі 3 мг/кг. Розповсюдження радіоактивності, пов'язаної з летермовіром, у тканинах визначали через 1, 4, 8, 24 та 48 годин. Відносно висока концентрація радіоактивності була виявлена в матці, кліторі, шлунково-кишковому тракті, жовчному протоці та печінці. Радіоактивність у головному та спинному мозку вимірювалася у концентраціях близьких до нижньої межі кількісної оцінки через 1 та 4 години після дозування, що вказує на те, що летермовір не проникає легко через гематоенцефалічний бар'єр.

Передача через плаценту

Розподіл радіоактивності, пов'язаної з [¹⁴C]летермовіром, у тканинах плода досліджували після введення разової пероральної дози 3 мг/кг вагітним білим щурам лінії Спраг-Долі на 18 день вагітності. Розподіл радіоактивності, пов'язаної з летермовіром, у тканинах матері та плода визначали через 1, 4, 8, 24 та 48 годин після введення. Радіоактивність, пов'язана з препаратом, була присутня в тканинах плода через 1, 4 та 8 годин, причому найвищі концентрації радіоактивних речовин спостерігались через 4 години після введення дози. В цілому співвідношення радіоактивності, пов'язаної з летермовіром, між тканиною плода та материнською плазмою було низьким. Однак вимірювані концентрації радіоактивності в тканинах плода вказують на те, що речовини, пов'язані з [¹⁴C]летермовіром, можуть передаватися через плаценту у щурів.

Зв'язування з білками плазми

Ступінь зв'язування летермовіру з білками у мишей, щурів, кроликів, собак, макак резус та плазми людини оцінювали за допомогою ультрафільтрації. Крім того, за допомогою рівноважного діалізу визначали частку летермовіру, що зв'язується з плазмою мавп *Супомолгус* та плазмою, отриманою від здорових людей-добровольців із середньою та важкою нирковою та печінковою недостатністю. Летермовір сильно зв'язувався з білком плазми у всіх видів тварин. Середній відсоток незв'язаного летермовіру в плазмі становив 2,4%, 2,2%, 2,1%, 0,7%, 1,8% та 1,3% у мишей, щурів, кроликів, собак, макак резус та людей відповідно, що свідчить про те, що відсоток незв'язаного летермовіру у людини відрізняється, як правило, менш ніж у два рази порівняно з доклінічним видом. Зв'язування з білками плазми у всіх випробуваних видів не залежало від концентрації летермовіру (приблизно від 0,2 до ~50 мг/л; приблизно від 0,3 до ~88 мкМ). Середній відсоток незв'язаного летермовіру в плазмі мавпи *Супомолгус* становив 4,1% ± 1,4% і збільшувався незначно в межах досліджуваного діапазону концентрацій (0,57–5,7 мг/л; 1–10 мкМ).

Залежне від рН зв'язування летермовіру з білками плазми людини досліджували *in vitro* шляхом регулювання рН плазми людини до значень від 7,2 до 7,8. Частку незв'язаного летермовіру визначали за допомогою ультрафільтрації, і вона не зазнавала суттєвих змін

	<p>у випробуваному діапазоні рН.</p> <p>Афінність зв'язування летермовіру з сироватковим альбуміном людини (HSA) та α1-кислотним глікопротеїном (AGP) оцінювали за допомогою сироваткового альбуміну людини, α1-кислотного глікопротеїну та кульок Transil® HSA та Transil® AGP.</p> <p>Летермовір виявляв здатність до зв'язування як з HSA, так і з AGP. Нижча частка незв'язаного летермовіру, що спостерігається у присутності HSA (5,18% незв'язаного) порівняно з AGP (21,9% незв'язаного), свідчить про те, що летермовір зв'язується головним чином із сироватковим альбуміном людини.</p> <p>Зв'язування летермовіру з білками оцінювали у плазмі пацієнтів з помірною і тяжкою нирковою недостатністю та порівнювали із зв'язуванням з білками плазми відповідних здорових пацієнтів. Відсоток незв'язаного летермовіру в плазмі був подібним між здоровими (0,94%) та пацієнтами з помірною (1,05%) або важкою (1,19%) нирковою недостатністю, що вказує на те, що ниркова недостатність суттєво не впливає на зв'язування летермовіру з білками плазми.</p> <p>Зв'язування летермовіру з білками також оцінювали у плазмі пацієнтів з помірною і тяжкою печінковою недостатністю та порівнювали із зв'язуванням з білками плазми відповідних здорових пацієнтів. Відсоток незв'язаного летермовіру у плазмі був подібним у здорових пацієнтів (0,94% та 0,99%) та осіб із печінковою недостатністю (1,09% та 1,42%), що вказує на те, що порушення функції печінки суттєво не впливає на зв'язування летермовіру з білками плазми крові. Дещо вищий середній відсоток незв'язаності - 1,42%, що спостерігався у випробуванні із важкою печінковою недостатністю, був зумовлений двома особами (з восьми випробуваних).</p> <p>Розподіл між кров'ю та плазмою</p> <p>Співвідношення концентрацій летермовіру у крові та плазмі (CB/CP) оцінювали у цільній крові самців щурів лінії Вістар, самок собаки бігль, самок макак резус та чоловіків.</p> <p>Співвідношення CB/CP не залежало від концентрації летермовіру в діапазоні концентрацій від 0,1 до 10 мг/л (0,2–17 мкМ). За підрахунками, середні арифметичні співвідношення CB/CP становлять 0,64, 0,49, 0,61 та 0,56 у щурів, собак, мавп та людини відповідно.</p>
4) метаболізм	<p>Метаболізм in vivo у щурів</p> <p>Біотрансформацію та виведення [14C]летермовіру вивчали після введення внутрішньовенних та пероральних доз 3 мг/кг самцям щурів лінії Вістар з канюльованими жовчними протоками (КЖП). Радіоактивність, пов'язана з [14C]летермовіром, здебільшого виводилася у жовчі (92,1% при внутрішньовенній дозі; 77,6% при пероральній) (2,2% при в/в; 15,3% при п/о) протягом перших 24 годин. Летермовір являв собою більшість радіоактивних речовин, виділених із сечею, незалежно від шляху введення. Після внутрішньовенного введення щурам з КЖП радіоактивність виведена у жовчі складалася з подібних кількостей незміненого препарату (15,7% радіоактивної дози), окисного метаболіту (M1, 21,7%) та ацил-глюкуроніду (M7, 21,3%). Решта радіоактивності (~34%) складалася з декількох метаболітів невідомої</p>

біотрансформації. Метаболіт М1 утворюється в результаті окислення 3-метоксифенільної частини летермовіру. Після перорального введення шурам радіоактивність жовчі складалася переважно з М7 (35,5% радіоактивної дози) та незначних кількостей летермовіру (8,3%) та М1 (7,7%). Інша радіоактивність (~26%) складалася з декількох метаболітів невідомої біотрансформації. Більшість радіоактивних речовин в калі складалася з летермовіру (1,4% радіоактивної дози після в/в та 4,8% після п/о) та М1 (0,5% після в/в та 4,3% після п/о). Крім того, профіль метаболізму летермовіру вивчали у інтактних щурів лінії Вістар після внутрішньовенного та перорального введення [¹⁴C]летермовіру у дозі 1 мг/кг та 3 мг/кг відповідно. Більшість радіоактивних речовин, виділених протягом 48 годин (92,2% після в/в та 90,0% після п/о), було виділено в калі, незалежно від шляху введення у формі вихідної сполуки. (14,7% після в/в та 11,4% після п/о дози) та М1 (23,7% після в/в та 19,7% після п/о дози). Ацил-глюкуронід летермовіру (М7) не спостерігався в калі інтактних щурів [Розділ 2.6.5.18]. Залишкова радіоактивність (~50% після в/в та ~60% після п/о) була виведена у вигляді декількох метаболітів невідомих хімічних структур. Виявлення М7 у жовчі щурів з КЖП але не в калі інтактних щурів відповідає гідролізу ацил-глюкуронідів у шлунково-кишковому тракті.

Незалежно від способу введення, летермовір являв собою більшу частину радіоактивності, пов'язаної з ліками, що циркулювала у плазмі щурів. Крім того, окисний метаболіт (М5) був компонентом циркулюючої радіоактивності у плазмі, являючи собою ~25% від загальної площі під кривою для плазми. Є теорія, що М5 утворюється шляхом окисного деметилування 2-метокси-5-трифторметилфенільної групи з подальшим внутрішньомолекулярним нуклеофільним заміщенням 3-метоксифеніл-піперазинільної частини. Примітно, що цей метаболіт не був виявлений у плазмі людини.

Метаболізм in vivo у людини

Профіль метаболізму [¹⁴C]летермовіру вивчали на здорових добровольцях чоловічої статі (n=8) у стабільному стані. Немаркований летермовір вводили двічі на день по 80 мг протягом чотирьох днів, перш ніж кожен суб'єкт отримував разову дозу 80 мг летермовіру в поєднанні з індикаторною дозою 325 нКі [¹⁴C]летермовіру на 5 день. Зразки плазми, сечі та калу збирали у різний час з різними інтервалами, аж до 336 годин (14 днів) після введення дози на 5 день. Радіоактивність була повністю виведена (94,7% дози) через 336 годин після введення дози. Більшість радіоактивних речовин було виявлено в калі (93,3% дози), а незначна кількість (1,4% дози) - у сечі. Очікується, що більша частина радіоактивності, виділеної в калі, походить від абсорбованого препарату, внаслідок високої біодоступності, що спостерігається для здорових осіб (~94%). З радіоактивності, виявленої в калі, більшість становив вихідний препарат (~70% дози), разом з ацил-глюкуронідом (~6% дози; М7) та чотири метаболіти (~4% кожен) невідомої біотрансформації. Глюкуроніди, як правило, гідролізуються кишковими бактеріями,

що відповідає нижчим рівням метаболіту глюкуроніду, що виділяється в екскрементах інтактних щурів, порівняно з щурами з канюльованими жовчними протоками. Таким чином, 6% дози, що виділяється з калом людини у вигляді ацилглюкуроніду, може не відповідати загальній мірі глюкуронізації. Наявність вторинного піку у деяких особин може свідчити про ентогепатичну рециркуляцію, що ще більше заважає точному аналізу цього процесу. Роль глюкуронілтрансфери (УДФ-ГТ, UGT) у кліренсі летермовіру оцінювали додатково, досліджуючи вплив поліморфізму УДФ-ГТ, UGT1A1*28 та UGT1A1*6 на вплив летермовіру на основі інтегрованих даних етапу 1. Обидва алельні варіанти UGT1A1 пов'язані зі зниженим функціонуванням, що призводить до збільшення впливу субстратів UGT1A1, таких як ралтегравір (у 1,4 рази) та долутегравір (у 1,6 рази). Аналіз даних про летермовір з 1 етапу, стратифікованих за генотиповими варіантами показав, що летермовір мав дещо сильніший вплив у людей з UGT1A1*6 (збільшуючи вплив на від ~22% до 36%) порівняно з популяцією дикого типу. На відміну від цього, посилений вплив не спостерігався серед осіб з найбільш поширеним алельним варіантом (UGT1A1*28).

В цілому, перорально летермовір демонструє високу біодоступність та низький кліренс у здорових людей. Після перорального та внутрішньовенного введення людям загальний плазмовий кліренс вказує на низький рівень екстракції кишечником та печінкою (екстракція печінкою ~5%). Таким чином, навіть за припущення, що невелика частина, що виводиться в кишечнику та/або печінці, виводиться виключно завдяки метаболізму, не передбачається, що модуляція основних метаболічних шляхів суттєво змінить вплив летермовіру. Для високоекстрагуючих субстратів УДФ-ГТ індукція та інгібування призвели до щонайбільш 2-кратного ефекту. Отже, очікується, що для сполуки з низькою екстракцією, такої, як летермовір, активація УДФ-ГТ-опосередкованого шляху метаболізму буде набагато слабкішою, ніж у 2 рази, і залишиться в клінічних межах для летермовіру у пацієнтів.

Концентрація летермовіру в плазмі крові та загальна радіоактивність протягом 48 годин вказують на те, що летермовір був основним компонентом циркуляції у плазмі людини. Радіохромограми на зразках плазми крові людини, зібраних на протязі 48 годин, підтверджують, що летермовір являє собою основний радіоактивний пік у плазмі, він відповідає 96,6% від загальної кількості лікарського засобу. Залишкова радіоактивність 3,4% належить трьом структурно нехарактеризованим метаболітам.

У клінічному дослідженні здоровим добровольцям та суб'єктам з печінковою недостатністю вводили летермовір у дозі 60 мг на день протягом 8 днів і визначали наявність метаболіту ацилглюкуроніду шляхом вимірювання концентрації летермовіру у зразках плазми, отриманих у два моменти часу (1,5 години та 6 годин) до та після введення гідроксиду натрію. Відомо, що лужна середовище гідролізує ацилглюкуроніди *in vitro*. Таким чином, різницю в концентраціях летермовіру до та після введення гідроксиду

натрію можна пояснити наявністю метаболітів ацил-глюкуроніду. Різниця в концентрації летермовіру в плазмі крові людини до та після введення лугу вказує на те, що ацилглюкуронід летермовіру був присутній у невисоких кількостях (3% та 15% вихідної сполуки). Окрім наявності хроматографічно відокремлених піків летермовіру та ацил-глюкуроніду, слід зазначити, що точність вимірювання концентрації летермовіру під час цього аналізу накладалася на ступінь зміни концентрації, що спостерігається після обробки гідроксидом натрію. Тому співвідношення концентрацій летермовіру, отримані в цьому дослідженні, слід інтерпретувати з обережністю.

Під час деяких досліджень на людях незначний вторинний пік спостерігався пізніше (≥ 12 годин), що може свідчити про enteroгепатичну рециркуляцію. Це спостерігалось не в усіх осіб та не під час кожного з досліджень. Подібна тенденція спостерігалася у макак резус, але не у гризунів чи собак. Тим не менше, не можна виключати можливість enteroгепатичної рециркуляції при розподілі летермовіру.

Метаболізм in vitro

Біотрансформація [^{14}C]летермовіру досліджувалась у мікросомній суспензії з додаванням НАДФН печінки миші CD-1, миші NMRI, щура лінії Вістар, гімалайського кролика, собаки бігль, макаки резус та людини, та у посівах гепатоцитів миші CD-1, щура Wistar Hannover, гімалайського кролика, собаки бігль, мавпи *cynomolgus* та людини. Через зміну виду мавп з Rhesus на *cynomolgus* протягом всієї токсикологічної програми, дослідження метаболізму спочатку проводились з використанням мікросомної суспензії печінки резус-мавпи, а потім почали використовувати гепатоцити мавпи *cynomolgus*. Летермовір проявляв низький рівень метаболічної утилізації після інкубації з мікросомною суспензією печінки або гепатоцитами у всіх видів. У якісній формі профілі метаболізму, що спостерігалися в мікросомній суспензії печінки та гепатоцитах, були однаковими у всіх видів, і всі передбачувані у людини метаболіти спостерігались у препаратах печінки від мишей, щурів, кроликів та мавп *cynomolgus*. У гепатоцитах глюкуронізація летермовіру була основним шляхом метаболізму у всіх видів, включаючи людину, утворюючи ацил-глюкуроніди M7, M8 та M9. Додатковий метаболіт ацилглюкуронід M10 спостерігався у посівах з рекомбінантними ізоформами УДФ-ГТ. Також спостерігали всього чотири малі первинні окисні метаболіти, з яких M11, утворений за допомогою N-деарилування 3-метоксифенільної частини, спостерігався у всіх видів, крім кроликів.

Додаткові метаболіти, що спостерігаються лише в інкубаціях гепатоцитів з доклінічних видів, були отримані в результаті окислення хінолонової частини (M2), O-деметилування 3-метоксифенільної частини (M3), знежирення піперазинової частини (M14). Чотири вторинні метаболіти також спостерігалися в інкубаціях гепатоцитів з доклінічних видів і були отримані або через O-деметилування 2-метокси-5-трифторметилфенільної групи (M4) і подальшого нуклеофільного заміщення піперазинової частини (M5), окислення (M13) або поєднання окислення та

	<p>глюкуронізації (M12) або метилювання (M15). Після інкубації летермовіру з мікросомною суспензією печінки з НАДФН, спостерігали загалом вісім окисних метаболітів. Найбільш поширеним окисним метаболітом у мікросомальних інкубаціях печінки був M1, утворений гідроксилюванням 3-метоксифенільної частини. Було відмічено кілька незначних первинних окисних метаболітів, включаючи M2, M3, M4, M5 та M6, що утворювався завдяки N-деалкилюванню піперазинової частини, та M11, на додаток до вторинного метаболіту M14.</p>
<p>5) виведення</p>	<p>Щур Виведення радіоактивності досліджували у самцях щурів лінії Вістар, інтактних та з канюльованими жовчними протоками, після одноразового внутрішньовенного та перорального введення [¹⁴C]летермовіру. Через сім днів кумулятивне виведення введеної радіоактивності було високим (93,8%) після внутрішньовенного та перорального (92,4%) введення інтактним щурам. Радіоактивність виводилася майже виключно у фекаліях із незначним вмістом у сечі (<0,8%). У щурів з канюльованими жовчними протоками загальне виведення радіоактивності завершилося через 24 годин після внутрішньовенного (95,9%) та перорального (98,5%) введення. Більшість радіоактивних речовин було виявлено в жовчі (92,1% в/в, 77,6% п/о) та фекаліях (2,8% в/в, 20,1% п/о; включаючи виведення в шлунково-кишковому тракті), із незначною кількістю у сечі щурів (<0,3%). Виведення радіоактивності у фекаліях щурів з канюльованими жовчними протоками свідчить про те, що невелика кількість речовини зазнає кишкової секреції (~3%), і приблизно 17% введеної пероральної дози не всмоктується.</p> <p>Мавпа резус Виведення радіоактивності вивчали у інтактних мавпах після введення одноразової внутрішньовенної дози 1 мг/кг [¹⁴C]летермовіру. Зразки калу та сечі збирали протягом 168 годин, а сукупне виведення радіоактивності становило 92%. Більшість радіоактивних речовин було виявлено в калі (86,9%), мінімальна кількість - у сечі (4,06%).</p> <p>Людина У стабільному стані, після прийому летермовіру у дозі 80 мг двічі на день протягом чотирьох днів здорові чоловіки (n=8) отримували разову дозу 80 мг летермовіру в комбінації з капсулою, що містила 325 нКі [¹⁴C]летермовіру. Радіоактивність повністю (94,7% дози) виводилась протягом 336 годин після введення. Більшість введених радіоактивних речовин були виявлені в калі (93,3% ± 2,1%), а незначна кількість - у сечі (1,4% ± 0,3%). Більшість радіоактивних речовин було виявлено у фекаліях (91% ± 3,6%) протягом 120 годин після дозування, що вказує на те, що способи елімінації у людини та щурів були подібними.</p> <p>Оральна біодоступність летермовіру у здорових суб'єктів оцінювалася приблизно у 94%, на основі популяційного аналізу фармакокінетики з інтегрованих даних етапу 1, що свідчить про те, що більшість радіоактивних речовин, що виділяються в</p>

	<p>фекаліях людини, отримуються з абсорбованого препарату.</p> <p>Виділення з молоком щурів</p> <p>Виділення летермовіру в молоко годуючих щурів досліджували після введення одноразової пероральної дози летермовіру в дозі 10 мг/кг щурам Вістар на 10 день після пологів. Концентрацію летермовіру в молоці щурів визначали через 2, 4, 8 та 12 годин після введення дози у трьох щурів на кожен момент у часі; вона становила від 2,68 до 816 нг/мл. Результати показали, що летермовір виділяється в молоко щурів, що годують.</p>
<p>7) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)</p>	<p>Летермовір має вищий рівень впливу у здорових пацієнтів порівняно з реципієнтами трансплантацій гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК). Для відповідності цільовій популяції пацієнтів, значення впливу, отримані у пацієнта після внутрішньовенного та перорального введення використовувались для оцінки потенціалу взаємодії лікарських засобів (ВЛЗ). Оцінка ВЛЗ для кожного режиму дозування базувалася лише на впливі летермовіру та виключала можливість спричинення циклоспорином А (CsA) інгібування транспортерів та метаболізму, опосередкованого CYP3A, при одночасному застосуванні з летермовіром. У пацієнтів, що приймають циклоспорин А (CsA) та летермовір, опосередковані транспортерами взаємодії лікарських засобів, ймовірно, спричинені CsA. Циклоспорин А є потужним інгібітором кількох транспортерів, включаючи транспортери, які також інгібуються летермовіром.</p> <p>Дослідження <i>in vitro</i> показали, що летермовір є субстратом 5-дифосфоглюкуронозилтрансферази уридину (UGT) 1A1, UGT1A3, P-глікопротеїну (P-gp), органічних аніон-транспортуючих поліпептидів (OATP) 1B1 та OATP1B3. Отже, на фармакокінетику летермовіру можуть впливати інгібітори та індуктори цих ферментів та транспортерів, за припущення, що глюкуронізація, опосередкований P-gp вихід та опосередковане OATP1B поглинання печінкою відіграють важливу роль у кліренсі летермовіру у пацієнтів. Окрім того, що він є субстратом для CYP3A, CYP2D6 та CYP2J2, окислювальний метаболізм являв собою незначний шлях елімінації <i>in vivo</i>, і таким чином, зміни у впливі летермовіру внаслідок інгібування та індукції цих ізоформ CYP, швидше за все, не матимуть клінічного значення. Клінічне дослідження взаємодії з циклоспорином А, відомим інгібітором P-gp та OATP1B1/1B3, збільшило вплив летермовіру (у 2–3 рази) та дозволяє припустити, що OATP1B та, можливо, P-gp сприяють розповсюдженню летермовіру <i>in vivo</i>. Крім того, було встановлено, що летермовір є субстратом для транспортера BSEP (експортера жовчних солей) <i>in vitro</i>. Клінічне значення BSEP для розповсюдження летермовіру невідоме.</p> <p>Дослідження <i>in vitro</i> показали, що летермовір може пригнічувати метаболізуючі ферменти CYP3A, CYP2C8, UGT1A1 та індукувати CYP3A4 та CYP2B6. На рівні печінки, як передбачається, летермовір пригнічує CYP3A, CYP2C8 та UGT1A1 після внутрішньовенного введення та перорального введення пацієнтам. Крім того, летермовір може спричинити пригнічення кишкового</p>

	<p>CYP3A та UGT1A1, враховуючи максимальну теоретичну концентрацію в кишечнику при терапевтичних пероральних дозах. Клінічні дослідження взаємодії лікарських засобів між летермовіром (перорал.) та мідазоламом, відомим субстратом CYP3A, який вводили як внутрішньовенно, так і перорально, показали, що летермовір є помірним інгібітором CYP3A, впливаючи переважно на метаболізм кишечника, а також меншою мірою на печінку. Фармакокінетичне моделювання, засноване на фізіології (PBPK) було використане для прогнозування ризику пригнічення летермовіром CYP2C8 <i>in vivo</i>. У перспективному моделюванні ВЛЗ летермовір збільшив вплив субстратів CYP2C8 репаглініду у 2,4 та 3,6 рази, а розиглітазону у ~1,6 рази після внутрішньовенного та перорального введення, що дозволяє припустити, що летермовір може збільшувати плазмовий вплив субстратів CYP2C8 <i>in vivo</i>. Припускається, що індукційний сигнал, який спостерігається для CYP3A4 та CYP2B6 <i>in vitro</i>, опосередковується через ядерні рецептори PXR та CAR. Відомо, що обидва рецептори індукують кілька ферментів, що метаболізують лікарські засоби, включаючи CYP3A4, CYP2B6, CYP2C9 і CYP2C19. Летермовір, ймовірно, буде вводиться пацієнтам одночасно з антимикотиками, такими як вориконазол. Вориконазол виводиться переважно за допомогою CYP2C19 і незначною мірою через CYP3A та CYP2C9. Одночасно введений летермовір зменшував вплив вориконазолу (на 44% менша площа під кривою), що свідчить про те, що летермовір індукував шляхи елімінації вориконазолу, а саме метаболізм, опосередкований CYP2C19 та CYP2C9.</p> <p>Крім того, летермовір інгібував OATP1B1, OATP1B3, OAT3, P-gp, BCRP, OATP2B1, BSEP та MRP2 <i>in vitro</i>. Враховуючи вплив після перорального прийому у пацієнтів, передбачається, що летермовір пригнічує P-gp, BCRP, BSEP та MRP2 <i>in vivo</i>. Після внутрішньовенної інфузії 240 мг та 480 мг пацієнтам, передбачається, летермовір пригнічує P-gp, OATP1B3, BCRP, BSEP, MRP2 та OAT3 <i>in vivo</i>. Дослідження взаємодії лікарських засобів між летермовіром та аторвастатином, відомим субстратом для OATP1B1/1B3, BCRP та CYP3A, призвело до збільшення впливу аторвастатину в 3,3 рази. Взаємодія лікарських засобів, найімовірніше, зумовлена інгібуванням шляхів елімінації аторвастатину, опосередкованих CYP3A, OATP1B та, теоретично, BCRP (у кишечнику), і що дозволяє припустити, що летермовір має потенціал для збільшення впливу ліків, які є субстратами для опосередкованого OATP1B транспорту. Однак летермовір не змінив ФК ацикловіру, відомого субстрату OAT3 та дигоксину, відомого субстрату P-gp, у клінічно значущий спосіб.</p>
7) інші фармакокінетичні дослідження	Додаткові фармакокінетичні дослідження не проводилися.
4. Токсикологія:	
1) токсичність одноразової дози	Незважаючи на те, що інформація про гостру токсичність доступна в дослідженнях токсичності повторних доз, на щурах та мишах було проведено дослідження гострої токсичності, що оцінювало пероральне та внутрішньовенне введення летермовіру.

Це дослідження було проведено до остаточного затвердження керівництва ICH M3(R2), яке рекомендує не проводити дослідження токсичності одноразової дози, коли інформація про гостру токсичність доступна з будь-якого дослідження. Загалом, спостерігалася смертність після пероральної дози 2000 мг/кг щурам та дози 200 мг/кг внутрішньовенно щурам та мишам.

Гостра токсичність на щурах та мишах після перорального введення та на щурах та мишах після внутрішньовенного введення (ТТ #05-7826)

Завданням цього дослідження було оцінити гостру пероральну та внутрішньовенну токсичність у щурах та мишах. Летермовір вводили перорально дозою 2000 мг/кг 6 самкам мишей (Hsd WIN:NMRI) та щурам (Cpb: WU). Для IV частини дослідження 3 мишам-самкам та щурам вводили 200 мг/кг летермовіру, і додатково 6 мишам-самкам та щурам 30 мг/кг летермовіру. Препарат для перорального прийому складався з летермовіру, суспендованого в 0,5% водному розчині Tylose®; обсяг дози становив 10 мл/кг для обох видів. Препарат для внутрішньовенного введення складався з летермовіру, розчиненого в поліетиленгліколі 400 (PEG 400); обсяг дози становив 5 мл/кг для обох видів.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла та загальній оцінці патології. За тваринами спостерігали приблизно 14 днів після введення, а після цього їх розкривали.

Серед щурів одна тварина загинула через 8 днів після перорального прийому 2000 мг/кг. Пілоерекція, збільшення споживання води та діарея спостерігалися у цієї тварини та у двох інших тварин, що отримали дозу 2000 мг/кг. Клінічних ознак у другої групи з 3 тварин, які отримували перорально дозу 2000 мг/кг, не спостерігалось. Не було виявлено змін у вазі тіла, пов'язаних із досліджуваним препаратом, та жодних значних змін при розтині.

Усі щури загинули протягом 5 хвилин після внутрішньовенного введення дози 200 мг/кг. Перед смертю спостерігалися лежання на животі, судоми та/або важке дихання. Не було смертей після внутрішньовенного введення 30 мг/кг. Лежання на животі, тремор, зниження моторики, звужена пальпебральна щілина спостерігались у більшості тварин у день дозування. Ознаки місцевого подразнення в місцях ін'єкцій, включаючи посинілий хвіст, втрачений хвіст та некротичний хвіст, відзначалися з 2-го дня та під час розтину. Змін ваги тіла, пов'язаних з досліджуваним препаратом, не відбувалося.

Серед мишей не було смертей після перорального прийому дози 2000 мг/кг. Зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, обмежувались зниженою моторикою, пілоерекцією, звуженою пальпебральною тріщиною та діареєю, що спостерігалася в день дозування. Не було виявлено змін у вазі тіла, пов'язаних із досліджуваним препаратом, та жодних значних змін при розтині. Усі миші загинули протягом 10 хвилин після внутрішньовенного введення дози 200 мг/кг. Перед смертю спостерігалися лежання на животі, судоми та/або важке дихання. Не було смертей після

	<p>внутрішньовенного введення 30 мг/кг. Лежання на животі, тремор, зниження моторики, звужена пальпебральна щілина спостерігались у більшості тварин у день дозування. Ознаки місцевого подразнення в місцях ін'єкцій, включаючи посинілий хвіст та втрачений хвіст, відзначалися з 2-го дня та під час розтину. Змін ваги тіла, пов'язаних з досліджуваним препаратом, не відбувалося.</p> <p>Підсумок: відзначається летальність пероральної дози 2000 мг/кг у щурів та дози 200 мг/кг внутрішньовенно у щурів та мишей, і гостра токсичність спостерігалася як у мишей, так і у щурів після пероральної дози 2000 мг/кг та ≥ 30 мг/кг дози внутрішньовенно.</p>
<p>2) токсичність повторних доз</p>	<p>13-тижневе дослідження токсичності на мишах при пероральному введенні через зонд (ТТ #11-7854)</p> <p>Метою цього дослідження було визначити токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру внаслідок щоденного перорального введення мишам протягом 13 тижнів під час підготовки до потенційного довгострокового дослідження канцерогенності для мишей.</p> <p>Летермовір вводили щодня перорально у водному розчині 0,5% Tylose® 12 самцям і 12 самкам Hsd:ICR (CD-1®) мишей у кожній групі доз, у дозах 0, 40, 100 та 250 мг/кг/день протягом 13 тижнів. Для дослідження додатково були виділені 3 (контрольні) або 18 (дозові групи) самців та самок тварин-сателітів для кожної дозової групи; в них відібрано зразки для токсикокінетичної оцінки.</p> <p>Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла, споживанні їжі, офтальмологічних оглядах та клінічних та анатомічних оцінках патології. Визначали концентрацію летермовіру у плазмі крові у лікованих та контрольних групах.</p> <p>Незапланованих смертей, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було. Зміни передсмертного періоду, пов'язані з досліджуваним препаратом, обмежувались тимчасовим тертям роту після прийому у дозі 250 мг/кг/день у обох статей і, порівняно з контрольною групою, незначне зниження приросту маси тіла у самців при 100 мг/кг/день та 250 мг/кг/день (-23% та -15% відповідно). У споживанні їжі не було змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом.</p> <p>Незначні гематологічні спостереження у обох статей спостерігались при ≥ 100 мг/кг/день. Порівняно з контролем, вони полягали у дуже незначному збільшенні тромбоцитів (приблизно 28% та 15% у самок та самців відповідно при 250 мг/кг/день) із збільшенням кількості тромбоцитів у самок (приблизно на 18%) при 250 мг/кг/день, збільшення кількості ретикулоцитів у самців (приблизно на 24%) при 250 мг/кг/день, і дуже незначне зниження гемоглобіну у самців при ≥ 100 мг/кг/день (приблизно на 6% при 100 і 250 мг/кг/день). Ці невеликі зміни не корелювали з будь-якими патологоанатомічними змінами, вони мають невизначене відношення до досліджуваного препарату та не мають токсикологічної значущості, враховуючи їх малу величину.</p> <p>Порівняно з контролем, зміни біохімії сироватки, пов'язані з досліджуваним препаратом, були відзначені у обох статей при ≥ 100 мг/кг/день. При 250 мг/кг/день вони склалися з дуже</p>

незначного або незначного збільшення рівня АЛТ (4X та +38% у самок та самців відповідно) та АСТ (+87% та +41% у самок та самців відповідно) в обох статях, дуже незначного або незначного зниження рівня альбуміну (-9%), збільшення рівня глобуліну (+18%), зменшення співвідношення альбумін/глобулін (-19%) та зниження рівня калію (-20%) у самок; і дуже незначного зниження рівня креатиніну (-25%), збільшення рівня білірубіну (+43%) та незначного або помірного зниження рівня холестерину (-56%) у самців. При застосуванні 100 мг/кг/день зміни обмежувались незначним збільшенням рівнів АЛТ (+ 50%) та АСТ (+ 23%) у самок та збільшенням рівня загального білірубіну (+29%) у самців. Змін сечовиділення, пов'язаних з досліджуваним препаратом, не було. Офтальмологічних змін, пов'язаних зі препаратом, не було.

Були пов'язані з досліджуваним препаратом посмертні зміни в печінці при рівні ≥ 40 мг/кг/день у обох статей. При дозі 250 мг/кг/день вони склалися з вакуоляції гепатоцитів, що характеризується збільшеними, як правило, центрилобулярними, гепатоцитами, які містять мікровакуолі, що іноді об'єднуються у макровакуолі. При ≥ 40 мг/кг/день вони склалися з центрлобулярної гіпертрофії, пов'язаної із збільшенням ваги печінки - спостереження, яке не мало токсикологічної значущості, а розглядалося як адаптивна реакція, пов'язана з метаболізмом ксенобіотиків або їх метаболітів. У надниркових залозах гіпертрофія кори у самок була відзначена на всіх рівнях дози; однак це може бути другорядним фактором стресу, а не прямим впливом досліджуваного препарату. Концентрації летермовіру у плазмі у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення ($< 5,00$ нг/мл). Загальний вплив летермовіру, на основі площі під кривою 0-24 год та Стах, як правило, зменшувався протягом 13-тижневого періоду дозування у самців та самок мишей на всіх рівнях дози. Середнє значення площі під кривою 0-24 год зростало менш пропорційно у самців мишей та приблизно пропорційно дозі у самок мишей.

Підсумок: виходячи з цих результатів, рівень відсутності поміченого ефекту (NOEL) становив < 40 мг/кг/день. Незважаючи на те, що керівник дослідження встановив рівень відсутності поміченого побічного ефекту (NOAEL) на 40 мг/кг/день, спонсор вважає, що NOAEL становив 100 мг/кг/день. Ця доза добре переносилась, і гістоморфологічні зміни обмежувались адаптаційною центрилобулярною гепатоцелюлярною гіпертрофією (площа під кривою 0-24 год 367 800 нг•год/мл у самок та 182 100 нг•год/мл у самців).

Дослідження підгострої токсичності протягом 2 тижнів на щурах Wistar за перорального введення через зонд (ТТ #10-7841)

Метою цього експериментального дослідження було визначити токсичність летермовіру після щоденного перорального введення щурам протягом 2 тижнів та забезпечити базис для вибору дози подальших досліджень. Під час цього пошуку діапазону доз 5 самців та 5 самок щурів Wistar на групу отримували перорально (через зонд, 10 мл/кг) один раз на день 0, 10, 30 або 100 мг/кг/день

летермовіру. Летермовір було додано у носій, водний розчин 0,5% Tylose®. П'ять щурів кожної статі отримували лише розчин-носій і служили контролем. Крім того, тваринам-сателітам (3 щури/стать/група) одноразово вводили 0, 10, 30 або 100 мг/кг летермовіру, а проби крові для токсикокінетики відбирали через 2, 7 та 24 години після першого прийому для можливого визначення рівня у плазмі. Усі тварини-сателіти були вбиті по-людськи та утилізовані без обстеження. Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла, споживанні їжі та води, біохімії печінки та клінічних і анатомічних оцінках патології. Після завершення оцінки тканин дослідником-патологом у 2003 році, другий рецензуючий патолог провів експертну перевірку предметних слайдів ячок щурів у 2009 році. Методи та результати експертної перевірки були зафіксовані у звіті. Результати експертної перевірки не являли собою консенсус дослідника-патолога та рецензуючого патолога. Вони також розглядаються в цьому документі. Незапланованих смертей не було. Не було виявлено жодних клінічних ознак, пов'язаних із досліджуваним препаратом, змін маси тіла чи прийому їжі чи води. Не відбулося пов'язаних з досліджуваним препаратом змін гематології чи клінічної хімії. При розтині не було виявлено макроскопічних особливостей, пов'язаних із досліджуваним препаратом. При 100 мг/кг/день, порівняно з контролем, спостерігалось незначне збільшення абсолютної та відносної ваги печінки без гістопатологічних корелятів. У гомогенізованих зразках печінки спостерігались дуже незначні або незначні зміни у активності ферментів, тобто зменшення підтипів цитохрому P450 (CYP 2A, 2B та 3A) у самок щурів при 100 мг/кг/день, зміна активності ферментів печінки на етапі I при ≥ 30 мг/кг/день та підвищений рівень ферменту GS-T на етапі II у самців та самок при ≥ 10 мг/кг/день. Таким чином, передбачається адаптивна реакція печінки, пов'язана з метаболізмом ксенобіотиків. Хоча дослідник-патолог дійшов висновку, що не було гістоморфологічних змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, рецензуючий патолог виявив підвищену частоту вакуоляції зародкового епітелію при 100 мг/кг/день (від 3 до 7 вакуолей на поперечний зріз) порівняно з контролем та групами менших доз (від 0 до 4 вакуолей на поперечний зріз при 0, 10 та 30 мг/кг/день).

Виходячи з цих даних, NOEL становить 30 мг/кг/день. Оскільки зв'язок з гістоморфологічними змінами в ячках залишається невизначеними за відсутності консенсусу між дослідником-патологом та рецензуючим патологом та зміни мінімального характеру спостерігалися також у контрольних групах, спонсор вважав NOAEL ≥ 100 мг/кг/день.

Дослідження підгострої токсичності на щурах Wistar (4 тижні введення за допомогою зонду) (ТТ #05-7817)

Метою дослідження було виявити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення щурам протягом 4 тижнів.

Летермовір вводили перорально зондом 10 самцям і 10 самкам щурів лінії Вістар (Hsd Cpb: WU) на дозову групу в дозах 0

(контроль носія), 20, 60 та 180 мг/кг/день протягом 28 (самці)/29 (самки) днів. Для дослідження було виділено додатково 5 (контрольна) або 9 (дозовані групи) самців та самок-сателітів на кожну дозову групу та в них було відібрано проби для токсикокінетичної оцінки. Крім того, носій вводили контрольній резервній групі з чотирьох самців-сателітів. Летермовір суспендували у водному розчині 0,5% Tylose®; обсяг дози становив 10 мл/кг. Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні води, споживанні їжі та оцінці клінічної та анатомічної патології. Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у лікованих та контрольних групах. Зразки печінки збирали у всіх шурів для біохімічних досліджень, а зразки крові та селезінки - для імунотоксикологічної оцінки. Кістковий мозок забирали з плечової кістки всіх шурів при розтині для оцінки мікроядер. Незапланованих смертей, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було. Незначні зміни передсмертного періоду, пов'язані з досліджуваним препаратом, спостерігались лише при дозі 180 мг/кг/день. У порівнянні з контролем вони полягали у наступному: дуже незначне збільшення споживання води (+12%) із зменшенням виведення креатиніну у самок; збільшення кількості тромбоцитів у обох статей (+13% та +14% у самок та самців відповідно); зниження вмісту тригліцеридів у обох статей (-33% та -29% у самок та самців відповідно), холестерину у самців (-11%) та альбуміну у самок (-5%); збільшення активності лужної фосфатази (ALP) у обох статей (+31% та +26% у самок та самців відповідно) та білірубину у самок (+50%). Усі ці зміни були дуже незначними за величиною і не спостерігались під час 6-місячного дослідження пероральної токсичності при подібних дозах або за загального впливу, не корелювали з несприятливими гістоморфологічними змінами і, отже, вважаються не токсикологічно значущими. Клінічних ознак, змін маси тіла чи споживання їжі, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було. Посмертні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, були відзначені в печінці при ≥ 60 мг/кг/день та в яєчках при 180 мг/кг/день. У печінці вони полягали в незначних змінах активності ферментів печінки (О-деметилаза (O-DEM), альдрин-епоксидаза (ALD); епоксид-гідролаза (EH); і глутатіон-S-трансфераза (GS-T)), збільшення ваги печінки у обох статей та зміни в характері долькового відкладення жиру у самців при ≥ 60 мг/кг/день. Вважалося, що ці зміни у печінці не мають токсикологічного значення, а спричинені індукцією метаболізуючих ферментів летермовіром. У яєчках спостерігалася мінімальне або незначне сперматичне відшарування в насінневих каналцях, мінімальна затримка сперми та посилена вакуолізація каналцевого епітелію, а також мінімальне або незначне сперматозоїдне засмічення та мінімальна олігоспермія в епідидимідах при 180 мг/кг/день. Кількісна зміна субпопуляцій клітин селезінки (зменшення загальних позитивних клітин CD8, збільшення В-клітин (Pan B) та антиген-презентуючих клітин (I-a)) спостерігалася у самок при 180 мг/кг. Оскільки значення цих параметрів є мінімальними за величиною і в межах варіабельності цього типу аналізу, і не було

ознак імунотоксичності, включаючи імуносупресію, запальні реакції або будь-який вплив на лімфоїдні тканини, вважалось, що ці незначні зміни мають незначну токсикологічну актуальність. Концентрації летермовіру в плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за межу кількісного визначення ($<0,5$ нг/мл), за винятком 1 із 12 зразків, де виявлено дуже низьку концентрацію (0,748 нг/мл) досліджуваного виробу. Ця концентрація була підтверджена за повторного аналізу і, швидше за все, зумовлена незначним забрудненням зразків і не впливає на токсикокінетичну оцінку або інтерпретацію. Токсикокінетика виявила незначне надпропорційне збільшення площі під кривою при від 20 до 180 мг/кг, тоді як збільшення Стах було лише пропорційним.

Виходячи з цих даних, NOEL становить 20 мг/кг/день. Керівник дослідження дійшов висновку, що NOAEL становив 60 мг/кг/день у самок та самців щура. Однак спонсор вважав, що ефекти, що спостерігалися під час цього дослідження не були несприятливими, за винятком ефектів на яєчка, відзначених у самців щурів при дозі 180 мг/кг/день. Отже, NOAEL становив 60 мг/кг/день у самців щурів (площа під кривою 0-24 год 144919 нг•год/мл) на основі даних для яєчок при 180 мг/кг/день та ≥ 180 мг/кг/день у самок щурів (площа під кривою 0-24 год 780403 нг•год/мл).

Дослідження підгострої токсичності на щурах (пероральне введення за допомогою зонду протягом 13 тижнів із подальшим 4-тижневим періодом відновлення) (ТТ #05-7818)

Метою дослідження було оцінити потенційну токсичність (включаючи імунотоксичність) та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення щурам протягом 13 тижнів. Оцінка відстроченості початку токсичності та/або оборотності токсичності була проведена протягом 4-тижневого періоду без лікування.

Летермовір вводили щодня через у водному розчині 0,5% Tylose® (об'єм дози 10 мл/кг) 10 самцям і 10 самкам щурів лінії Вістар на дозову групу у дозах 0 (контроль носія), 20, 60 та 180 мг/кг/день протягом 13 тижнів. У групах відновлення додаткові 10 самців та 10 самок отримували 0 або 180 мг/кг/день протягом приблизно 13 тижнів, а потім не отримували препарат протягом 4 тижнів. Крім того, сателітні групи з 3 або 6 самців та 3 або 6 самок отримували 0, 20, 60 і 180 мг/кг/день для визначення рівня летермовіру в плазмі, а сателітні групи з 8 самцями та 8 самками отримували 0, 20, 60, 180 мг/кг/день для імунотоксикологічних досліджень.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях (включаючи функціональні спостереження (FOB) та тести моторної активності (МА)), вазі тіла, споживанні води, споживанні їжі, офтальмологічних обстеженнях та клінічних і анатомічних оцінках патології. Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у лікованих та контрольних групах. Зразки печінки збирали у всіх щурів у дозових групах та групах відновлення для біохімічних досліджень, а зразки крові та селезінки - із сателітних груп для імунотоксикологічної оцінки. Незапланованих смертей, пов'язаних із досліджуваним

препаратом, не було.

Зміни передсмертного періоду, пов'язані з досліджуваним препаратом, спостерігались лише при дозі 180 мг/кг/день. Порівняно з контролем, вони полягали у незначному зменшенні приросту маси тіла у самців (-13%) та незначному оборотному збільшенні споживання води у самок (+8%). Хоча зменшення приросту маси тіла у самців все ще спостерігалось в кінці періоду без лікування, це не було визнано несприятливим і має мінімальне токсикологічне значення через мінімальну величину та відсутність впливу на загальний фізичний стан тварини. Не було клінічних ознак, пов'язаних із досліджуваним препаратом, змін у споживанні їжі, або змін при нейро-поведінкових або офтальмологічних обстеженнях.

У порівнянні з контролем спостерігались незначні клінічні патологічні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, при рівні ≥ 60 мг/кг/день у обох статей. При 180 мг/кг/день гематологічні зміни обмежувались незначним зниженням гематокриту та середнього корпускулярного об'єму (MCV) у обох статей (до -7% та -6% відповідно), а також зниженням рівнів гемоглобіну та середнього корпускулярного гемоглобіну (MCH) лише у самок (-5% та -4% відповідно). Часткова оборотність цих змін була відзначена наприкінці періоду без лікування. Хоча керівник дослідження помітив збільшення кількості лейкоцитів і моноцитів, пов'язане з досліджуваним препаратом, при ≥ 60 мг/кг/день у самців та при 180 мг/кг/день у обох статей, спонсор вважає, що ці спостереження були випадковими, оскільки мали низьку величину і не були присутні постійно протягом усього періоду дозування. Зміни клінічної хімії полягали у зниженні рівня АЛТ (до -27%) та глутаміну дегідрогенази (до -58%) у самців; збільшенні АЛП (+ 41%) у самок при ≥ 60 мг/кг/день; зниженні рівня холестерину (до -44%), тригліцеридів (до -60%) та білків (до -7%) у обох статей, а також альбумінів (до -5%) у самок; і збільшенні загального білірубіну (до у 3,6 рази) у обох статей, а також у збільшенні рівня Т4 (без збільшення рівня Т3 або стимулюючого гормону щитовидної залози) у самок при 180 мг/кг/день. Ці клінічні хімічні зміни, як правило, були принаймні частково оборотними в кінці періоду без лікування. Всі ці зміни були дуже незначними за величиною і не спостерігались у 6-місячному дослідженні пероральної токсичності при подібних дозах або за загального впливу, не корелювали з несприятливими гістоморфологічними змінами і, отже, вважаються не токсикологічно значущими. Змін сечовиділення, пов'язаних з досліджуваним препаратом, не було. Посмертні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, спостерігались у печінці при ≥ 60 мг/кг/день, а в яєчках та надниркових залозах - 180 мг/кг/день. У печінці зміни полягали у збільшенні ваги печінки у самок при ≥ 60 мг/кг/день та у обох статей при 180 мг/кг/день з мінімальною гіпертрофією клітин печінки при 180 мг/кг/день у обох статей, а також змінювалася схема долькового відкладення жиру у самців при дозі 180 мг/кг/день у самців. Ці зміни в печінці розглядались як спостереження, що не мають токсикологічного значення, і скоріше є адаптивною реакцією, пов'язаною з метаболізмом

ксенобіотиків.

Ці зміни печінки, як правило, були оборотними протягом 4-тижневого періоду без лікування. У яєчках спостерігали дегенерацію яєчок та зміни вмісту сперми в епідидимі (олігоспермія, збільшення сперматозоїдної засміченості) при 180 мг/кг/день. Наслідки дегенерації (вакуолі) все ще були присутні в яєчках самців, яким зробили перерву у лікуванні, тоді як епідидиміди виглядали нормальними після перерви для відновлення. Дегенерація яєчок корелювала зі зменшенням маси яєчок та епідидимідів, яка все ще була присутня наприкінці періоду без лікування. У надниркових залозах у самців із високими дозами спостерігалася знижена вакуоляція клітин надниркової зони. Цей ефект був мінімальним, оборотним, не мав токсикологічної значущості та не був несприятливим. Крім того, хоча керівник дослідження назвав зменшення маси селезінки у самців та самок наприкінці періоду відновлення пов'язаним з досліджуваним препаратом, спонсор вважає, що це спостереження було випадковим, оскільки воно було мінімальним, не було пов'язане зі зменшенням кількості клітин селезінки, і відбулося в кінці періоду без лікування, а не в кінці 13-тижневого періоду лікування. Тести на імунотоксичність виявили мінімальне збільшення при 180 мг/кг/день кількості клітин з низьким рівнем CD45, В-клітин (Pan B) та антиген-презентуючих клітин (I-a) у обох статей, а також Т-хелперних клітин (загальна CD4 з подвійного маркування CD4/CD8), загальної кількості CD45 клітин та клітин селезінки у самок. Також спостерігали при 60 мг/кг/день мінімальне збільшення кількості клітин з низьким рівнем CD45, Т-хелпер клітин (загальна CD4) та Т-хелпер клітин (загальна CD4 з подвійного маркування CD4/CD8) у самок. Зниження кількості клітин з високим CD45 спостерігалось у самців при ≥ 60 мг/кг/день. Однак, оскільки ці зміни мали мінімальну величину, в межах варіабельності цього типу аналізу і не були пов'язані з будь-якими доказами імунотоксичності, включаючи імуносупресію, запальні реакції або будь-які несприятливі наслідки для лімфоїдних тканин, вони не вважаються токсикологічно значимими чи несприятливими. Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення ($< 0,250$ нг/мл), за винятком 5 з 36 зразків, у яких були виявлені низькі концентрації досліджуваного виробу. Ці концентрації, швидше за все, зумовлені незначним забрудненням зразків *ex vivo* і не мають значення для оцінки токсикокінетики або токсичності. Площа під кривою 0-24 год зростала більш ніж пропорційно дозі у обох статей.

Стах збільшувався приблизно пропорційно дозі. Після багаторазового дозування у самців площа під кривою 0-24 год та Стах були нижчими порівняно з одnodозовою токсикокінетикою. Виходячи з цих висновків, NOEL становив 20 мг/кг/день. Хоча керівник дослідження встановив NOAEL дозу 60 мг/кг/день для самок та самців, спонсор вважає, що NOAEL являв 60 мг/кг/день у самців (площа під кривою 0-24 год. 80628 нг•год/мл), на основі дегенерації яєчок при 180 мг/кг/день та ≥ 180 мг/кг/день у самок

(площа під кривою 0-24 год 649235 нг•год/мл) за відсутності несприятливих змін за будь-якої дози у цієї статі.

26-тижневе дослідження токсичності на щурах за перорального введення за допомогою зонду з подальшим 4-тижневим періодом відновлення (ТТ #11-7855)

Метою дослідження було оцінити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення щурам протягом 26 тижнів [розділ 2.6.7.7С].

Оцінка оборотності потенційної токсичності, зафіксованої протягом періоду лікування, була проведена протягом чотирьох тижнів без лікування.

Летермовір суспендували у водному розчині 0,5% Tylose®; обсяг дози становив 10 мл/кг. Висока доза, 150 мг/кг/день, була обрана на основі зниження приросту маси тіла та стану яєчок, що спостерігалися при дозі 180 мг/кг/день у 13-тижневому дослідженні токсичності. Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні їжі, офтальмоскопії та оцінках клініко-анатомічної патології.

Визначали концентрацію летермовіру у плазмі крові у лікованій та контрольній токсикокінетичних групах. Незапланованих смертей, пов'язаних із досліджуванним препаратом, не було. Після введення дози спостерігалися тимчасові слиновиділення, розтирання порожнини рота та перебирання кінцівокми з 1-го тижня дослідження відразу після дозування у кількох тварин при ≥ 50 мг/кг/день та меншою мірою у деяких тварин при 17 мг/кг/день. Відштовхуючись від швидкого початку одразу після дозування, ці тимчасові ефекти, які зазвичай були відсутні під час спостереження у точці 1 години після введення дози, були пов'язані з поганим смаком формули дозування та/або принаймні частково з процедурою дозування та мали мінімальну токсикологічну значимість.

Передсмертні зміни у споживанні їжі та вазі тіла, пов'язані з досліджуванним препаратом, спостерігались лише при ≥ 50 мг/кг/день. Порівняно з контролем, вони полягали у незначному зниженні споживання їжі (до -6%) та приросту маси тіла у самців (-6% та -11% при 50 мг/кг/день та 150 мг/кг/день відповідно). Ці мінімальні зменшення споживання їжі та приросту маси тіла не мали жодного впливу на фізичний стан тварин і минули в період без лікування; вони не вважаються токсикологічно значимими чи несприятливими. Спонсор не вважав дуже незначне зниження приросту маси тіла, що спостерігалось у самок при всіх дозах (-7,4%, -5,7% та -5,3% при 17, 50 та 150 мг/кг/день відповідно), пов'язаним з досліджуванним препаратом, відштовхуючись від мінімального обсягу змін та відсутності залежності від дози. Не було виявлено жодної клінічної патології або офтальмоскопічних змін, пов'язаних з досліджуванним препаратом, а також жодних макроскопічних чи мікроскопічних явищ, які можна було б пов'язати з введенням досліджуваного виробу. У жодній з досліджуваних тканин не було змін, пов'язаних із досліджуванним препаратом. Гістоморфологічні зміни, не пов'язані з досліджуваною речовиною, що спостерігались наприкінці

шестимісячного періоду дозування, включали каналцеву вакуоляцію яєчок у тварин контрольної групи (3/15) та групи, що отримувала високі дози (5/14); і атрофію каналців у 2/14 шурів із високими дозами в кінці періоду дозування та у 1/10 контрольних та 1/10 шурів із високими дозами в кінці періоду без лікування. Вважалося, що ці зміни не пов'язані з досліджуванним препаратом і вони відповідають типовим змінам у тварин цього виду та віку. Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Загальний вплив летермовіру (на основі площі під кривою 0-24 год) зростав надпропорційно, тоді як Стах зростала приблизно пропорційно дозі для усього досліджуваного діапазону доз. Через 26 тижнів спостерігалось незначне або помірне накопичення площі під кривою, що було найбільш вираженим у самок.

Таким чином, NOEL становив 17 мг/кг/день. NOAEL становив ≥ 150 мг/кг/день (площа під кривою 0-24 год: 568 300 нг•год/мл у самців та 747 200 нг•год/мл у самок), оскільки зміни, зазначені в цьому дослідженні, обмежувались лише несприятливими клінічними ознаками у обох статей, незначним зниженням споживання їжі та збільшенням маси тіла у самців.

Фармакокінетичне дослідження токсичності за одноразового внутрішньовенного (болюсного) введення на щурах (ТТ #10-7840)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після одноразового внутрішньовенного (болюсного) введення щурам, щоб допомогти у виборі дози для подальших досліджень багаторазового внутрішньовенного введення щурам.

Чотири групи HsdHanTM:WIST шурів (3 щури/стать для контрольної групи; 6 шурів/стать для дозових груп) отримували разову внутрішньовенну болюсну дозу 0 (контроль носія), 30, 50 або 100 мг/кг.

Летермовір був сформульований у вигляді розчину в гідроксипропілбетадексі (30% мас. конц.) і вводився в обсязі дози 5 мл/кг.

Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Концентрація летермовіру у плазмі крові як у самців, так і у самки шурів збільшувались із збільшенням дози. Збільшення впливу (AUC_{0-last}) було більш ніж пропорційне дозі.

14-денне дослідження з метою пошуку діапазону доз за внутрішньовенного (болюсного) введення на щурах (ТТ #11-7856)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного внутрішньовенного (болюсного) введення щурам протягом 14 днів, щоб допомогти у виборі дози для подальшого 28-денного дослідження токсичності за внутрішньовенного введення на щурах.

Летермовір був сформульований у гідроксипропілбетадексі,

розведеному до 10% мас./конц. у воді, і вводився в обсязі дози 5 мл/кг.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні їжі, клінічній патології, післясмертних макроскопічних оцінках та післясмертних мікроскопічних оцінках підгрупи тканин (печінки, нирок, яєчок та придатків яєчок). Визначали концентрацію летермовіру у плазмі крові у лікованих та контрольних токсикокінетичних групах. Не було незапланованих смертей, клінічних ознак, змін споживання їжі чи ваги тіла, ознак при офтальмоскопії, клінічних патологій або макроскопічних чи мікроскопічних посмертних змін, пов'язаних з досліджуваним препаратом.

Змінна, мінімальна або легка вакуоляція проксимальних канальцевих клітин, пов'язана із введенням гідроксипропілбетадексу, спостерігалася в нирках у контрольній групі та у групі лікування летермовіром з схожою частотою та тяжкістю.

Циклодекстрини - це циклічні олігоглюкозиди, які використовуються для утворення комплексів включення з фармацевтичними агентами для покращення доставки ліків. Гідроксипропілбетадекс, який є членом сімейства β -циклодекстринів [β -CD], є модифікованим, комерційно доступним циклодекстрином, який в даний час використовується у двох продуктах, схвалених FDA. Як правило, циклодекстрини утворюють комплекс з холестерином або ефірами холестерину в крові, що фільтрується через гломерули в сечу, згодом поглинається проксимальними звивистими канальцями і зберігається в цитоплазматичних лізосомах, видимий як вакуолізація (як зазначено в цьому дослідженні). Вакуолізація внаслідок утворення комплексу гідроксипропілбетадексу є оборотною із припиненням лікування та вважається фізіологічною реакцією з незначними токсикологічними наслідками.

Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). У світлі гістопатологічних висновків з цього дослідження та очікуваних мікроскопічних змін нирок, пов'язаних з носієм, NOAEL летермовіру становив ≥ 30 мг/кг/день (на 14-й день AUC_{0-last} : 74,181 нг•год/мл у самців і AUC_{0-last} : 112 194 нг•год/мл у самок). Не було несприятливих змін у місцях внутрішньовенних ін'єкцій навіть за найвищою випробуваної дози, 30 мг/кг/день (6 мг/мл).

28-денне дослідження токсичності на щурах за внутрішньовенного (болюсного) введення з подальшим 2-тижневим періодом відновлення (ТТ #11-7858)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного внутрішньовенного (болюсного) введення щурам протягом щонайменш 28 днів. Оцінка оборотності потенційної токсичності була проведена протягом 2 тижнів без лікування. Це дослідження було проведене для підтримки можливості внутрішньовенного введення людині, необхідного в екстрених ситуаціях, коли пацієнт не може проковтнути таблетку.

Летермовір був сформульований у вигляді розчину гідроксипропілбетадексу (30% мас./конц.) у розчині глюкози 5% для ін'єкцій та вводився в обсязі дози 5 мл/кг, що еквівалентно дозі 1500 мг/кг/день гідроксипропілбетадексу.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла, споживанні їжі, офтальмоскопії та оцінках клініко-анатомічної патології. Визначали концентрацію летермовіру у плазмі крові у лікованих та контрольних токсикокінетичних групах.

Незапланованих смертей не було. Клінічні ознаки після введення дози, пов'язані з досліджуваним препаратом, спостерігалися при дозі 100 мг/кг/день. Вони полягали у зниженні активності, утрудненому диханні, розтиранні рота та набряканні хвоста. Ці тимчасові клінічні ознаки не впливали на загальний стан тварин і не призводили до місцевої непереносимості в місці застосування (хвостова вена). Не було змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, у споживанні їжі чи вазі тіла, а також при офтальмоскопії та клінічних патологічних обстеженнях.

Посмертні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, спостерігались у яечках та придатках ячок самців при 100 мг/кг/день. Вони полягали в мінімальній або незначній дегенерації зародкових клітин, утриманні сперматидів та підвищеній частоті та тяжкості вакуоляції канальцевих клітин у яечках, що супроводжувалося олігоспермією та засміченням клітинними рештками в придатках яечка, що корелювало зі зменшенням маси ячок/придатків яечка, зафіксованого при розтині. Зміни в чоловічих статевих залозах не були повністю оборотними, оскільки дегенерація зародкових клітин і незначний підвищений рівень вакуолізації канальцевих клітин все ще були присутні в яечках самців, яким вводили ліки. Крім того, канальцева атрофія ячок та олігоспермія/клітинні залишки в придатках яечка, які корелювали з видимою м'якістю та/або невеликим розміром ячок та малих придатків макроскопічно, все ще були наявні в кінці періоду без лікування.

Посмертні зміни, пов'язані із введенням гідроксипропілбетадексу, спостерігались у легенях та нирках у контрольних групах та групах, які отримували летермовір; порівняно з контролем, частота та тяжкість, як правило, не суттєво зростали у групах, які отримували летермовір. У нирках зміни полягали у вакуоляції цитоплазми в канальцевому епітелії, переважно за участю кори та зовнішньої мозкової речовини нирки, як правило, корелюючи із блідістю, відзначеною макроскопічно. У легенях зміни полягали у накопиченні макрофагів з пінистою цитоплазмою в альвеолярних повітряних просторах, як правило, корелюючи з макроскопічним вивченням блідої ділянки або вогнища.

Не було змін у місці ін'єкції (хвостова вена) через місцеві несприятливі ефекти препарату летермовір.

Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Токсикокінетична оцінка показала, що значення C₀ зростали більш ніж пропорційно дозі у групах доз між 10 та 100 мг/кг/день (від 16 до 19 разів), за винятком самок на

4 тижні (збільшення лише у 7 разів). Для AUC_{0-last} зростання було ще вищим. Збільшення дози у 10 разів призвело до зростання у 56–58 разів після одноразового введення та у 25–29 разів після багаторазового введення протягом 4 тижнів.

Виходячи з результатів тестикулярних досліджень у самців при 100 мг/кг/день, NOAEL становив 30 мг/кг/день у самців (на 28-й день AUC_{0-last} : 116 934 нг•год/мл) і ≥ 100 мг/кг/день у самок (на 28-1 день AUC_{0-last} : 719446 нг•год/мл). Не було несприятливих змін у місцях внутрішньовенних ін'єкцій навіть за найвищої випробуваної дози, 100 мг/кг/день (20 мг/мл).

14-денне дослідження з метою пошуку діапазону доз для дослідження токсичності на мавпах за перорального введення (ТТ #08-7908)

Метою цього дослідження була оцінка потенційної токсичності та токсикокінетичного профілю летермовіру через 14 днів щоденного перорального введення мавпам *Cynomolgus*. Чотирьом групам з одного самця та однієї самки мавпи *Cynomolgus* вводили летермовір у дозах 25, 75, 125 або 150 мг/кг/день. Після періоду вимивання у 14 днів тварин, що отримували дози 25 та 75 мг/кг/день призначили у нові групи і вони отримували летермовір у дозах 250 та 500 мг/кг/день відповідно. Летермовір (у формі водного розчину 0,5% Tylose®) вводили всім групам перорально за допомогою зонду один раз на день в обсязі дози 5 мл/кг.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних ознаках, масі тіла, споживанні їжі та води, біохімії печінки, електрокардіографічних дослідженнях та клінічних та анатомічних оцінках патології. Концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали у всіх тварин.

Блювання та відсутність апетиту, пов'язані з досліджуваним препаратом, часто спостерігались як у самців, так і у самок при дозі 500 мг/кг/день протягом періоду дозування. На додаток, через згорблену позу, прострацію і холодність на дотик, у крайньому випадку, самець був евтаназований на 12-й день, а самка - на 14 день. Через відсутність апетиту, спостерігалось прогресивне зменшення маси тіла у мавп при дозі 500 мг/кг/день.

Клінічних ознак, пов'язаних з досліджуваним препаратом, змін маси тіла, споживання їжі чи води, показників ЕКГ чи клінічної хімії на рівні ≤ 250 мг/кг/день не було. Не було зібрано даних щодо тварин із високою дозою (500 мг/кг/день), евтаназованих в крайньому випадку.

Не було виявлено жодних ефектів, пов'язаних із досліджуваним препаратом, на вагу органів або макроскопічний огляд при будь-якій дозі.

При дозі 500 мг/кг/день у нирок самців та самок спостерігалась помірна мультифокальна дегенерація/регенерація каналців у корі та мозковій речовині нирки. Канальці були вистлані ацидофільними клітинами, що відшаровуються, або пухкими базофільними регенеруючими клітинами. Багато уражених каналців містили зернисті зліпки епітеліальних клітин та/або нейтрофілів. Крім того, перехідний клітинний епітелій, що вистилає таз, мав безліч вакуолізованих або струпних клітин. Мінімальний інфільтрат нейтрофілів був присутній біля

базального покриття перехідного клітинного шару таза у самки. Сечоводи та сечовий міхур самців мали дегенерацію в уротелії та мінімальне запалення в стінках сечоводів. Цей стан нирок, ймовірно, був вторинним до захворюваності тварин і не мав прямого відношення до досліджуваного виробу.

Спостерігався ряд інших мікроскопічних ефектів. Важко оцінити ступінь, до якої ці ефекти можуть бути безпосередньо пов'язані із впливом досліджуваного виробу, та чи їх появі сприяли стрес та неактивність. Цілком ймовірно, що стрес та неактивність сприяли, якщо не спричинили, змінам надниркових залоз, кісткового мозку та лімфоїдних органів. Спонсор вважає, що ефекти на серце та шкіру є вторинними до стану вмираючих тварин.

Серце самців мало тонку лінійну ділянку субепікардіального некрозу міофібри з нейтрофільним інфільтратом у місці з'єднання правого шлуночка та міжшлуночкової перегородки.

У самців спостерігалось мінімальне виснаження грудного, стегового та реберного кісткового мозку. У виснаженому кістковому мозку було менше мієлоїдних та еритроїдних клітин. Виснаження лімфоцитів у білій пульпі селезінки у самців було помірним, а у самок - мінімальним. Виснаження лімфоцитів у корі та мозковій речовині вилочкової залози було серйозним у самців та помірним у самок.

Надниркові залози самця мікроскопічно характеризувались дифузною гіпертрофією кори, збільшенням розміру та ацидофільії клітин у зоні fasciculata та reticularis.

У самок спостерігався підшкірний набряк над поперековою зоною.

На 1-й день профілі концентрації летермовіру в мавпах у плазмі крові були подібними в різних дозах, але T_{max} подовжувався при найвищій оціненій дозі (250 мг/кг/день). Профілі концентрації летермовіру в плазмі крові на 13 день були однаковими для різних доз. Значення C_{max} та площі під кривою летермовіру зростали із збільшенням дози; за винятком групи 150 мг/кг/день, яка мала нижчі значення C_{max} та площі під кривою, ніж група 125 мг/кг/день. Після перорального прийому летермовіру протягом 13 днів не спостерігалось накопичення. Вплив летермовіру на 13 день був нижчим, ніж на 1 день.

Підсумок: рівень дози 250 мг/кг/день становив NOAEL ($AUC_{0-24 \text{ год}}$: 236 620 нг•год/мл (самці та самки разом узяті).

Дослідження підгострої токсичності на резус-мавах (за 4-тижневого перорального введення за допомогою зонду) (ТТ #05-7819)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення резус-мавпі протягом 4 тижнів.

Летермовір вводили щодня перорально у водному розчині 0,5% Tylose® 3 самцям та 3 самкам резус-мавпи на дозову групу в дозах 0 (контроль носія), 10, 30 і 100 мг/кг/день протягом 4 тижнів.

Летермовір вводили в обсязі дози 5 мл/кг.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні їжі, офтальмоскопії, вимірюванні артеріального тиску та частоти пульсу, біохімії

печінки та клініко-анатомічних патологічних дослідженнях. Концентрації летермовіру в плазмі крові визначали у контрольних та лікованих групах.

Незапланованих смертей не було.

Зміни передсмертного періоду, пов'язані з досліджуванним препаратом, були обмежені групою дози 100 мг/кг/день. Вони склалися з аномальних фекалій (м'яких або рідких), що спостерігались у всіх тварин до 3 тижня, виділення слини відзначалося у всіх тварин між 2 та 4 тижнями, втрати маси тіла у більшості тварин з тенденцією до зникнення до кінця дослідження у кількох тварин, і незначне підвищення сегментованих нейтрофілів у самок.

Не було виявлено змін артеріального тиску, частоти пульсу, споживання їжі та води, офтальмології та клініко-анатомічної патології, пов'язаних із досліджуванним препаратом.

Концентрації летермовіру в плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за межу кількісного визначення (<0,2 нг/мл), за винятком 1 з 36 зразків, у яких була виявлена дуже низька концентрація досліджуваного виробу (0,404 нг/мл). Ця концентрація була підтверджена повторним аналізом і, швидше за все, зумовлена незначним забрудненням зразків *ex vivo* і не впливає на оцінку впливу, а також на оцінку токсичності. Вплив летермовіру з точки зору площі під кривою та *C_{max}* зростав більш ніж пропорційно дозі для низької, середньої та високої дози в обидва дні відбору проб. Через 28 днів спостерігалось дозозалежне зменшення впливу.

Керівник дослідження вважав NOAEL на рівні 30 мг/кг. Однак, оскільки втрати маси тіла, як правило, зменшувались у кількох тварин до кінця дослідження та помітні клінічні патології або патологоанатомічні зміни були відсутні, спонсор вважав, що NOAEL становив ≥ 100 мг/кг/день ($AUC_{0-24 \text{ год}}$: 68 343 нг•год/мл, самці та самки разом).

13-тижневе дослідження токсичності на мавпах за перорального введення з 4-тижневим періодом відновлення (ТТ #05-7821)

Метою цього дослідження було оцінити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення мавпам *cynomolgus* протягом 13 тижнів, а також оцінити оборотність, прогресування або затримку появи будь-яких спостережуваних змін після 1-місячного періоду без лікування.

Мавп *cynomolgus* було розділено на 2 групи з 6 тварин/стать кожна, що отримували 300 мг/кг/день летермовіру у носії (0,5% Tylose®) або лише носій, та 2 групи з 4 тварин/стать кожна, що отримували 30 або 100 мг/кг/день у носії. Обсяг дози становив 10 мл/кг. Через клінічні ознаки, що вказують на погіршений стан здоров'я тварин, яким дозували 300 мг/кг/день, рівень високих доз був знижений з 300 до 250 мг/кг/день, починаючи з 11-го дня. З 11 по 14 день нижчий рівень дози в цій групі був забезпечений шляхом зменшення об'єму дози до 8,33 мл/кг. Приблизно після 13-тижневого дозування по 2 тварини/стать із груп, що отримували 0 та 300/250 мг/кг/день утримувались без лікування

протягом 4-тижневого періоду відновлення.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні їжі та води, офтальмологічних оглядах, електрокардіографічних оглядах та клінічних та анатомічних оцінках патології. Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у лікованих та контрольних групах.

Клінічні ознаки, пов'язані з досліджуваним препаратом, включаючи блювоту, відсутність апетиту, м'які та водянисті випорожнення, зниження активності та згорблену позу, що спостерігаються як у самців, так і у самок при 300 мг/кг/день, призвели до зниження високої дози до 250 мг/кг/день з дня 11. Однак стан здоров'я однієї самки не покращився після зниження дози, і ця самка була евтаназована на 21 день після припинення дозування на 18 день. Решта тварин вижили до запланованого закінчення дослідження. У цієї тварини не зафіксовано макроскопічних чи мікроскопічних особливостей, які б вказували на причину смерті. Клінічні ознаки, пов'язані з досліджуваним препаратом, відзначені після зниження дози до 250 мг/кг/день, полягали у м'яких та водянистих фекаліях, відсутності апетиту, зниженні активності та іноді блювоті, що спостерігалася протягом дослідження у кількох тварин. Ці клінічні ознаки спостерігались рідше протягом 4-тижневого періоду без лікування, що свідчить про процес одужання протягом цього періоду.

Незначні гематологічні та клінічні хімічні зміни були відзначені при 300/250 мг/кг/день. Порівняно з контролем, вони полягали у зменшенні кількостей еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту у самців (7%) та самок (8,6% та 6% відповідно) та збільшенні рівня АЛТ у обох статей (+102% у самок та +50% у самців). Ці гематологічні та сироваткові хімічні зміни, які були оборотними після 4-тижневого періоду без лікування, не були несприятливими та не мали токсикологічної значущості, враховуючи малу величину та відсутність пов'язаних з цим гістоморфологічних змін.

Ефектів, пов'язаних із досліджуваним препаратом, на масу тіла, офтальмологію, електрокардіологію, коагуляцію, аналіз сечі, макроскопічний огляд, вагу органів чи мікроскопічний огляд, не виявлено.

І в 1-й, і в 90-й дні Стах і площа під кривою збільшувались із дозою, хоча вплив на 90-й день був меншим, ніж на 1-й день. Це зниження відображає значно більший загальний вплив летермовіру на 1-й день, пов'язаний із серйозною токсичністю при цій дозі, порівняно з впливом, вимірним в кінці відповідного періоду лікування, який, як правило, мавпи *Synomolgus* краще переносили.

Виходячи з проблем переносимості при 300/250 мг/кг/день, NOAEL становив 100 мг/кг/день (площа під кривою 0-24 год: 41440 нг•год/мл у самців та площа під кривою 0-24 год: 74320 нг•год/мл у самок).

39-тижневий дослідження токсичності на мавпах за перорального введення за допомогою зонду з 6-тижневим періодом без лікування (ТТ# 11-7853)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення мавпі протягом 39 тижнів, а також оцінити оборотність, прогресування або затримку появи будь-яких спостережуваних змін через 6 тижнів періоду без лікування. Мавп Synomolgus було розділено на 2 групи з 6 тварин/стать кожна, що отримували 250 мг/кг/день летермовіру в носії (0,5% Tylose®) або лише носій, та 2 групи з 4 тварин/стать кожна, що отримували по 25 або 100 мг/кг/день в носії. Обсяг дози становив 5 мл/кг. Через клінічні ознаки, що вказують на погіршений стан здоров'я тварин, яким вводили 250 мг/кг/день, рівень високих доз був знижений з 250 до 200 мг/кг/день, починаючи з 9-го тижня. Приблизно після 39-тижневого дозування по 2 тварини/стать із груп, що отримували 0 та 250/200 мг/кг/день утримувались без лікування протягом 6-тижневого періоду.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, офтальмоскопії, артеріальному тиску та клінічних та анатомічних дослідженнях патології. Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у лікованих та контрольних групах.

Незапланованих смертей не було. Однак висока доза погано переносилась, оскільки вона призводила до втрати маси тіла/зменшення набору маси тіла, пов'язаних з досліджуванним препаратом, та ознак поганого стану тіла (включаючи зневоднення, худорлявість, згорблену поставу та млявість), особливо у самок. Після зниження рівня дози з 250 до 200 мг/кг/день з 9 тижня, клінічні ознаки, як правило, зменшувалися у обох статей, але приріст маси тіла самок, яким вводили 250/200 мг/кг/день, залишався нижчим (-55%) у порівнянні з контролем під час періоду лікування, за винятком однієї самки, яка продовжувала переживати періодичні спалахи зменшення ваги і поганого стану тіла, пов'язані з лікуванням, і була раніше переведена на 6-тижневий період без лікування (з 20 по 26 тиждень). Ще одній самці, якій давали 250/200 мг/кг/день, припинили давати дози на 35-му тижні через посилення стресу та супротиву до введення дози. Дозування для цієї тварини короткочасно відновили протягом 36 тижня, але згодом її було переведено на 9-тижневий період без лікування (з 37 по 45 тиждень). Наприкінці періоду відновлення ці самки були у хорошому фізичному стані, що свідчить про оборотність цих змін. Загальний приріст маси тіла тварин, яким давали 25 або 100 мг/кг/день, був трохи меншим, ніж у контрольних груп (самці набирали ваги на 7,8 або 16% менше, а самки на 20 або 9,0% менше ваги відповідно). Однак, оскільки ці зміни мали низьку амплітуду та не залежали від дози у самок та не були пов'язані з клінічними ознаками, їх зв'язок з лікуванням був невизначений і спонсор не вважав їх несприятливими.

Пов'язане з досліджуванним препаратом виділення слини після дози та епізодичне блювання/рефлюкс дози, що спостерігаються при ≥ 100 мг/кг/день, ймовірно, були пов'язані із смаковими якостями досліджуваного виробу та/або механічним принципом введення дози, а отже, не були несприятливими та мали

мінімальне токсикологічне значення.

Незначне зниження концентрації гемоглобіну та кількості еритроцитів спостерігалось у самок при 25 і 250/200 мг/кг/день (до 8,7% порівняно з попереднім тестом), і незначне зниження рівня холестерину спостерігалось у самок при 250/200 мг/кг/день (до 11% порівняно з попереднім тестуванням).

Ці гематологічні та сироваткові хімічні зміни, які були оборотними після 6-тижневого періоду без лікування, не були несприятливими і не мали токсикологічної значущості, враховуючи малу величину та відсутність пов'язаних з цим гістоморфологічних змін.

При офтальмології, обстеженні артеріального тиску, коагуляції та аналізі сечі змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було.

Під час розтину не спостерігалось пов'язаних з досліджуваним препаратом змін ваги органів чи макроскопічних змін.

Посмертні мікроскопічні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, були відзначені у печінці у самців при ≥ 100 мг/кг/день. Вони являли собою виснаження глікогену. Цей ефект, відсутній наприкінці 6-тижневого періоду без лікування, не вважався несприятливим та має мінімальне токсикологічне значення. Невелика канальцева вакуоляція та мінімальна канальцева нефропатія (мінімальне вогнищеве ураження без ознак некрозу) спостерігались у однієї самки, що отримувала дозу 250/200 мг/кг/день. Незважаючи на те, що зв'язок із лікуванням досліджуваним препаратом не можна виключити, спонсор вважає, що ця зміна, зафіксована лише у однієї тварини, яка залишалася мінімально вираженою після 39 тижнів прийому, як правило, не була пов'язана зі збільшенням рівня маркерів ушкодження нирок (сечовина, креатинін) у плазмі крові або сечі і також спостерігається іноді у якості спонтанної зміни у нормальних мавп, а отже, не є несприятливою та має мінімальне токсикологічне значення. Крім того, атрофія тимусу, що спостерігається у деяких самок та самців у дозі 250/200 мг/кг/день, вважалася вторинною до стресу, а не наслідком прямого впливу лікування досліджуваним препаратом.

Концентрації летермовіру у плазмі у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення ($< 5,00$ нг/мл), за винятком 4 проб. Кількісно вимірювані рівні від 6,86 до 12,0 нг/мл були в 1,3–2,4 рази вищими за нижню межу кількісного визначення (5,0 нг/мл) та до 99,7% нижчими за середні максимальні рівні, що спостерігаються при найнижчому рівні дози для відповідної статі та привід. Зроблено висновок про відсутність впливу на дані токсикокінетики та інтерпретацію токсикокінетики та токсичності на основі низького рівня забруднення у лише 4 контрольних зразках. Токсикокінетична оцінка виявила, що T_{max} спостерігається між 1,5 та 8,25 годинами після введення дози, з тенденцією до подовження T_{max} для 100 та 250 мг/кг на 1-й день. Після повторних щоденних доз, загальний вплив, засновуючись на площі під кривою 0–24 год і C_{max} , як правило, знижувався протягом 39-тижневого періоду дозування у обох статей, що було найбільш очевидним при 100 мг/кг. Не було гендерної залежності

для жодної з доз.

Підсумок: виходячи з передсмертних доказів поганої переносимості 250/200 мг/кг/день, NOAEL становив 100 мг/кг/день (площа під кривою 0-24 год: 33 670 нг•год/мл у самців та 59 040 нг•год/мл у самок).

Попереднє дослідження переносимості на мавпах Cynomolgus за одноразового внутрішньовенного введення (ТТ# 13-1135)

Метою цього дослідження було визначити переносимість та токсикокінетичний профіль летермовіру після одноразового внутрішньовенного введення мавпам Cynomolgus.

Всього 4 мавпам Cynomolgus було введено одну дозу летермовіру. Двом самцям мавпи Cynomolgus ввели 30 мг/кг летермовіру (у носії хлориду натрію 0,9%) в дозі обсягом 7,5 мл/кг з часом інфузії у приблизно 4 хвилини, а двом самкам мавпи Cynomolgus ввели 100 мг/кг летермовіру в дозі обсягом 25 мл/кг з часом інфузії у приблизно 15 хвилин. Швидкість введення для обох груп становила 5 мл/хв.

До смерті оцінки обмежувались спостереженнями за смертністю та клінічними ознаками (включаючи нагляд за місцем ін'єкції у підшкірну вену). Концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали у всіх тварин.

Не було позапланових смертей та не було жодних клінічних ознак, пов'язаних із досліджуваним препаратом, в тому числі в місці ін'єкції.

Зроблено висновок про те, що доза летермовіру 100 мг/кг добре переносилась при внутрішньовенному введенні за умов цього дослідження.

Дослідження максимально переносимої дози (МПД) і 14-денне дослідження токсичності за внутрішньовенного (болусного) введення на мавпах (ТТ #11-7857)

Метою дослідження було визначити максимальну переносиму дозу (МПД) летермовіру після внутрішньовенного (болусного) введення мавпам Cynomolgus, а також потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру через 14 днів щоденного IV (болусного) введення мавпам Cynomolgus у МПД, ідентифікованій раніше.

Через проблеми з рецептурою, максимально допустима доза за використання розчину гідроксипропілбетадексу 10% в якості носія була досягнута без досягнення МПД протягом початкового етапу дослідження МПД.

Отже, після зміни складу носія (був використаний 30% розчин гідроксипропілбетадексу), розпочато подальший II етап дослідження МПД. Однак він був зупинений через два дні дозування через прохання спонсора, через побоювання щодо впливу, але після подальших обговорень його було розпочато знову.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, вазі органів та оцінках клінічної та анатомічної патології (включаючи мікроскопічне дослідження обмеженої підгрупи тканин: нирок, печінки, яєчок та придатків яєчок).

У фазі зростаючої дози внутрішньовенне введення летермовіру

добре переносилося до 40 мг/кг/добу під час I етапу дослідження МПД та відносно добре переносилося до 100 мг/кг/добу (II етап дослідження МПД), без ефектів, пов'язаних із досліджуваним препаратом на масу тіла або клінічну чи анатомічну патологію (де доцільно). Незначні випадки згорбленого та пригніченого зовнішнього вигляду після дозування були зареєстровані у всіх тварин після введення третьої дози 100 мг/кг/добу протягом II етапу дослідження МПД.

При застосуванні 200 та 150 мг/кг/добу (II етап дослідження МПД) внутрішньовенне введення летермовіру не переносилося, з появою таких клінічних ознак: блювота, м'який та рідкий кал, згорблений та пригнічений зовнішній вигляд, у більшості тварин. Наприкінці II етапу МПД, порівняно з попереднім тестом, спостерігалось незначне збільшення рівнів нейтрофілів (до 1,8-кратного), АСТ (до 1,5-кратного), АЛТ (до 3,3-кратного) у обох статей та збільшення вмісту сечовини, креатиніну та загального білірубіну лише у самок (до 2,3-кратного). Мікроскопічно зафіксовано незначну канальцеву нефропатію в нирках обох самок при цих дозах, що погано переносились і вважалися пов'язаними з поганим станом здоров'я тварин. Тому МПД визначили як 100 мг/кг/добу.

На етапі фіксованої дози повторне дозування 100 мг/кг/день переносилось добре, не призводячи до пов'язаних з досліджуваним препаратом клінічних ознак чи змін ваги тіла. В кінці етапу фіксованої дози при 100 мг/кг/добу, порівняно з попереднім тестом, спостерігалось збільшення кількості ретикулоцитів (до 5,2-кратного), ширині розподілу еритроцитів (1,2-кратна), АСТ (до 2,2-кратного) та АЛТ (до 6-кратного) у обох статей. Підвищення рівня білірубіну (приблизно у 2 рази) спостерігалось лише у самців. Однак, оскільки не було гістоморфологічних корелятів, ці зміни не були несприятливими та мали мінімальне токсикологічне значення. Мікроскопічно спостерігалася незначна канальцева нефропатія в нирці однієї самки при дозі 100 мг/кг/добу. Це спостереження не було відзначене у 28-денному дослідженні внутрішньовенного введення на мавпах при однаковій дозі. Отже, вважалось, це явище, що іноді трапляється як спонтанна зміна у нормальних мавп, мало невідомий зв'язок з досліджуваним препаратом, не мало токсикологічного значення та не було несприятливим. Як у самців, так і у самок мавп вплив зменшувався при повторному дозуванні. Спостерігались коефіцієнти накопичення (AUC_{0-last} (день 14)/ AUC_{0-last} (день 1)) з фактором 0,5-0,7. Дослідження продемонструвало, що протягом періоду дозування летермовір не накопичувався, зі зменшенням впливу на 14 день порівняно з 1 днем. Як на 1 день, так і на 14 день не спостерігалось гендерного ефекту з урахуванням різниці між окремими тваринами.

Підсумок: повторне щоденне внутрішньовенне (болюсне) введення летермовіру мавпам у дозі 100 мг/кг/день переносилось добре.

За умов цього дослідження доза 100 мг/кг/день рекомендована як висока доза для подальшого 28-денного дослідження токсичності

повторної дози внутрішньовенно.

28-денне дослідження токсичності за внутрішньовенного (болюсного) введення на мавпах з подальшим 2-тижневим періодом без лікування (ТТ #11-7859)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного внутрішньовенного (болюсного) введення мавпам протягом 28 днів та оцінити оборотність, прогресування або затримку появи будь-яких спостережуваних змін після 2-тижневого періоду без лікування. Це дослідження було проведене для підтримки можливості внутрішньовенного введення людині, необхідного в екстрених ситуаціях, коли пацієнт не може проковтнути таблетку. Мавп *Synomolgus* було розділено на 2 групи з 5 тварин/стать кожна, що отримували 100 мг/кг/день летермовіру в носії (розчин глюкози 5%, що містить розчин гідроксипропілбетадексу (30% мас./конц.)) або лише носій, та 2 групи з 3 тварини/стать у кожній, що отримували 10 або 30 мг/кг/добу в носії. Обсяг дози становив 5 мл/кг з 1-го по 6-й дні та 3 мл/кг починаючи з 7-го дня і до кінця дослідження. Після 28 днів дозування 2 тварини/стать з дозами 0 та 100 мг/кг/добу утримувались без лікування протягом 2-тижневого періоду відновлення.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, масі тіла, споживанні їжі, офтальмоскопії, електрокардіографії, клінічній патології, вазі органів, макроскопічній та мікроскопічній патології. Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у лікованих та контрольних групах.

Незапланованих смертей не було.

Пов'язані з досліджуваним препаратом зміни у передсмертний період обмежувались слиновиділенням після доз між 4 та 25 днями та епізодичною блювотою протягом дослідження у обох статей у дозі 100 мг/кг/день. Ці клінічні ознаки не впливали на стан здоров'я тварин і не вважались несприятливими та мали мінімальне токсикологічне значення. Порівняно з попереднім тестуванням, незначні зміни клінічної патології, пов'язані з досліджуваним препаратом, були відзначені при ≥ 10 мг/кг/добу. Гематологічні зміни включали збільшення кількості ретикулоцитів у самок при ≥ 30 мг/кг/добу (до 2,4-кратного) та самців при 100 мг/кг/добу (до 2,8-кратного), а також збільшення абсолютного числа ретикулоцитів у самок при ≥ 10 мг/кг/добу (до 2 разів при 100 мг/кг/добу). Ширина розподілу еритроцитів і тромбоцитів була мінімально збільшена у самок при 100 мг/кг/добу (до 1,2 рази), а кількість білих кров'яних клітин у самців зростала при ≥ 30 мг/кг/добу (в 1,2 рази) із збільшенням кількості лімфоцитів при 100 мг/кг/добу (в 1,3 рази). Клінічні хімічні зміни полягали у дуже незначному зниженні рівня гамма-глутамілтрансферази у всіх групах самців (від 0,93 до 0,61-кратного) та при ≥ 10 мг/кг/добу у самок (від 0,87 до 0,67-кратного) та зменшенні загального білірубину при ≥ 10 мг/кг/добу у самців та ≥ 30 мг/кг/добу у самок (до 0,6-кратного). Ці клінічні зміни патології не завжди були залежними від дози за ступенем і не мали жодних гістопатологічних корелятів, а тому не вважались

	<p>несприятливими та не мали токсикологічного значення.</p> <p>При оглядових дослідженнях не спостерігалось змін маси тіла чи споживання їжі, чи змін при офтальмоскопії, пов'язаних з досліджуваним препаратом.</p> <p>При розтині не було виявлено макроскопічних змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом. Відмічено збільшення ваги яєчок/придатків яєчок, скориговане до загальної маси тіла, у самців при 10, 30 та 100 мг/кг/день у 2,5, 1,5 та 2,0 рази, відповідно, порівняно з контролем. Вищевказана зміна не була дозозалежною за ступенем і не мала ніяких гістопатологічних корелятивів, а отже, токсикологічне значення незрозуміле.</p> <p>Посмертні мікроскопічні зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, обмежувались місцями ін'єкцій при 100 мг/кг/добу (20 мг/мл летермовіру в розчині гідроксипропілбетадексу (30% мас./конц.) у розчині глюкози 5% з 1 по 6 день та 33,3 мг/мл починаючи з 7-го дня і протягом решти дослідження). Вони склалися з підвищеного рівня міопатії/міозиту та целюліту порівняно з контролем. Були дані про часткове обернення цих мікроскопічних змін після 2-тижневого періоду без лікування. У групах з 10 або 30 мг/кг/день рівні флєбіту/перифлєбіту, крововиливів, целюліту та міопатії/міозиту, як правило, були подібними до контролю та були трохи вищими, ніж очікувалося після повторних ін'єкцій внутрішньовенно, що свідчить про незначне подразнення через носій.</p> <p>Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Для AUC_{0-last} спостерігалось більш ніж пропорційне дозі збільшення між групами доз 10 та 100 мг/кг, що відображає знижений кліренс. Середні значення площі під кривою після багаторазового введення були нижчими, ніж після одноразового введення.</p> <p>На закінчення, NOAEL для системної токсичності у цьому дослідженні становив ≥ 100 мг/кг/добу (AUC_{0-last}: 435 460 нг•год/мл у самців та 400 725 нг•год/мл у самок). Виходячи з підвищеної тяжкості стану у місці ін'єкції, NOAEL для місцевої толерантності становив 30 мг/кг/добу (6 мг/мл летермовіру в розчині гідроксипропілбетадексу (30% мас./конц.) у розчині глюкози 5% з 1-го дня до 6-го дня та 10 мг/мл, починаючи з 7-го дня для решти дослідження). Однак місцеві зміни залишалися мінімальними, ймовірно, є оборотними після >2-тижневого періоду без лікування і, отже, не являють собою значну проблему.</p>
<p>3) генотоксичність: <i>in vitro</i></p>	<p>Скринінг тесту Еймса (ТТ # 03-5595)</p> <p>Проводили випробування летермовіру в скринінговому тесті на мікросоми сальмонели (Еймса) на точкові мутації зі штамами сальмонел TA1535, TA100, TA1537, TA98, TA102.</p> <p>Дози до 160 мкг/чашку включно не викликали бактеріотоксичних дій. Загальна кількість бактерій залишилася незмінною, і не спостерігалось пригнічення росту. При більш високих дозах, до 5000 мкг/чашку протягом 17-годинного інкубаційного періоду з метаболічною активацією і без неї (суміш S9), речовина мала сильну штам-специфічну бактеріотоксичну дію, так що цей діапазон можна використовувати лише обмежено до 1600</p>

мкг/чашку з метою оцінки.

Жоден з 5 штамів не показав у випробуванні внесення в чашу дозозалежного і біологічно значущого збільшення кількості мутантів в порівнянні з негативними контролями, і це було підтверджено результатами передінкубаційних випробувань. Позитивні контролі азид натрію, нітрофурантоїна, 4-нітро-1,2-фенілендіаміна, мітоміцина С, гідропероксид кумолу і 2-аміноантрацен мали помітний мутагенний ефект, про що свідчить біологічно значуще збільшення кількості мутантних колоній в порівнянні з відповідним негативним контролем.

Отже, летермовір не був мутагенним як із сумішшю S9, так і без неї при внесенні в чашу, а також у передінкубаційному скринінгу.

Випробування на сальмонели/мікросоми методом внесення в чашки та попередньої інкубації (ТТ # 05-7822)

Проводили випробування летермовіру на мікросоми сальмонели (Еймс) на точкові мутації штамів сальмонели TA1535, TA100, TA1537, TA98, TA102.

Дози до 158 мкг/чашку включно не викликали ніяких бактеріотоксичних впливів. Загальна кількість бактерій залишалася незмінною, і не спостерігали пригнічення росту. У більш високих дозах, до 5000 мкг/чашку у інкубаційному періоду протягом 17 годин з активацією метаболізму та без нього (суміш S9), речовина мала штам-специфічний бактеріотоксичний ефект. Завдяки цьому ефекту цей діапазон можна використовувати лише частково до 5000 мкг/чашку з метою оцінки.

Жоден з 5 штамів у тесті на внесення в чашку не продемонстрував дозозалежного та біологічно значущого збільшення кількості мутантів порівняно з показниками негативного контролю та підтверджено результатами попередніх інкубаційних випробувань. Позитивні контролі: азид натрію, нітрофурантоїну, 4-нітро-1,2-фенілендіаміну, мітоміцину С, гідропероксид кумолу та 2-аміноантрацену мали помітний мутагенний ефект, що було видно за біологічно значущим збільшенням мутантних колоній порівняно з відповідними негативними контролями.

Отже, летермовір не був мутагенним як із сумішшю S9, так і без неї при внесенні в чашу, а також у модифікації перед інкубацією випробування на сальмонелу/мікросому.

Цитогенетичний скринінг на клітинах китайського хом'яка V79 (ТТ # 03-5596)

Летермовір оцінювали на предмет його потенціалу викликати хромосомні аберації на клітинах V79 китайського хом'ячка.

Клітини V79 китайського хом'ячка піддавали впливу концентраціям до 150 мкг/мл летермовіру за відсутності або присутності суміші S9 протягом 4 годин. Культури в усіх концентраціях збирали через 18 годин після початку обробки. Виходячи з їх цитотоксичності, концентрації відбирали для зчитування метафаз.

Цитотоксичні ефекти спостерігались при 50 мкг/мл і вище із сумішшю S9 та без неї. Не спостерігали осадження летермовіру в середовищі. За відсутності суміші S9 для зчитування було обрано дозу 50 мкг/мл. У присутності суміші S9 оцінювали 150 мкг/мл летермовіру.

	<p>Жодна з культур, оброблених летермовіром за відсутності або присутності суміші S9, не показала біологічно значущого або статистично значущого збільшення кількості аберрантних метафаз.</p> <p>За результатами цього скринінгу, летермовір виявився негативним у цитогенетичному скринінговому аналізі на клітинах V79 китайського хом'ячка.</p> <p>Випробування на аберацію хромосом in vitro з клітинами V79 китайського хом'ячка (ТТ # 05-7823)</p> <p>Летермовір оцінювали на предмет його потенціалу викликати хромосомні аберації у клітинах V79 китайського хом'ячка.</p> <p>Спочатку клітини V79 китайського хом'ячка піддавали впливу концентрацій летермовіру 5, 10, 20, 40 і 60 мкг/мл за відсутності суміші S9 протягом 4 годин. При наявності суміші S9 клітини піддавалися впливу летермовіру в концентраціях 30, 60, 120, 150 і 180 мкг/мл. Без суміші S9 був проведений додатковий експеримент із використанням безперервної обробки протягом 18 годин при концентраціях летермовіру 8, 16, 24, 32 та 40 мкг/мл. Без суміші S9 цитотоксичні ефекти спостерігались при 20 мкг/мл і вище через 4 години обробки та при 16 мкг/мл і вище через 18 годин обробки. При застосуванні суміші S9 цитотоксичний ефект спостерігався при 60 мкг/мл і вище. У середовищі не спостерігали осадження летермовіру. Отже, концентрації 10, 20 та 40 мкг/мл летермовіру (4 години обробки) та 8, 16 та 24 мкг/мл (18 годин обробки) були обрані для зчитування у відсутності суміші S9. У присутності суміші S9 оцінювали 30, 60 та 120 мкг/мл летермовіру.</p> <p>Жодна з культур, оброблених летермовіром у відсутності та у присутності суміші S9, не виявила біологічно значущо збільшеного числа аберрантних метафаз.</p> <p>Позитивний контроль мітоміцину С та циклофосфаміду викликав кластогенні ефекти та продемонстрував чутливість тест-системи та активність використовуваної суміші S9.</p> <p>На підставі цього тесту летермовір був негативним у тесті аберації хромосом in vitro на клітинах V79 китайського хом'ячка.</p>
<p><i>in vivo</i> (включаючи додаткову оцінку токсикокінетики)</p>	<p>Мікроядерне випробування на самцях мишей (ТТ # 05-7824)</p> <p>Мікроядерне випробування проведене для дослідження потенціалу летермовіру індукувати мікроядра в еритроцитах кісткового мозку самців мишей лінії NMRI.</p> <p>Мишей лінії NMRI поділили на 4 групи по 5 самців, кожна з яких отримувала один раз на день внутрішньочеревно 12, 24 та 48 мг/кг летермовіру у 0,5% водної емульсії кремофору або носія лише протягом 2 днів. Самцям позитивного контролю вводили одноразово внутрішньочеревно 20 мг/кг циклофосфаміду.</p> <p>Стегновий мозок усіх груп був підготовлений через 24 години після останнього введення.</p> <p>Непередбачені смерті відсутні. Клінічні ознаки, пов'язані з досліджуваним препаратом, включаючи апатію, шорстке хутро, втрату ваги, спазм, утруднене дихання та примружені очі після другого введення дози летермовіру при ≥ 12 мг/кг. Ці клінічні ознаки демонструють досягнення максимальної переносимої дози. Змінене співвідношення між поліхроматичними та</p>

	<p>нормохроматичними еритроцитами відсутнє.</p> <p>Після двох інтраперитонеальних введень доз до 48 мг/кг включно самцям не спостерігалось збільшення мікроядер у порівнянні з контролем.</p> <p>Циклофосфамід, позитивний контроль, мав чітке збільшення поліхроматичних еритроцитів з мікроядрами. Співвідношення поліхроматичних та нормохроматичних еритроцитів не змінювалося.</p> <p>Висновок: кількісний аналіз летермовіру щодо індукції мікроядер у кістковому мозку був негативним у самців мишей лінії NMRI, які отримували 2 внутрішньочеревні ін'єкції летермовіру до максимально переносимої дози.</p>
4) канцерогенність: довгострокові дослідження стабільності	<p>Відповідно до рекомендацій ICH S1A, дослідження канцерогенності не проводили, враховуючи, що безперервне використання летермовіру людиною становить менше 6 місяців (рекомендована тривалість безперервного прийому летермовіру становить 100 днів), летермовір будуть використовувати для профілактики ЦМВ-інфекції/захворювання. у пацієнтів з ТГСК, не слід часто використовувати з перервами в лікуванні хронічного або рецидивуючого стану, і летермовір дав негативний результат в серії досліджень генотоксичності, і не було доказів проліферативного сигналу в дослідженнях хронічної токсичності. В цілому, летермовір не слід призначати регулярно протягом значної частини життя пацієнта, і відповідно до рекомендацій ICH S1A не потрібні дослідження канцерогенності летермовіру.</p>
короткострокові або середньострокові дослідження	Дані відсутні
додаткові дослідження	Дані відсутні
2) репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	
вплив на фертильність та ранній ембріональний розвиток	<p>Токсикокінетичне дослідження на щурах після перорального прийому протягом 14 днів (240 мг/кг/доза) (ТТ # 05-7829)</p> <p>Це дослідження було проведено для вивчення токсикокінетичного профілю після прийому пероральних доз 240 мг/кг/добу летермовіру один раз на добу у щурів протягом 14 днів. Ця доза була потенційно високою дозою для запланованого дослідження фертильності і раннього ембріонального розвитку у щурів.</p> <p>Кожній з шести самців і самок щурів Вістар вводили перорально через шлунковий зонд летермовір в 0,5% водної суспензії Tylose® в дозі 10 мл/кг.</p> <p>Оцінка токсичності обмежувалася смертністю, клінічними ознаками і споживанням їжі і води. Визначали плазмові концентрації летермовіру.</p> <p>Непередбачені смерті відсутні. У кількох тварин зареєстровані клінічні ознаки, які не мають токсикологічного значення, включаючи періодичне слиновиділення після введення дози.</p> <p>Чіткі докази гендерних відмінностей експозиції відсутні. Тільки в</p>

день 1 AUC_{0-24 год} у самок була трохи вище в порівнянні з самцями в 1,26 рази.

Експозиція біла нижче після повторного введення, складаючи 62,1% по C_{max} і 45,5% по AUC_{0-24 год}.

Дослідження фертильності і раннього ембріонального розвитку у щурів після перорального прийому (ТТ # 05-7828)

Потенційний вплив летермовіру на фертильність самок і самців щурів було досліджено після щоденного перорального прийому протягом 2 тижнів до спарювання, під час наступного періоду спарювання і до 7-го дня вагітності (GD) у самок (приблизно до 6 тижнів в цілому), або за 10 тижнів до спарювання і протягом наступного періоду спарювання до розтину у 6-тижневих самців (приблизно до 15 тижнів в цілому).

Щурів лінії Вістар поділили на 4 групи по 24 тварини/стать у кожній, які отримували 15, 60 або 240 мг/кг/добу летермовіру в 0,5% водному розчині Tylose® або тільки носій в об'ємі дози 10 мл/кг.

Оцінка токсичності для самок та самців базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла, споживанні їжі та води та загальному обстеженні грудних та черевних органів. Крім того, оцінка токсичності у самців включала оцінку ваги яєчок, кількості сперми, рухливості, життєздатності та морфології сперми, кількості стійких до гомогенізації сперматид у яєчках та сперматозоїдів в придатках яєчка та мікроскопічному дослідженні яєчок та придатків яєчка. Для оцінки результатів спарювання та репродуктивної якості самок садили до самців у співвідношенні 1:1 після 2 тижнів лікування протягом максимум 3 тижнів. Самки з контрольної, низької, середньої та високої доз були поселені разом з самцями з відповідною групою доз. Між 14 і 16 днем вагітності самок, що спарилися, евтаназували, вміст матки досліджували на ембріональну/плодову життєздатність, підраховували жовті тіла і зважували яєчники.

Непередбачувані смерті відсутні.

Зміни загальної токсичності досліджуваного препарату включали слиновиділення у обох статей при ≥ 60 мг/кг/добу, дихальні звуки у кількох самців при 240 мг/кг/добу, дуже незначне зниження споживання їжі при 240 мг/кг/добу протягом дослідження у самців (до -8% порівняно з контролем) та на 1-му тижні лікування у самок (-11% порівняно з контролем) із збільшеним споживанням їжі на 2-му тижні вагітності після припинення лікування (+ 11% порівняно з контролем), зниження приросту маси тіла на 240 мг/кг/добу за час дослідження у самців (-16% порівняно з контролем) та протягом першого тижня лікування лише у самок (-86% порівняно з контролем) без впливу на приріст загальної маси тіла під час дослідження.

У самців канальцева дегенерація яєчок та/або мінімальна до помітно виражених продуктів клітинного розпаду в придатках яєчка та/або мінімальна до вираженої олігоспермії спостерігалася у 2 самців при 60 мг/кг та у всіх самців при 240 мг/кг. Абсолютна та відносна вага яєчок була зменшена на рівні 240 мг/кг.

Сперматологічна оцінка виявила незначно збільшену частоту аномальних сперматозоїдів при 60 мг/кг та погіршення якості

сперми (олігоспермія, знижена рухливість сперми та збільшення кількості аномальних сперматозоїдів) при 240 мг/кг. Хоча керівник дослідження вважав, що ці зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, при дозі ≥ 60 мг/кг/добу, спонсор вважає, що зміни при дозі 60 мг/кг/добу були випадковими і очікували спонтанних змін у звичайних щурів із змінною низькою частотою через біологічні зміни, засновані на дуже незначній захворюваності (2/24 щурів) на канальцеву дегенерацію, дуже незначній тяжкості (так званій граничній) змін сперматозоїдів та відсутності зниженої маси яєчок та змін функціональних репродуктивних параметрів або індексу фертильності (див. нижче) при цій дозі.

Зміни функціональних репродуктивних параметрів, пов'язаних із досліджуваними препаратами, не відбувалися.

Порівняно з контролем, спостерігався знижений індекс фертильності, пов'язаний із випробуваним препаратом, при дозі 240 мг/кг/добу, що оцінювали за кількістю спарених самок з імплантаціями (-30%) та незначним збільшенням середньої кількості втрат перед імплантацією (3,3 проти 2,0 в елементах управління).

Отже, спостерігалось дуже незначне зменшення середньої кількості місць імплантації (12,1 проти 14,1 у контрольних групах) і, отже, життєздатних ембріонів (11,7 проти 13,8 у контрольних групах).

Ці зміни, ймовірно, були вторинними щодо змін сперми та репродуктивних органів чоловічої статі.

Отже, на основі даних репродуктивних органів чоловіків та зменшення приросту маси тіла при 240 мг/кг/добу, Спонсор вважає, що рівень відсутності спостережуваних небажаних ефектів має бути 60 мг/кг/добу для загальної токсичності та фертильності для самців. Рівень відсутності спостережуваних небажаних ефектів для фертильності із загальною токсичністю для самок становив ≥ 240 мг/кг/добу.

Дані щодо токсикокінетики при 240 мг/кг/добу були отримані в окремому дослідженні на самках і самцях щурів, яким дозували 240 мг/кг/добу, а середні значення $AUC_{0-24 \text{ год}}$ на 14 день становило 482910 нг•год/мл (ТТ # 05 -7829).

Дослідження фертильності та раннього ембріонального розвитку (при пероральному введенні через шлунковий зонд) на щурах-самцях (ТТ #11-7852)

На основі змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, щодо фертильності самців та раннього ембріонального розвитку, зазначених у дослідженні фертильності та раннього ембріонального розвитку у щурів, при пероральному введенні, було проведено більш ретельне дослідження фертильності самців. Метою дослідження було дослідити вплив летермовіру на фертильність самців та ранній ембріональний розвиток після щоденного перорального введення протягом 15 тижнів до спарювання та протягом наступного періоду спарювання аж до розтину у щурів-самців від 10 до 12 тижнів (до приблизно 19 тижнів) та оборотність змін після 15-тижневого періоду без

лікування.

Щури-самці лінії Вістар були розподілені на 4 групи по 44 тварини, кожна з яких отримувала 30, 60 або 180 мг/кг/день летермовіру в 0,5% водному розчині Tylose® або лише носій дозою в 10 мл/кг.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла, споживанні їжі та макроскопічному дослідженні грудних та черевних органів. Крім того, оцінка токсичності у самців включала оцінку маси яєчок, кількості сперматозоїдів, рухливості, життєздатності та морфології сперми, кількості стійких до гомогенізації сперматид у яєчках та кількості сперматозоїдів в придатках яєчок, мікроскопічне дослідження яєчок та придатків яєчок та оцінка рівня інгібіну В як міра токсичності для клітин Сертолі. Наприкінці 15-тижневого періоду введення препарату самців основного дослідження поєднали з самками, які не отримували лікування, а решта самців залишалася без лікування протягом наступних 15 тижнів, перш ніж поєднати їх із самками без лікування для оцінки оборотності токсичності. Кожен рівень дози включав 22 самців основного дослідження та 22 самців, які не отримували лікування; для спаровування використовували відповідну кількість самок. Самок витримували до 13-го дня вагітності, після чого їх вбивали та піддавали макроскопічному дослідженні; вміст матки досліджували на ембріональну/плодову життєздатність, кількість жовтих тіл та зважували яєчники. Введення препарату самцям основного дослідження тривало протягом усього періоду спарювання до дня перед розтином на 19 тижні.

Смертей, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було. Зміни загальної токсичності, пов'язані з досліджуваним препаратом, обмежувались зменшенням споживання їжі та середнього приросту маси тіла на рівні 180 мг/кг/день (-26% порівняно з контрольними групами). Виходячи з мінімальних змін середніх значень (<12%) збільшення маси тіла та споживання їжі при 30 мг/кг/день та 60 мг/кг/день, Спонсор вважає, що ці зміни знаходяться в межах нормальної мінливості і не пов'язані з лікуванням летермовіром.

Гістопатологічні результати, що спостерігались при дозі 180 мг/кг/день, були такими, як очікувалося в попередніх дослідженнях повторного введення препарату на щурах.

Результати включали зміни зародкового епітелію яєчка, включаючи атрофію каналців, вакуолізацію каналцевих клітин, посилення відшарування епітеліальних клітин та збільшення багатоядерних клітин. Крім того, відбулися зміни придатку яєчка, які включали олігоспермію та клітинні залишки. Електронно-мікроскопічне дослідження виявило як внутрішньоцитоплазматичні, так і міжклітинні вакуолі в клітинах Сертолі або між ними. Ці дегенеративні клітини Сертолі були відзначені в насінневих каналцях із порушеним сперматогенезом, а також у каналцях із нормальним сперматогенезом. Особливо в насінневих каналцях, що демонструють поглиблену втрату статевих клітин, внутрішньоепітеліальні вакуолі ідентифікували або як внутрішньоцитоплазматичну вакуоляцію клітин Сертолі,

що походить від внутрішньоцитоплазматичної фрагментації, або через дилатацію шорсткого ендоплазматичного ретикулула. Крім того, внутрішньоепітеліальні вакуолі виникли через втрату статевих клітин, що призвело до великих міжклітинних просторів між клітинами Сертолі. Ультраструктурна морфологія контактних комплексів між клітинами Сертолі вказує на порушення або втрату функціонального гемато-тестикулярного бар'єра при дозі 180 мг/кг у випадках, коли відбувається руйнування контактних комплексів між клітинами Сертолі, особливо в каналцях з поглибленою втратою статевих клітин та лише клітин Сертолі. В інших випадках гемато-тестикулярний бар'єр залишався цілим. Ці мікроскопічні зміни співвідносились з помітним зниженням концентрації інгібіну В у плазмі, що відображало вплив на клітини Сертолі. Концентрації інгібіну В у плазмі крові самців, над якими був здійснений розтин в кінці 15-тижневого періоду без лікування, все ще були низькими (102 гп/мл у контролі проти 67,4 гп/мл при 180 мг/кг/день).

У тварин, над якими здійснений розтин, наприкінці 15-тижневого періоду без лікування, спостерігалася також атрофія каналців та вакуолізація каналцевих клітин в яечку, а також олігоспермія в придатку яечка, що вказує на те, що зміни яєчок не були оборотними після 15-тижневого лікування. Однак ці висновки, зазначені наприкінці періоду без лікування, здавалося, були пов'язані з певними тваринами, що вказує на те, що деякі, але не всі тварини одужали. Ці висновки співвідносились з незворотним зменшенням ваги яєчок та придатків яєчка та зміненими параметрами сперми.

Збільшення частоти передімплантаційних втрат у самок (27,1% при 180 мг/кг/день проти 10,3% у контрольній групі), спарених з самцями, яким вводили препарат протягом 15 тижнів, або постімплантаційні втрати (8% при 180 мг/кг/день проти 3,5% у контрольній групі) у самок, спарених з самцями, які отримували препарат протягом 15 тижнів, а потім не отримували лікування протягом наступних 15 тижнів, можливо, було наслідком аномальної сперми, яка не підтримувала життєздатний ембріон. Вимірювання довжини не виявило несприятливого впливу лікування на розмір яєчок. Дані про спаровування також не зазнали змін. При дозі 60 мг/кг середня вага придатку яєчка була трохи нижчою, ніж у контролі, лише в кінці періоду лікування. В кінці періоду лікування у самців, яким вводили 30 і 60 мг/кг, також відзначали каналцеву вакуоляцію клітин та каналцеву атрофію яєчка, пов'язані з дозою, а у деяких самців наприкінці періоду без лікування все ще спостерігалася вакуолізація каналцевих клітин. Хоча керівник дослідження розглянув ці зміни, пов'язані з досліджуванним препаратом, Спонсор вважає, що ці зміни були випадковими, та очікував спонтанних змін у нормальних щурів із змінною низькою частотою через біологічні зміни, спираючись на дуже незначній частоті виникнення (тобто до 2/42 щурів у групах із низькою або середньою дозою проти 1/44 у контрольній групі щодо каналцевої атрофії), дуже незначна тяжкість, відсутність чіткого співвідношення дози, відсутність змін сперматозоїдів, відсутність зменшення маси

яєчок та змін щодо функціональних репродуктивних показників при цих дозах. Крім того, ще одним незрозумілим фактором у цьому дослідженні була наявність артефактичних змін, як зазначив автор звіту з електронно-мікроскопічного дослідження. У «Звіті про оцінку електронної мікроскопії яєчка» патологоанатом ТЕМ, професор, д-р М. Бергманн характеризує артефакти, що спостерігаються на напівтонких ділянках яєчок у тварин з високою дозою та контрольних тварин, наступним чином: «Більшість зразків виявили механічно індуковані артефакти завдяки протоколу підготовки перед фіксацією занурення, такі як «розбиті» насінневі каналці, що призводять до інтерстиційної локалізації статевих клітин або навіть частин насінневого епітелію, а також часткового відшарування насінневого епітелію всередині каналців. Ці морфологічні зміни слід було відрізнити від морфологічних ознак сперматогенного порушення».

Концентрації летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Системна експозиція летермовіру, спираючись на $AUC_{0-24 \text{ год}}$ та C_{max} , помітно зменшилась протягом 15-тижневого періоду введення препарату. Зокрема, $AUC_{0-24 \text{ год}}$ на 15 тижні, досягнута у самців при 180 мг/кг/день, не відповідала 13-тижневому дослідженню токсичності, в якому щурам-самцям вводили однакову дозу летермовіру протягом 13 тижнів.

Отже, виходячи з результатів дослідження репродуктивних органів самців при дозі 180 мг/кг/день, Спонсор розглянув 60 мг/кг/день як вищу нетоксичну дозу (NOAEL) для фертильності самців. Через наявність механічно індукованих артефактів на предметних стеклах для посмертної оцінки змін яєчок, що перешкоджало оцінці репродуктивної токсичності у самців, та результатів токсикокінетичних досліджень 15 тижня, які не відповідали токсикокінетичним результатам досліджень токсичності повторного введення у щурів, це дослідження було повторене (ТТ #16-7150).

Дослідження фертильності та токсикокінетики на щурах при пероральному введенні (ТТ # 16-7150)

Метою цього дослідження було оцінити потенційний вплив летермовіру на фертильність щурів-самців F_0 після перорального введення протягом 15 тижнів до спільного проживання, під час спільного проживання та до дня перед запланованою евтаназією (загалом приблизно 17 тижнів). Крім того, оцінювали токсикокінетичний профіль летермовіру. Щури-самці CRL:WI(Han) (віком приблизно 10 тижнів) були призначені в 4 групи з 22 щурів, які отримували 30, 60 або 180 мг/кг/день летермовіру в носії (0,5% [мас./об.] Tylose в деіонізованій воді) або лише носій один раз на день шляхом перорального введення через шлунковий зонд. Вибрані дози були такими ж, як і в попередньому дослідженні фертильності у щурів-самців з летермовіром (ТТ #11-7852). Об'єм дозування для всіх тварин становив 10 мл/кг.

Оцінка токсичності у самців базувалася на смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла, споживанні їжі та макроскопічному

дослідженні грудних та черевних органів. Концентрації летермовіру в плазмі крові визначали у зразках, відібраних на 1-й день та на 2-му та 12-му тижнях з підгрупи неголодуючих шурів-самців у всіх групах. Для оцінки результатів спаровування та репродуктивної якості самців утримували з самками без лікування у співвідношенні 1:1 протягом максимум 10 ночей після 15 тижнів лікування самців. У передбачуваний день вагітності з 15 по 17 день спарених самок було піддано евтаназії, вміст матки досліджено на життєздатність ембріона/плоду та підраховано жовті тіла. Самців піддавали евтаназії на 18-му тижні. В усіх самців реєстрували кількість сперми, рухливість та вагу яечок, а також оцінювали гістоморфологію яечок та придатків яєчка.

Усі тварини вижили до запланованої евтаназії. Порівняно з контрольними групами, було відзначено незначне зниження в середньому споживанні їжі (від -3% до -12% в період з 1 по 15 тижень дослідження) та у збільшенні маси тіла (-23% в період з 1 по 16 тижень), пов'язані з летермовіром, при 180 мг/кг/день. Вплив летермовіру на загальні показники токсичності при 30 або 60 мг/кг/день не спостерігався. Посмертні зміни, пов'язані з летермовіром, спостерігались у яєчках та придатках яєчка при 180 мг/кг/день.

Дегенерація насінневих каналців була відзначена у яєчках більшості самців при дозі 180 мг/кг/день, цей висновок співвідносився із загальним виявленням зменшення розміру яєчка та статистично значущим зменшенням маси яєчок. Відповідно до дегенерації яєчок спостерігали зменшення сперматозоїдів у просвіті придатка яєчка, що співвідносилось із макроскопічними даними про зменшення розміру придатків та збільшенням вироджених сперматогенних клітинних залишків у просвіті придатка яєчка. У самців з дозою 60 мг/кг/день не було виявлено випадків, пов'язаних з летермовіром.

Внаслідок дегенерації насінневих каналців та зменшення кількості сперматозоїдів у просвіті придатка яєчка, зафіксованого під час гістоморфологічної оцінки, спостерігалася токсична дія на репродуктивну функцію, пов'язана з летермовіром, при 180 мг/кг/день. У самців спостерігалось зниження концентрації та рухливості сперми при 180 мг/кг/день (концентрація: $361,0 \times 10^6$ сперматозоїдів/грам хвосту придатка яєчка порівняно з $658,0 \times 10^6$ у контрольних групах; рухливість: 65,5% проти 89,1% у контрольних групах). Індекс потенційної плодючості (вагітні самки/спарені самки) та індекс фертильності (вагітні самки/самки, утримані із самцями) у самок без лікування, яких спарювали з самцями, що отримували 180 мг/кг/день, були нижчими, ніж у супутньої контрольної групи (64% порівняно з 95%) та нижче, ніж діапазони, що спостерігались в історичному плані у самців без лікування, поєднаних за віком.

Ніякого впливу летермовіру на ефективність спаровування, фертильність або параметри сперми не спостерігалось при 30 або 60 мг/кг/день. При будь-якій досліджуваній дозі впливу летермовіру на виживання ембріона/плоду не було.

Концентрації летермовіру в плазмі крові у всіх тварин

контрольної групи через 2 години після введення дози були нижчими за нижню межу кількісного визначення (LLQ = 21 нг/мл) біоаналітичного методу. Результати аналізу рецептурних доз показали, що препарати з рецептурними дозами 3- та 6 мг/мл, що використовувались для груп з дозами 30 і 60 мг/кг/день, були нижчими за показники у 1-й день. Це явище, ймовірно, призвело до зниження середньої системної експозиції летермовіру при цих дозах у перший день введення дози.

Отже, пропорційність дози та вплив повторного введення дози на основі експозиції, досягнутої в 1-ий день, неможливо оцінити. Загалом середні значення AUC_{0-24 год} летермовіру були більшими, ніж пропорційні дозі між дозами 30 і 60 мг/кг/день та приблизно пропорційні дозі між дозами 60 та 180 мг/кг/день на 2 та 12 тижні дослідження, тоді як середні значення C_{max} летермовіру були приблизно пропорційними дозі для всіх доз. Існувала послідовна незначна тенденція до зменшення середніх значень AUC_{0-24 год} та C_{max} при повторному введенні препарату. Токсикокінетичні параметри у цьому дослідженні узгоджуються з відповідними значеннями в попередніх дослідженнях з повторним введенням дози на щурах. Це підтверджує, що токсикокінетичні дані попередніх даних про фертильність були, ймовірно, невірними, хоча причина цього не була встановлена.

Підсумовуючи, загальна токсичність, пов'язана з летермовіром, спостерігалася при дозі 180 мг/кг/день і обмежувалась зниженням у збільшенні маси тіла та незначним зменшенням споживання їжі. Токсичний вплив на репродуктивну функцію самців, пов'язаний з летермовіром, спостерігався при дозі 180 мг/кг/день і полягав у зменшенні маси яєчок, а також загальних та гістоморфологічних результатах у яєчках та придатків яєчка із впливом на параметри сперми (зниження концентрації та рухливості) та фертильність (зниження індексів плодючості та фертильності). На основі цих результатів NOAEL загальної токсичності та репродуктивної токсичності у щурів-самців становив 60 мг/кг/добу (AUC_{0-24 год} 163000 нг•год/мл).

13-тижневє дослідження фертильності мавп-самців (виду Макака Cynomolgus) при пероральному введенні (через шлунковий зонд) з 8-тижневою фазою відновлення (ТТ #11-7863)

Метою цього дослідження було визначити потенційну репродуктивну токсичність летермовіру у самців після його перорального введення макаці Cynomolgus протягом 13 тижнів та оборотність потенційних змін після 8-тижневого періоду, що не включав лікування.

Статевозрілих самців макак Cynomolgus (віком принаймні 4 роки) лікували протягом 13 тижнів (n=4/група) при рівнях дози 0 (контрольна група з носієм), 60, 120 та 240 мг/кг/день з наступним 8-тижневим періодом відновлення (додатково n=2/група).

Летермовір був розроблений у вигляді 0,5%-водного розчину Tylose® і вводився в дозі 10 мл/кг.

Окрім клінічних спостережень, маси тіла та візуальної оцінки споживання їжі, було проведено комплексний набір досліджень репродуктивних органів самця та гормону самця на тваринах

	<p>основного дослідження, а також на тваринах фази відновлення. Концентрацію летермовіру в плазмі крові оцінювали у контрольних та лікованих групах.</p> <p>Незапланованих смертей не було. Зміни в передсмертному періоді, пов'язані з досліджуваним препаратом, обмежувались випадковими м'яким/рідким калом при дозі ≥ 120 мг/кг/день та слиновиділення близько часу введення препарату в дозі ≥ 60 мг/кг/день, ймовірно, пов'язане із поганим смаком препарату. Клінічні ознаки не впливали на загальний стан тварин. Не було змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, щодо маси тіла чи споживання їжі.</p> <p>Також не було виявлено змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, в аналізі сперми, проточному цитометричному аналізі тканини яєчка, об'ємі яєчок, стадії сперматогенезу, рівні гормонів у крові (тестостерон, інгібін В, фолікулостимулюючий гормон), масі органів, а також при макроскопічній та мікроскопічній оцінках (тканини статевих органів, тобто яєчок, придатків яєчка, простати, насінних бульбашок та макроскопічні дані).</p> <p>Концентрація летермовіру у зразках плазми 1-го дня у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення ($< 5,00$ нг/мл); зразки 13 тижня не аналізували. Після одноразового та повторного введення препарату системний вплив летермовіру у самців макак <i>Сynomolgus</i> на основі середньої $AUC_{0-24 \text{ год}}$ та C_{max} виявив надпропорційне збільшення з 60 до 120 мг/кг/день. Системна експозиція зі 120 до 240 мг/кг/день зросла приблизно пропорційно дозі для $AUC_{0-24 \text{ год}}$ та субпропорційно для C_{max} на 1-й день та 13-й тиждень. На закінчення, жодних змін у репродуктивній системі самців, що могли б свідчити про порушення фертильності, не спостерігалися в цьому дослідженні. Отже, NOAEL становив ≥ 240 мг/кг/день ($AUC_{0-24 \text{ год}} 211000$ нг·год/мл).</p>
ембріотоксичність	<p>Пілотне дослідження токсичної дії на розвиток потомства у щурів після перорального введення (ТТ #05-7840)</p> <p>По сім запліднених щурів лінії Вістар кожен день отримували перорально через шлунковий зонд летермовір, суспендованого в 0,5%-водяному Tylose®, з 6 по 17 день вагітності у дозах 0, 10, 50 та 250 мг/кг/день (об'єм дози 10 мл/кг). Плоди були виїняті шляхом кесаревого розтину на 20 день вагітності. Були проведені дослідження загальної переносимості досліджуваного препарату самками, а також його впливу на внутрішньоутробний розвиток. Ознаки токсичної дії на організм матері обмежувались для рівня дози 250 мг/кг/день і включали світлий кал, посилене сечовипускання, суттєво порушене споживання корму та суттєво погіршене абсолютне та кориговане збільшення маси тіла, включаючи тимчасові втрати маси тіла. Вплив на внутрішньоутробний розвиток спостерігався лише при токсичному для матері рівні дози 250 мг/кг/день: незначно знижена маса плаценти, помітно знижена маса плода, уповільнене окостеніння та збільшення частоти поширених варіацій скелета (додаткові 14-ті ребра) і, можливо, збільшення частоти виникнення неспецифічних вад розвитку. Через невелику кількість тварин у цьому пілотному дослідженні остаточно оцінка</p>

збільшення частоти виникнення загальних вад розвитку на рівні дози 250 мг/кг/день була неможливою.

Дослідження сумісності ембріональної токсичності на щурах (ТТ #06-5564)

У дослідженні, що не передбачає застосування вимог GLP, летермовір вводили перорально трьом вагітним щурам по 250 мг/кг/день. Летермовір вводили між 6 та 17 днями вагітності (12 доз) у вигляді суспензії у 0,5%-водному розчині Tylose® в дозі 10 мл/кг.

У самок було порушення споживання їжі та втрата ваги, світлий кал відзначався у однієї самки протягом одного дня, також було спостережено зменшення ваги плода та кілька злегка набряклих плодів. Оцінка скелета 15 плодів не виявила вад розвитку скелета, вісцеральна оцінка не проводилась.

Дослідження токсичної дії на розвиток потомства у щурів після перорального введення (ТТ #05-7825)

Метою цього дослідження було визначити потенціал токсичної дії летермовіру на розвиток потомства після перорального введення один раз на день вагітним щурам з 6 по 17 день вагітності. Крім того, оцінювали токсикокінетичний профіль летермовіру.

Запліднених щурів-самок лінії Вістар було розподілено на 4 групи по 22 самки, кожна з яких отримувала 10, 50 і 250 мг/кг/день летермовіру в 0,5%-водному розчині Tylose® або лише носій з 6 по 17 день вагітності при дозованому об'ємі 10 мл/кг. П'ять додаткових самок/груп були піддані токсикокінетичній оцінці. Висока доза була максимально переносимою дозою у вагітних жінок на основі результатів попередніх пілотних досліджень. Оцінка токсичної дії на організм матері базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла та споживанні їжі та води. На 20 день вагітності всі самки, що вижили, були піддані евтаназії та було досліджено вміст матки. Оцінювали кількість жовтих тіл, вагу матки та загальну морфологію плаценти. Оцінка токсичної дії на розвиток плода базувалася на життєздатності ембріона/плода, вазі плода, співвідношенні статей та зовнішній, вісцеральній, коронарній та скелетній морфології. Концентрація летермовіру в плазмі крові визначали у тварин контрольної групи та лікувальних груп, яких піддавали токсикокінетичній оцінці.

Незапланованих смертей не було.

Результати, спостережені у матерів та пов'язані з досліджуванним препаратом, були отримані при ≥ 50 мг/кг/день. При дозі 50 мг/кг/день вони обмежувались червонуватими вагінальними виділеннями (без супутнього впливу на постімплантаційні втрати). При дозі 250 мг/кг/день вони полягали у виділенні слини після введення препарату, пілоерекції, фекаліях світлого кольору у декількох тварин, холодній поверхні тіла у однієї самки та ходьбі з підкиданням лап. Крім того, зменшення споживання їжі (приблизно від -30 до -40% від контрольної групи) разом із зменшенням споживання води та зменшенням кількості фекалій, помірною індивідуальною втратою маси тіла із порушенням середнього приросту маси тіла (-53% від контрольної групи), червонуватими вагінальними виділеннями, і одиничним випадком м'якого калу спостерігалось при дозі 250 мг/кг/день. У інших

самок групи з дозою 250 мг/кг/день спостерігалось також збільшення споживання води та збільшення сечовипускання. Посмертні спостереження були обмежені двома самками в групі 250 мг/кг/день і склалися із зменшеного розміру селезінки у обох самок, чорних плям на слизовій шлунку, порожньої тонкої кишки, чорно-коричневого вмісту в сліпій кишці та збільшення надниркових залоз в одній цих самок.

Зміни у розвитку, пов'язані з досліджуванним препаратом спостерігались лише при дозі 250 мг/кг/день. Вони полягали в мінімальному зменшенні маси плаценти (0,55 г проти 0,58 г у контрольних групах), зменшенні ваги плода (3,15 г проти 3,65 г у контрольних групах), а також у повільненому окостенінні, збільшенні частоти виникнення укороченої пуповини та злегка набряклих плодів, збільшенні частоти виникнення загальних спонтанних вад розвитку (переважно додаткові поперекові хребці/зсув таза) та загальні зміни скелета (додаткові 14 ребра та змінена форма крижових дуг хребців). Не можна виключити взаємозв'язок з досліджуванним препаратом децю збільшеної кількості плодів із загальними вадами розвитку очей та інших спорадичних вад розвитку (один випадок множинних серцево-судинних вад розвитку та кілька плодів з відсутністю головки 1-го ребра). Зміни у розвитку при 10 та 50 мг/кг/день не спостерігались. Концентрація летермовіру у плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<0,250 нг/мл), за винятком 3 з 20 зразків, у яких були виявлені низьку концентрацію досліджуваного препарату. Ці показники концентрації, швидше за все, зумовлені незначним забрудненням *ex vivo* зразків і не мають значення для токсикокінетичної оцінки та оцінки токсичної дії на розвиток. Експозиція зростала більшою, ніж пропорційно дозі, з 10 до 50 мг/кг/день і – особливо для C_{max} – менше, ніж пропорційно дозі, з 50 до 250 мг/кг/день.

Керівник дослідження дійшов висновку, що NOAEL токсичної дії на організм матері становить 10 мг/кг/день, а NOAEL токсичної дії на розвиток плода – 50 мг/кг/день. Враховуючи той факт, що єдині дані про організм матері при дозі 50 мг/кг/день були червонуваті вагінальні виділення, які не впливали на постімплантаційні втрати, Спонсор вважає, що NOAEL становить 50 мг/кг/день як для токсичної дії на організм матері ($AUC_{0-24 \text{ год}}$ 258731 нг•год/мл), так і на розвиток плода.

Пілотне дослідження токсичної дії на розвиток потомства у кроликів після перорального введення (5, 20, 80 мг/кг/день) (ТТ #05-7841)

Три спарені гімалайські кролиці отримували кожна летермовір перорально через шлунковий зонд у 0,5%-розчині Tylose® щодня з 6 по 20 день вагітності у дозах 0 (контрольна група), 5, 20 та 80 мг/кг/кг (об'єм дози 5 мл/кг) [Розділ 2.6.7.11]. Плоди були виїняті шляхом кесаревого розтину в 29 день вагітності. Проводили обстеження загальної переносимості досліджуваного препарату самками, а також щодо його впливу на внутрішньоутробний розвиток (включаючи зовнішню та вісцеральну оцінку плодів). Зміни, пов'язані з досліджуванним препаратом, були відзначені

лише при дозі 80 мг/кг/день. В однієї самки відбулися дострокові пологи після того, як вона продемонструвала ознаки серйозної токсичної дії на материнський організм. Решта самок групи тимчасово демонстрували зменшення споживання води із зменшенням сечовипускання в однієї самки. Ці решта самок продемонстрували лише два живих плоди через збільшені передімплантанційні втрати/ранні (не видимі) постімплантаційні втрати. Виникли два випадки грубозернистої плаценти, при яких не можна виключити вплив, пов'язаний із досліджуванним препаратом, вага плодів незначно зменшилася. Зовнішнє обстеження плодів виявило один плід із множинними вадами розвитку, а крім того, один плід із неправильним розташуванням передньої кінцівки (кінцівок), причиною яких не можна виключити вплив лікування. Остаточна оцінка параметрів плода в цьому експериментальному дослідженні неможлива через обмежену кількість лише чотирьох плодів при дозі 80 мг/кг/день.

Додаткове пілотне дослідження токсичної дії на розвиток потомства у кроликів після перорального введення (30, 60 мг/кг/день) (ТТ #05-7842)

Три спарені гімалайські кролиці отримували кожна летермовір перорально через шлунковий зонд у 0,5%-водному розчині Tylose® щодня з 6 по 20 день вагітності у дозах 0 (контрольна група), 30 і 60 мг/кг/день (обсяг дози 5 мл/кг). Це дослідження було проведено додатково до попереднього пілотного дослідження токсичної дії на розвиток потомства з летермовіром, щоб встановити відповідний рівень високих доз для основного дослідження токсичної дії на розвиток потомства. Плоди були вийняті шляхом кесаревого розтину в 29 день вагітності. Проводили обстеження загальної переносимості досліджуваного препарату самками, а також його впливу на внутрішньоутробний розвиток (включаючи зовнішню та вісцеральну оцінку плодів). Вплив, пов'язаний із лікуванням, виявлений у матері не був очевидним при рівнях доз до 60 мг/кг/день включно, за винятком однозначної втрати маси тіла у однієї самки при 60 мг/кг/день. На параметри внутрішньоутробного розвитку лікування також не виявили впливу при рівнях доз до 60 мг/кг/день.

Додаткове пілотне дослідження токсичної дії на розвиток потомства у кроликів після перорального введення (70 мг/кг/день) (ТТ #06-5562)

Три спарені гімалайські кролиці отримували кожна летермовір перорально через шлунковий зонд у 0,5%-водному розчині Tylose® щодня з 6 по 20 день вагітності у дозах 0 (контрольна група) та 70 мг/кг/день (обсяг дози 5 мл/кг). Це дослідження було проведено додатково до двох попередніх пілотних досліджень токсичної дії на розвиток потомства з летермовіром, щоб встановити відповідний рівень високих доз для основного дослідження токсичної дії на розвиток потомства. Плоди були вийняті шляхом кесаревого розтину в 29 день вагітності. Проводили обстеження загальної переносимості досліджуваного препарату самками, а також його впливу на внутрішньоутробний розвиток (включаючи зовнішню та вісцеральну оцінку плодів). Вплив, пов'язаний із лікуванням, виявлений у матері не був

наявним при дозі 70 мг/кг/день, за винятком двозначних результатів тимчасово збільшеного споживання води і, отже, збільшення сечовипускання у двох самок групи з цієї дози. Також не було впливу на параметри внутрішньоутробного розвитку при дозі 70 мг/кг/день.

Додаткове пілотне дослідження токсичної дії на розвиток потомства у кроликів після перорального введення (200, 250 мг/кг/день) (ТТ #06-5563)

Три спарені гімалайські кролиці отримували кожна летермовір перорально через шлунковий зонд у 0,5%-розчині Tylose® щодня з 6 по 20 день вагітності у дозах 0 (контрольна група), 200 та 250 мг/кг/день (об'єм дози 5 мл/кг). Це дослідження було проведено додатково до трьох попередніх пілотних досліджень токсичної дії на розвиток потомства з летермовіром, щоб встановити відповідний високий рівень дози для основного дослідження токсичної дії на розвиток потомства. Плоди були вибрані шляхом кесаревого розтину в 29 день вагітності.

Проводили обстеження загальної переносимості досліджуваного препарату самками, а також його впливу на внутрішньоутробний розвиток (включаючи зовнішню та вісцеральну оцінку плодів). Зразки крові всіх самок брали у 20 день вагітності перед введенням та через 1, 2, 4, 7 та 24 години після введення для токсикокінетичного дослідження.

В однієї самки в групі 250 мг/кг/день перервалась вагітність після того, як у неї виявилися ознаки серйозної токсичної дії на материнський організм. Решта самок у групі 250 мг/кг/день також мали ознаки серйозної токсичності. Одну самку в групі 200 мг/кг/день вбили в помираючому стані через випадковий гнійний вагініт, решта самок в групі з таким рівнем дози не виявляли ознак токсичності на материнський організм. В однієї самки при дозі 250 мг/кг/день перервалась вагітність, решта самок при цьому рівні дози продемонстрували загальну резорбцію. Впливу, пов'язаного з лікуванням, на параметри внутрішньоутробного розвитку при дозі 200 мг/кг/день не було.

Дослідження токсичної дії на розвиток потомства у кроликів після перорального введення (ТТ #05-7830)

Завданням цього дослідження було визначити потенціал токсичної дії летермовіру на розвиток потомства при пероральному введенні один раз на день вагітним кролицям з 6 по 20 день вагітності. Крім того, оцінювали токсикокінетичний профіль летермовіру.

Запліднених гімалайських кролиць було віднесено до 4 груп по 20 самок, кожна з яких отримувала 25, 75 або 225 мг/кг/день летермовіру в 0,5%-водному розчині Tylose® або лише носій з 6 по 20 день вагітності при дозі 5 мл/кг. Три додаткові самки/група були піддані токсикокінетичній оцінці. Очікувалось, що висока доза буде максимально переносимою дозою у кролиць на основі результатів попередніх пілотних досліджень.

Оцінка токсичної дії на організм матері базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла та споживанні їжі та води. У 29 день вагітності всі самки, що вижили, були піддані евтаназії та досліджували вміст матки. Оцінювали кількість жовтих тіл, вагу матки та загальну морфологію плаценти. Оцінка токсичної дії на

розвиток потомства базувалася на життєздатності ембріона/плода, вазі плода, співвідношенні статей та зовнішній, вісцеральній, корональній та скелетній морфології. Концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали у тварин контрольної групи та тварин груп лікування, підданих токсикокінетичній оцінці.

Вплив на материнський організм, пов'язаний з досліджуваним препаратом, спостерігався лише при 225 мг/кг/день. Одну самку з групи 225 мг/кг/день довелося вбити в помираючому стані, ще в трьох самок групи з цією дозою перервалася вагітність після того, як кожна з них виявила ознаки серйозної токсичної дії на організм матері.

При дозі 225 мг/кг/день споживання їжі зменшувалось протягом періоду лікування, що відповідає незначно збільшеній частоті зменшеної кількості частково м'яких фекалій з наступним компенсаційним збільшенням споживання їжі після закінчення періоду лікування. Збільшення частоти зменшеного споживання води і, отже, зменшеного і частково зеленуватого знебарвлення сечовипускання також спостерігалось при цій дозі.

Гранична втрата маси тіла відбулася після початку лікування, супроводжуючись зменшенням абсолютного приросту маси тіла протягом періоду лікування у самок із життєздатними плодами (-76% від контрольної групи), причиною яких неможливо виключити вплив, пов'язаний з досліджуваним препаратом, через зменшення споживання їжі (до -34% від контрольної групи) з наступним компенсаційним збільшенням маси тіла після закінчення періоду лікування. Під час розтину виявлено п'ять самок при рівні 225 мг/кг/день з даними про вплив на кишечник (сліпа або товста кишка з газоподібним або затверділим вмістом) або печінку (затверділа, жовчний міхур розширений і щільно заповнений).

Коефіцієнт вагітності у групі 225 мг/кг/день знизився за рахунок абортів трьох самок та загальної резорбції однієї самки, постімплантаційні втрати (пізні резорбції) незначно збільшилися у решті самок з цим рівнем дози, причиною чого не може бути виключений вплив, пов'язаний із досліджуваним препаратом. Зміни розвитку, пов'язані з досліджуваним препаратом, були відзначені при дозі 225 мг/кг/день і обмежувались одним надмірним пресакральним хребцем з поперековими ребрами (вади розвитку) у 2 плодів та збільшенням частоти виникнення поперекових ребер (рухомі та у формі коми або повністю присутні, відхилення).

Незважаючи на те, що ці зміни спостерігались у обмеженій кількості плодів, відношення до досліджуваного препарату не можна повністю виключити, оскільки ці випадки були поза діапазоном ретроспективних контрольних даних в лабораторії. Розподіл статі та вага плода не зазнали змін. Зовнішніх чи вісцеральних даних про вплив, пов'язаний із досліджуваним препаратом, не було. Зміни в материнському організмі та розвитку плода, пов'язані з досліджуваним препаратом, при 25 та 75 мг/кг/день не спостерігались.

Концентрація летермовіру в плазмі крові у всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного

	<p>визначення (<1,00 нг/мл), за винятком 6 з 30 зразків, у яких знайдена низька концентрація (від 1,22 нг/мл до 54,1 нг/мл) досліджуваного препарату. Ці показники концентрації, швидше за все, зумовлені незначним забрудненням ex-vivo зразків і не мають значення для токсикокінетичної оцінки або оцінки токсичності. Токсикокінетичне дослідження показало більше, ніж пропорційне дозі збільшення C_{max} та $AUC_{0-24 \text{ год}}$ від низької до середньої дози.</p> <p>Від середньої до високої дози $AUC_{0-24 \text{ год}}$ збільшувалась лише дещо більше, ніж пропорційно дозі, у 20 день вагітності. Від середньої до високої дози C_{max} збільшувалась помірно менше, ніж пропорційно дозі, в 20 день вагітності. В групах із середньою та високою дозами експозиція у 20 день вагітності була явно нижчою, ніж у 6 день вагітності. На підставі даних про вплив на організм матері та плоду, які спостерігались при 225 мг/кг/день, NOAEL токсичної дії на організм матері ($AUC_{0-24 \text{ год}} - 47355 \text{ нг} \cdot \text{год/мл}$) та на розвиток плода становила 75 мг/кг/день.</p>
<p>пренатальна та постнатальна токсичність</p>	<p>Дослідження пре- та постнатального розвитку на щурах при пероральному введенні (через шлунковий зонд) (ТТ #11-7860)</p> <p>Метою дослідження було оцінити потенційний вплив летермовіру на розвиток, ріст, поведінку, репродуктивну функцію та фертильність у щурів покоління F_1 (Р) після щоденного перорального введення самкам щурів F_0 з 6 дня вагітності до 22 дня після пологів. Оцінювали токсикокінетичний профіль летермовіру у матері на 6 день вагітності.</p> <p>Використовували концентрації у плямах крові для визначення впливу летермовіру на покоління F_1. Спочатку планувалось оцінити концентрацію летермовіру в материнському молоці. Оскільки кількість молока, яка могла бути зібрана, не відповідала цільовому обсягу, така оцінка не проводилась.</p> <p>Самці щурів лінії Вістар, підібрані за часом спарювання, були віднесені до 4 груп по 24 тварини в кожній. Починаючи з 6 дня вагітності та до 22 дня після пологів, самкам вводили щодня через шлунковий зонд 10, 45 або 180 мг/кг/день летермовіру в 0,5% Tylose® або лише носій в дозі 10 мл/кг. Двадцять чотири тварини були виділені в кожену групу, 160 відібраних щурів першого покоління (F_1) (20/група/стать) використовувались для формування покоління F_1 (без лікування).</p> <p>Оцінка токсичної дії на організм матері у поколінні F_0 базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла, споживанні їжі та макроскопічному дослідженні, обмеженому обстеженням грудних та черевних органів. Оцінка покоління F_1 базувалася на постімплантаційному виживанні, зовнішній морфології дитинчат, смертності, клінічних спостереженнях, вазі тіла, ознаках розвитку, поведінкових тестах, репродуктивній здатності та фертильності. Незапланованих смертей у поколінні F_0 та поколінні F_1 після відлучення не було.</p> <p>Покоління F_0</p> <p>Під час дослідження у тварин, які отримували 45 і 180 мг/кг/день, спостерігалось розтирання рота, слиновиділення та перебирання лапами. Це вважалось скоріше ознаками відрази до смаку, а не системною токсичністю.</p>

	<p>При 180 мг/кг/день спостерігалася значна втрата маси тіла в перші дні введення препарату.</p> <p>Однак збільшення маси тіла було подібним у всіх групах протягом решти дослідження. Лікування не впливало на середнє споживання їжі.</p> <p><i>Покоління F₀, дані про виводок</i></p> <p>При 180 мг/кг/день спостерігався вплив на середні показники виводку з точки зору збільшення втрати виводку та зменшення середнього приросту маси тіла з 1 по 21 день після пологів (-13% порівняно з контрольною групою). Спонсор вважав, що зміни маси тіла були мінімальними, нешкідливими та несли обмежене токсикологічне значення.</p> <p>Покоління F₁ після відлучення</p> <p>Зміни, пов'язані з досліджуваним препаратом, у покоління F₁ після відлучення спостерігалися при 180 мг/кг/день.</p> <p>Вони полягали у незначному зменшенні приросту маси тіла у самців з 12 по 16 тиждень після пологів (-22% відносно контрольної групи) та у вагітних самок F₁ з 0 до 3 дня вагітності (-30%) та затримки середнього відкриття піхви у самок (36,7 день після пологів проти 34,5 дня після пологів у контрольній групі). Оскільки зміни були мінімальні, не пов'язані з клінічними ознаками, і не впливали на репродуктивну здатність, Спонсор вважав, що вони не є несприятливими та мають обмежене токсикологічне значення.</p> <p>Впливу, пов'язаного із досліджуваним препаратом, на неврологічний розвиток, репродуктивну здатність, фертильність чи інші параметри фізичного розвитку дитинчат не було виявлено. Після гістопатологічного дослідження яєчок не було виявлено макроскопічних або мікроскопічних даних, що свідчать про вплив досліджуваного препарату.</p> <p>Концентрація летермовіру у плазмі крові всіх тварин контрольної групи були нижчими за нижню межу кількісного визначення (<5,00 нг/мл). Супутнє визначення концентрації летермовіру у плазмі в 1 день введення препарату (6 день вагітності) продемонструвало, що всі самки-матері зазнавали дії сполуки.</p> <p>Середня концентрація в плямах крові у поколінні F₁ при 45 мг/кг/день становила 1,56 нг/мл у самців та 1,86 нг/мл у самок. При 180 мг/кг/день середня концентрація в плямах крові становила 21,6 нг/мл у самців та 12,7 нг/мл у самок.</p> <p>На закінчення, через втрату виводку у поколінні F₀, ВНТД у поколінні F₀ становила 45 мг/кг/добу. Керівник дослідження дійшов висновку, що ВНТД покоління F₁ становила 45 мг/кг/день на основі затримки відкриття піхви та зменшення приросту маси тіла. Спонсор вважає, що ці зміни мають мінімальний масштаб, не є несприятливими та мають обмежене токсикологічне значення. Отже Спонсор дотримується думки, що ВНТД для покоління F₁ після відлучення становить ≥ 180 мг/кг/день.</p>
дослідження, в яких препарат вводиться виводку (незрілим тваринам) та/або оцінюється тривала	<p>Двотижневе дослідження токсичності на ювенільних щурах при пероральному введенні (через шлунковий зонд) (ТТ #10-7838)</p> <p>Метою дослідження було визначити потенційну токсичність летермовіру після щоденного перорального введення (через зонд)</p>

дія	<p>щурам-самцям протягом 2 тижнів, починаючи з 14-денного віку. Крім того, оцінювали потенціал летермовіру перешкоджати встановленню гемато-тестикулярного бар'єра.</p> <p>Дві групи самців щурів Crl:WI(Han) (5 тварин/група) отримували 60 або 180 мг/кг/день летермовіру в 0,5% Tylose® або лише носій з 14 по 27 день після народження в дозі 10 мл/кг.</p> <p>Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла та патолого-анатомічній оцінці, включаючи оцінку гемато-тестикулярного бар'єра та стадій сперматогенезу. Незапланованих смертей не було.</p> <p>Незначне збільшення приросту маси тіла, пов'язане з досліджуваним препаратом, було відзначено при 60 мг/кг/день (збільшення на ~20%) та зниження при 180 мг/кг/день (зменшення на ~20%). Ці зміни не вплинули на стан здоров'я тварин, не були несприятливими та мали мінімальне токсикологічне значення.</p> <p>Наприкінці 2-тижневого періоду лікування вага простати, а також яєчок та придатків яєчка була порівнянною у всіх групах. Після дослідження повного набору тканин не було виявлено жодних макроскопічних чи мікроскопічних знахідок, пов'язаних з досліджуваним препаратом. Крім того, обстеження яєчок не показало жодних відхилень у морфологічному вигляді та цілісності різних типів клітин, що знаходяться в цьому незрілому органі.</p> <p>Загалом пероральне введення летермовіру до 180 мг/кг/день (ВНТД) ювенільним щурам протягом 2 тижнів, починаючи з 14-денного віку, не перешкоджало проліферації клітин Сертолі або зародковому епітелію.</p>
б) місцева переносимість	<p>Два дослідження місцевої переносимості (тест на помутніння та проникність рогівки великої рогатої худоби та МТТ-тест життєздатності MatTek EpiDerm™) були проведені на підтримку програми охорони праці. Були проведені додаткові дослідження місцевої переносимості для оцінки місцевої переносимості різних препаратів, що вводяться внутрішньовенним клінічним способом введення або непередбаченими способами введення. На основі результатів цих досліджень місцевої переносимості та результатів 4-тижневих досліджень з повторним введенням препарату як клінічний препарат для в/в введення був обраний гідроксипропіл бетадекс.</p> <p>Тест на помутніння та проникність рогівки великої рогатої худоби (BCOP) (ТТ #14-7826)</p> <p>Метою цього дослідження було визначити потенціал подразнення очей, використовуючи альтернативу методології Дрейза. П'яти рогівкам дали дозу 0,75 мл 20%-суспензії летермовіру. Визначали вимірювання помутніння та проникність флуоресцеїну натрію. У цьому аналізі летермовір класифікували як легкий подразник.</p> <p>МТТ-тест життєздатності MatTek EpiDerm™ (ТТ #14-7827)</p> <p>Метою цього дослідження було дати оцінку потенціалу подразнення шкіри за допомогою альтернативи методології Дрейза. Продемонстровано, що МТТ-тест життєздатності MatTek EpiDerm™ є кількісним методом для оцінки потенційних ризиків для шкіри.</p> <p>Зразки тканин для MatTek EpiDerm™ лікували у двох</p>

примірниках летермовіром (100 мг) протягом 1, 4 та 24 годин або 1%-Triton® X-100 (позитивний контроль) протягом 4 та 9 годин. Негативний контроль (тканина без лікування) тестували таким же чином протягом лише 4 годин. Після лікування життєздатність тканин визначали за допомогою поглинання та зменшення метилтіазолтетразолію (МТТ). Поглинання кожного зразка вимірювали при 540 нм, використовуючи опорну довжину хвилі 690 нм. Життєздатність виражалася у відсотках від контрольних значень. Середній відсоток життєздатності для кожної часової точки використовувався для обчислення ET₅₀, що представляє час, коли життєздатність тканин для EpiDerm™ знизилася на 50% порівняно з тканинами негативного контролю. Бали ET₅₀ були перетворені у класифікацію подразників. Летермовір класифікували як не подразнюючий (ET₅₀ >24,0 години).

Експериментальне дослідження місцевої переносимості внутрішньовенне введення одноразової дози на щурах (ТТ #15-1154)

Метою цього дослідження була оцінка місцевої переносимості летермовіру в різних носіях при введенні щурам-самцям у вигляді одноразової внутрішньовенної дози.

Шістнадцять щурів CrI:WI(HAN) розподілили до 4 груп по 4 самці в кожній, яким вводили одну внутрішньовенну дозу у вигляді болюсу. Три групи отримували базову сполуку летермовіру в розчині: дві групи отримували 9,6 мг/кг летермовіру в розчині, забуференому фосфатом натрію, що містить 0,072%, або 0,12% полісорбату 80, одна група отримувала 8,1 мг/кг летермовіру в 0,339%-розчині на основі аргініну. Контрольна група отримала лише носій розчину, забуференого фосфатом натрію, що містить 0,12% полісорбату 80. Всі розчини вводили при ~2 мл/хвилину при дозі 5 мл/кг.

Оцінка переносимості базувалася на смертності, клінічних ознаках, макроскопічній та патолого-анатомічній оцінках місця ін'єкції. Внутрішньовенне введення летермовіру переносилось добре. Усі тварини вижили до евтаназії, даних після розтину, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не було виявлено.

Дослідження місцевої переносимості (при внутрішньовенному, підшкірному, внутрішньом'язовому та внутрішньоартеріальному введенні) на кроликах (ТТ #11-7862)

Метою дослідження було продемонструвати потенціал летермовіру, введеного одноразово у вигляді водного розчину (розведений ліофілізат летермовіру у воді для ін'єкцій), щоб спричинити місцеві зміни в місцях в/в, підшкірного (п/ш), внутрішньом'язового (в/м) та внутрішньоартеріального (в/а) введення. Тварин лікували, порівнюючи дію препарату на лівій/правій стороні (досліджуваний препарат/вода для ін'єкцій). Трьох тварин з кожної групи піддали евтаназії через 24 години після введення. Решту тварин піддали евтаназії через 96 годин після введення.

Оцінка переносимості базувалася на смертності, клінічних ознаках, макроскопічній та патолого-анатомічній оцінках місця ін'єкції.

Спостереження за місцем введення виявили незначні місцеві зміни у групах всіх доз. Однак ці реакції спостерігались у місцях введення води для ін'єкцій та в місцях введення досліджуваного препарату без явного зв'язку з летермовіром.

Проведено макроскопічну та мікроскопічну оцінку місць ін'єкції. Через 24 години після введення препарату були свідчення про подразнення летермовіру в місцях ін'єкцій тварин, яким вводили в/в (болюс та вливання), в/м та в/а (болюс та вливання). Свідчень про подразнення летермовіру, який вводили п/ш не було. Через 96 годин після введення препарату були свідчення про процес відновлення місць ін'єкцій тварин, яким вводили летермовір усіма способами. У місцях в/в (болюс) та в/а (болюс) ін'єкцій тривала запальна реакція відповідала більш тривалому зціленню, що очікувалося після виявлення свідчень про вищі стадії через 24 години після введення препарату. На місцях в/м ін'єкцій, регенерація м'язової тканини від мінімальної до незначної була типовою для процесу загоєння, очікуваного після в/м ін'єкції, і вказувала на процес відновлення в обох місцях ін'єкції.

Летермовір виявив незначну місцеву непереносимість порівняно з водою для ін'єкцій при в/в (болюс та вливання), в/м та в/а (болюс та вливання) способах введення.

Однак спостерігалася тенденція до оборотності результатів через 96 годин після введення препарату порівняно з 24 годинами після введення препарату.

Дослідження місцевої переносимості летермовіру на новозеландських білих кроликах після одноразового внутрішньоартеріального, внутрішньом'язового, внутрішньовенного та підшкірного введення (ТТ #12-7804)

Метою цього експерименту було отримати інформацію про місцеву переносимість летермовіру у 20%-розчині циклодекстрину у новозеландських білих кроликів після одноразового в/в вливання (15-хвилинне вливання) та в/а, в/м та п/ш ін'єкцій.

Введені дози становили 0,5 мл/тварину для в/в вливання та в/а ін'єкції, 0,3 мл/тварину для п/ш ін'єкції та 0,1 мл/тварину для в/м ін'єкції.

Було використано 24 тварини. Для кожної тварини використовували два способи введення: в/в вливання та п/ш ін'єкція, або в/м та в/а ін'єкція. Використовували дві концентрації досліджуваного зразка: 2,5 та 5 мг/мл у 20%-розчині циклодекстрину. Досліджувані лікарські форми вводили один раз на лівій стороні кожної тварини, відповідні плацебо – на правій стороні.

Через 24 та 96 годин після введення по 3 тварини на концентрацію досліджуваного зразка та комбіновані способи введення піддали евтаназії, місця введення досліджували макро- та мікроскопічно. Оцінка переносимості базувалася на смертності, макроскопічних та патолого-анатомічних оцінках місця ін'єкції.

Дві досліджувані концентрації летермовіру (2,5 та 5,0 мг/мл) не викликали ознак місцевої непереносимості після в/в вливання (15-хвилинне вливання) та в/а або п/ш ін'єкцій. В/м ін'єкція призвела до гістопатологічних змін, пов'язаних із досліджуваним

	<p>препаратом. Порівняно з контролем, спостерігалось дозозалежне збільшення тяжкості вогнищового некрозу м'язових клітин з лімфогістіоцитарними інфільтратами через 24 та 96 годин після введення дози. Крім того, спостерігався міжм'язовий набряк після введення високої досліджуваної концентрації 5 мг/мл у 24-годинний час спостереження. Наприкінці 96-годинного періоду спостереження в м'язах спостерігалася грануляційна тканина при обох концентраціях летермовіру, що вказує на певний ступінь регенерації.</p> <p>На закінчення слід зазначити, що летермовір, який вводили у дозі 2,5 та 5 мг/мл у 20%-циклодекстриновому носії, застосовувався шляхом вливання без ознак місцевої непереносимості біля вени.</p> <p>Гістопатологічне дослідження макроскопічних та мікроскопічних змін у місці ін'єкції за результатами дослідження місцевої переносимості летермовіру на кроликах (ТТ #13-3843)</p> <p>Завданням цього дослідження було оцінити місцеву переносимість нового лікарської форми летермовіру на основі Твін 80/ПЕГ 400 при одноразовому введенні внутрішньовенно (повільний болус) новозеландським білим кроликам.</p> <p>Шість самців новозеландських білих кроликів, віком приблизно від 4 місяців, розподілили порівну на 3 групи лікування, їм ввели одноразову дозу форми летермовіру Твін 80/ПЕГ 400, форми гідроксипропілбетадексу або аргініну в ліву крайову вушну вену зі швидкістю 100 мкл/хв протягом 5 хвилин. Контрольний препарат, 0,9% фізіологічний розчин, вводили у праву крайову вушну вену кожного кролика. Тварин піддавали евтаназії приблизно через 24 години після ін'єкцій.</p> <p>Оцінка переносимості базувалася на смертності, макроскопічній та патолого-анатомічній оцінках місця ін'єкції.</p> <p>Жодних гістоморфологічних змін вушної раковини кроликів, пов'язаних із досліджуваним препаратом, не спостерігалось при внутрішньовенному введенні форми летермовіру Твін 80/ПЕГ 400, форми гідроксипропілбетадексу або аргініну.</p>
7) інші дослідження токсичності:	
антигенність (вироблення антитіл)	У планових дослідженнях токсичності з повторним введенням препарату не спостерігалось жодних змін, які б вважалися обумовленими потенційною антигенністю. Тому оцінок антигенності не проводилось.
імунотоксичність	Конкретні кінцеві точки імунотоксичності оцінювали у 4- та 13-тижневих дослідженнях токсичності з повторним введенням препарату на щурах, включаючи визначення кількості клітин селезінки, імунофенотипування спленоцитів, титрів сироваткових антитіл та/або аналізу бляшкоутворення. З цих кінцевих точок зміни, зазначені у звіті про дослідження як несприятливі, спостерігалися лише при дозі 180 мг/кг/день та обмежувались збільшенням Т-клітин CD4, В-клітин, антиген-презентуючих клітин, CD45 _{загальні} , CD45 _{низькі} клітин та зменшенням високих CD45 клітин. Враховуючи сукупність доклінічних даних про летермовір, ці дані не вважаються несприятливими та не входять у діапазон варіабельності цього типу аналізу. Крім того, не було

	<p>виявлено ознак імунотоксичності летермовіру в планових дослідженнях токсичності з повторним введенням препарату, проведених на щурах та мавпах, включаючи імуносупресію, запальні реакції або будь-які побічні явища на лімфоїдні тканини. У цих дослідженнях огляд вагомості свідчень клінічної патології, маси органів, а також макроскопічних та гістопатологічних даних показав, що немає причин для занепокоєння щодо імунотоксичності внаслідок лікування летермовіром. Таким чином, відповідно до Керівництва ICH S8 щодо досліджень імунотоксичності фармацевтичних препаратів для людей додаткові дослідження імунотоксичності не проводились. Дослідження реакції регіонарних лімфовузлів (LLNA) був проведений на мишах на підтримку програми охорони праці.</p> <p>Дослідження реакції регіонарних лімфовузлів (LLNA) (ТТ #14-7828)</p> <p>У дослідженні реакції регіонарних лімфовузлів, проведеному на мишах, концентрація летермовіру (5%, 10% та 25% (мас./об.) у N,N-диметилформаміді (ДМФА)), позитивний контроль (25% об./об. гексилциннамальдегіду), або контроль носія (ДМФА) вводили шляхом місцевого застосування в тильну частину кожного вуха 5 самок мишей СВА/І один раз на день протягом трьох днів поспіль [Розділ 2.6.7.17]. Вимірювання товщини вух та індивідуальні спостереження тварин показали, що жодне з лікувань досліджуваним препаратом не призвело до надмірного місцевого подразнення шкіри.</p> <p>Після евтаназії були виділені вушні лімфатичні вузли, були згенеровані суспензії окремих клітин лімфатичних вузлів (LNC), суспензії LNC аналізували за допомогою проточної цитометрії включення 5-бром-2'-дезоксидуридину (BrdU). Кількість проліферуючого (BrdU+) LNC визначали як міру проліферативної реакції регіонарного лімфатичного вузла.</p> <p>Летермовір не визначили шкірним сенсibilізатором, оскільки не спостерігалось збільшення індексу стимуляції, пов'язаного з досліджуваним препаратом, порівняно з контрольною групою носія.</p>
дослідження механізмів дії	Механізм дії оцінювали в рамках фармакодинамічних досліджень. Додаткових досліджень механізму дії не проводилось.
лікарська залежність	Результати кількісної авторадіографії всього тіла у самців щурів W1 після одноразової внутрішньовенної дози (3 мг/кг) [14C] летермовіру свідчать про те, що летермовір не перетинав гематоенцефалічний бар'єр з легкістю. Крім того, не було ознак того, що летермовір має фармакологічний профіль, який відповідає потенціалу відповідальності за зловживання лікарськими засобами, також не було жодних доказів у фармакологічному дослідженні безпеки ЦНС або в планових дослідженнях токсичності з повторним введенням препарату психотропних побічних явищ (тобто седативних або стимулюючих явищ). Таким чином, жодних досліджень потенційного зловживання лікарськими засобами не проводилось.
токсичність метаболітів	Жодного циркулюючого метаболіту в плазмі крові людини виявити не було більше, ніж 10% від загальної експозиції, пов'язаної з лікарським засобом. Отже, вимоги ICH M3 (R2) щодо

	<p>оцінки безпеки метаболітів були дотримані з летермовіром, жодних досліджень з окремими метаболітами не проводилось. Потенційну токсичність метаболітів оцінювали в рамках досліджень токсичності з повторним введенням препарату.</p>
токсичність домішок	<p>Не проводилось жодних доклінічних досліджень з окремими домішками. Рівні всіх домішок були нижче кваліфікаційного порогу, як визначено в керівництві ІСН щодо домішок у нових лікарських речовинах.</p>
інше	<p>Експериментальне токсикокінетичне дослідження одноразового перорального введення на самках щурів Лонг-Еванс (ТТ #14-1010)</p> <p>Метою цього дослідження була оцінка токсикокінетичного профілю летермовіру при одноразовому пероральному введенні через шлунковий зонд самкам щурів Лонг-Еванс, щоб допомогти у виборі дози для подальшого дослідження фототоксичності на щурах Лонг-Еванс.</p> <p>Пігментованих самок щурів Crl:LE (Лонг-Еванс) віком десяти тижнів було віднесено до п'яти груп по 4 самок, кожна з яких отримувала 100, 200, 500, 1000 або 2000 мг/кг летермовіру (у вигляді базової сполуки) у 0,5% Tylose® в деіонізованій воді в дозі 10 мл/кг.</p> <p>Тварин спостерігали на смертність. Концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали у всіх групах.</p> <p>Усі тварини вижили до запланованої евтаназії.</p> <p>Триденне дослідження фототоксичності та біоаналізу перорального введення (через шлунковий зонд) на самках пігментованих щурів (ТТ #14-9001)</p> <p>Молярний коефіцієнт екстинкції летермовіру при 290 нм становить 10173 моль/л-1 см-1, що перевищує поріг 1000 моль/л-1 см-1 для оцінки фототоксичності згідно з Керівництвом ІСН S10. Отже, метою цього дослідження було оцінити потенційний фототоксичний вплив летермовіру при пероральному введенні (через зонд) пігментованим самкам щурів Crl:LE (Лонг-Еванс) протягом трьох днів поспіль з подальшим використанням ксенонкової лампи (для імітації сонячного світла).</p> <p>П'ятнадцять пігментованих самок щурів Crl:LE (Лонг-Еванс) були випадково розподілені до трьох дозових груп по 5 щурів на групу для дослідження фототоксичності. Додатково 9 щурів (3 щури/група) були призначені для збору зразків біоаналізу.</p> <p>Препарати летермовіру в досліджуваному зразку 0,5% (мас./об.) Tylose® у воді вводили перорально через зонд один раз на день з 1 по 3 день у дозах 0 (контрольний препарат), 100 або 500 мг/кг/день. Об'єм дози становив 10 мл/кг.</p> <p>На 3 день світло- і темно-пігментовані ділянки шкіри щурів піддавали дії УФ-випроміненню протягом 4 годин ± 10 хвилин після введення препарату. Для того, щоб піддати очі інтенсивності УФ-випроміненню, порівнянної з інтенсивністю на ділянки шкіри, голову кожного щура піднімали так, щоб очі знаходились на площині, еквівалентній ділянкам шкіри.</p> <p>Зразки крові відбирали з яремної вени у трьох щурів фази біоаналізу на групу приблизно через 2, 4 та 7 годин після введення препарату для визначення концентрації летермовіру в плазмі.</p>

Оцінка фототоксичності базувалася на клінічних спостереженнях та спостереженнях за шкірними реакціями, офтальмологічних оглядах та очній гістопатології.

Усі шури дожили до запланованої евтаназії. Клінічних спостережень, пов'язаних з летермовіром, не було.

Не спостерігалось жодних шкірних реакцій у самок шурів CRL:LE (Лонг-Еванс), яким протягом 3 днів вводили контрольний препарат або препарати летермовіру по 100 або 500 мг/кг/день, з одноразовим УФ-випроміненням приблизно через 4 години.

Дозозалежна середня втрата маси тіла спостерігалася у групах з летермовіром протягом періоду введення препарату (1-3 дні).

Біоаналітичні результати показали, що концентрація летермовіру була нижчою за граничну кількість у всіх контрольних шурів.

Летермовір можна було кількісно визначити у всіх зразках плазми шурів, яким вводили досліджуваний препарат.

Не було виявлено даних про вплив на очі, пов'язаних з летермовіром, що свідчили б про фототоксичність.

В очах не було виявлено гістоморфологічних змін, пов'язаних з летермовіром. Мікроскопічна оцінка шкірних ділянок не проводилась, оскільки побічних шкірних реакцій не спостерігалось.

На підставі цих результатів, триденне пероральне введення (через зонд) летермовіру по 100 та 500 мг/кг/день, що супроводжувалося одноразовим УФ-випроміненням приблизно через 4 години після остаточного введення, не призвело до шкірних реакцій або очних реакцій, що свідчили б про фототоксичність.

14-денне дослідження токсичності при пероральному введенні (через шлунковий зонд) на собаках породи Бігль (ТТ #05-7832)

Метою дослідження було визначити потенційну токсичність та токсикокінетичний профіль летермовіру після щоденного перорального введення собакам породи Бігль протягом 14 днів, а також створити базу для вибору дози для подальших досліджень. Собаки Бігль були розподілені на 4 групи з 1 самки та 1 самця, кожна з яких отримувала перорально (через зонд, 2,5 мл/кг) один раз на день 5, 15 або 45 мг/кг/день летермовіру у 0,5%-водному розчині Tylose® або лише носій.

Оцінка токсичності базувалася на смертності, клінічних ознаках, вазі тіла, споживанні їжі, біохімії печінки, електрокардіографічному обстеженні та обстеженні кров'яному тиску, а також клінічній та патолого-анатомічній оцінках.

Визначали концентрацію летермовіру в плазмі крові у групах, які отримували лікування.

Незапланованих смертей не було. Спостерігалось поодинокі швидкоплинне слиновиділення, пов'язане з досліджуваним препаратом, після введення препарату, при ≥ 15 мг/кг/день.

Вважалось, що ця випадкова зміна, яка не була пов'язана з будь-якими іншими попередніми змінами та не вплинула на загальний стан тварин, мала обмежене токсикологічне значення. Незначне підвищення параметрів ферментів печінки з тканини печінки (цитохром P450, N-деметилаза, O-деметилаза) при 45 мг/кг/день не вважалось токсикологічно значущим.

Не було змін, пов'язаних із досліджуваним препаратом, у

споживанні їжі чи вазі тіла, при електрокардіографічному обстеженні або обстеженні артеріального тиску, при клінічних або гематологічних обстеженнях.

При мікроскопічному дослідженні спостерігалася вища вакуолізація епітелію в жовчному міхурі у самця, якому вводили 45 мг/кг/день, порівняно з іншими собаками-самцями. При наявності лише однієї тварини/статі/доза невідомо, чи це ураження пов'язане із досліджуваним препаратом чи є просто індивідуальними варіаціями. Крім того, виходячи з мінімального ступеня тяжкості та відсутності некрозу чи запалення, ці дані мають обмежене токсикологічне значення. Жодна інша патологічна зміна не оцінювалась як пов'язана з лікуванням. Токсикокінетична оцінка зразків крові, відібраних у дні 0, 1 та 11, виявила AUC 32480 нг•год/мл у собак-самців та 13068 нг•год/мл у собак-самок при дозі 45 мг/кг/день. Значення C_{max} у собак-самців та самок при 45 мг/кг/день становили 15078 нг/мл та 4533 нг/мл, відповідно.

На закінчення, рівень NOEL становив 5 мг/кг/день. Хоча керівник дослідження встановив NOAEL на рівні 15 мг/кг/день, Спонсор вважає, що всі зміни, зазначені при високій дозі 45 мг/кг/день, не були несприятливими, і, отже, NOAEL становив ≥ 45 мг/кг/день (AUC 32480 нг•год/мл у самців та 13086 нг•год/мл у самок).

Оскільки експозиція летермовіру (AUC), досягнута в цьому дослідженні, була нижчою, ніж експозиція у пацієнтів із ТГСК, згодом різні препарати летермовіру, які потенційно могли б призвести до вищої експозиції у собак, досліджувались у дослідженні фармакокінетики/токсичності при пероральному застосуванні на собаках породи Бігль.

Дослідження фармакокінетики/токсичності при пероральному застосуванні одноразової дози на собаках породи Бігль (ТТ #05-7831)

Метою цього комбінованого дослідження фармакокінетики/токсичності було визначити ключові фармакокінетичні дані у різних носіях, потенційну токсичність летермовіру після одноразового перорального введення собакам породи Бігль, а також створити основу для вибору носія та дози для подальших досліджень.

Було проведено три експерименти на собаках з використанням ПЕГ 400, капсул або Tylose® + 0,5% Твін® 80 як носія.

Дослідженню були піддані самці та самки.

Оцінка токсичності базувалася на смертності та явних клінічних ознаках. Концентрацію летермовіру в плазмі крові визначали у кожної тварини.

Незапланованих смертей не було. У трьох дослідженнях на собаках токсикологічно значущої різниці клінічних ознак, що обумовлені одноразовим пероральним лікуванням летермовіром, з огляду на обраний носій не було. При всіх дозах відзначалася блювота, яка починалась через 15 хвилин після прийому летермовіру. Крім того, були м'які випорожнення (при 80 мг/кг), жовта рідина у слизі калу (150 мг/кг) або діарея/м'які випорожнення (при 250 мг/кг), що вказувало на певний ступінь порушення функцій шлунково-кишкового тракту.

	<p>Фармакокінетика виявила, що системна експозиція у собак не зростала із збільшенням рівня дози летермовіру. Найвищого системного впливу летермовіру з точки зору AUC, а також значень C_{max}, можна досягти за допомогою 80 мг/кг летермовіру, в рецептурі ПЕГ 400. Очевидної гендерної різниці не було. На закінчення було визначено три лікарські форми з різними дозами у собак. На підставі блювання та аномальних фекалій, що спостерігались після прийому одноразової дози кожної лікарської форми, та досягнутої низької експозиції летермовіру ($AUC_{0-24 \text{ год}}$ та C_{max}), порівняно з експозицією у пацієнтів з ТГСК, собаки не вважались відповідним видом для доклінічної оцінки безпеки летермовіру.</p>
<p>5. Висновки щодо доклінічного дослідження</p>	<p>Загалом фармакологічний профіль підтримує безпечне використання летермовіру для лікування профілактики ЦМВ у пацієнтів з трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин. Сукупність доклінічних досліджень на людях <i>in vitro</i> з летермовіром створила основу для розуміння механізму дії його розподілу та виведення в організмі людини <i>in vivo</i> та визначила потенціал лікарської взаємодії внаслідок дії метаболізуючих ферментів та транспортерів. Токсикологічний профіль підтримує безпечне застосування летермовіру в запропонованих клінічних дозах для профілактики ЦМВ-інфекції або захворювання у пацієнтів з трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин (480 мг один раз на день з коригуванням дози до 240 мг 1 раз на день при одночасному введенні з CsA) як пероральним, так і в/в способом введення. Примітно, що профіль безпеки летермовіру в доклінічних дослідженнях токсичності значно перевершує інші затверджені сполуки проти ЦМВ, такі як ганцикловір/валганцикловір та цидофовір.</p>

Представник Заявника (власника реєстраційного посвідчення)

Директор з реєстрації лікарських засобів
Маковей О.О.
 (П.І.Б.)

