

Letterhead of Applicant

TO WHOM IT MAY CONCERN

[Date]

SABRIL®, 500 mg granules for oral solution in sachets

We, applicant Sanofi-Aventis Ukraine LLC, Ukraine kindly ask you to take for expert evaluation the Report on nonclinical trials and the Report on clinical trials for drug product SABRIL®, 500 mg granules for oral solution in sachets, submitted for state registration according to the Order of the Ministry of Health of Ukraine of 26.08.2005 No 426 as amended by Order of the Ministry of Health of Ukraine of 23.07.2015 No 460.

Also, we TOV "Sanofi-Aventis Ukraine", Ukraine give you permission to publish the Report on nonclinical trials and the Report on clinical trials on the official site of the Ministry of Health of Ukraine.

Sincerely,

[Signature of Applicant's authorized person, stamp]

[Name, title]

РЕГУЛЯТОРНИХ
НИКОЛАЄВА

Non-Clinical Trial Reports

1. Name of the medicinal product (number of registration certificate, if available):	SABRIL [®] , 500 mg, granules for oral solution in sachets
1) type of the medicinal product, by which registration was conducted or planned	Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier), other medicinal product, new active substance
2) Trials conducted	<input checked="" type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no If not, substantiate
2. Pharmacology:	
1) primary pharmacodynamics	<p><i>GABA-T inhibitory effect</i></p> <p>The inhibitory effect of vigabatrin on GABA aminotransferase (GABA-T) <i>in vitro</i> was compared with the effects of other amino acid aminotransferases (AST and ALT), ornithine amino-transferase (OAT) and GABA-producing enzyme on glutamate decarboxylase (GAD). GABA-T, AST, ALT and GAD were partially purified from rat brain. Vigabatrin suppressed GABA-T activity in rat brain in a correlation with reaction time. Vigabatrin binds to GABA-T and produces irreversible inhibition. GAD and AST activities were unaffected by the action of vigabatrin 10 mmol/L for more than 40 minutes. ALT was slightly suppressed by 10 mmol/L of vigabatrin, but its reaction rate was about 1000-fold slower than that for GABA-T. For OAT, 10 mmol/L did not affect enzyme activity or glutamic acid production from ornithine. No effect at a concentration of 1-10 mmol/L for the purified GABA-T activity from <i>Pseudomonas fluorescens</i>, vigabatrin was shown to be highly selective for GABA-T in mammals.</p> <p><i>In vivo</i> biochemical properties of vigabatrin have been investigated in the CNS. At a dose 1500 mg/kg vigabatrin decreases GABA-T activity in the brain by 80 % during 48 hours and 40 % during 6 days. The GAD activity decreases by 25 % after 48 hours and return to normal on 6th day. The action of vigabatrin on various parts of the brain was investigated. A single intraperitoneal administration of 1500 mg/kg of vigabatrin was performed on rats, and the brain was removed 6 hours after administration and divided into 10 sites to measure GABA concentration, GABA-T activity and GAD activity (n = 5/group). In all cases there was a little effect on GAD, whereas the inhibition of GABA-T reaches 60 to 80 %, and the GABA levels are multiplied by 2.5 in the medulla and 8.2 in the hippocampus.</p> <p>Biochemical and toxicological effects of 10 daily IP doses of vigabatrin, ranging from 10 to 1250 mg/kg/day were studied in male CD1 mice (10 to 15/group). All doses of vigabatrin decrease whole brain GABA-T and GAD activities and increase brain GABA concentrations at 24 hours after the 10th dose. Maximum GABA-T inhibition (doses ≥ 400 mg/kg/day) represent approximately 10 % control activity; maximum GAD inhibition</p>

(doses \geq 400 mg/kg/day) represent 55-60 % of control activity. Brain GABA concentrations (as a function of dose) rise steeply between 100 and 750 mg/kg/day reaching a maximum of close to 400 % control values at a dose of 750 mg/kg/day.

Vigabatrin 100 and 500 mg/kg were repeatedly intraperitoneally administered to Swiss Albino CD mice ($n = 5$ /group) for 1, 2, 4, 6, 8, 10 or 12 days, and the brain was removed 24 hours after each administration. GABA-T activity, GAD activity and GABA concentration were measured. The decrease in GABA-T in the brain became steady after 4 days of administration, and GABA-T decreased to about 40% and 20% of the control group at 100 and 500 mg/kg/day, respectively. Brain GABA concentration is correlated with a decrease in GABA-T activity: after the fourth injection a steady state has been reached. This steady state represents approximately 2-fold of the control values at 100 mg/kg/day, and 4-fold at 500 mg/kg/day. GAD activity was reduced to 72% and 60% of the control group at 100 and 500 mg/kg/day, respectively.

Effect on GABA uptake and release

GABA release test: In an *in vitro* test, cerebral cortical synaptosomes of Sprague-Dawley (SD) female rats were prepared. Synaptosomes were incubated for 20 minutes in presence of 10 μ mol/L [U - 14 C]-GABA and then resuspended in a phosphate medium. These suspensions were incubated for 30 minutes before tetrodotoxin (TTX; 1.0 μ mol/L), γ -acetylenic GABA (0.5-5 mM), or vigabatrin (0.25-5 mM) were added. In the *in vivo* test, rats were intraperitoneally administered with saline or vigabatrin 1000 mg/kg, and cerebral cortical synaptosomes were prepared 14 hours later. Amino acids (aspartic acid, threonine, serine, glutamine, glutamic acid, glycine, alanine, GABA) were measured after incubating the synaptosome suspension with TTX (1 μ mol/L) or veratrin (75 μ mol/L) for 10 minutes. Vigabatrin (concentration range 0.25-5 mM) increased the release of preloaded [U - 14 C]-GABA from rat cerebral cortex synaptosomes in a concentration-dependent manner by 22-95%. The effect of vigabatrin was suppressed by TTX and blocked by verapamil. When animals were pretreated with vigabatrin for 14 hours, the release of GABA from synaptosomes was increased. The GABA content of the tissue was also greatly increased. There was no change in other amino acids.

GABA uptake test: After incubation of the synaptosome suspension in the presence or absence of vigabatrin or TTX (1 μ mol/L) for 5 minutes, [U - 14 C]-GABA (final concentration 1 μ mol/L) was added, and incubated for an additional 2 or 5 minutes. Vigabatrin inhibited uptake of [U - 14 C]-GABA by 52% at 5 mM. TTX suppressed the GABA uptake inhibitory effect of vigabatrin.

Effects of vigabatrin on epilepsy animal models

Researchers investigated the effect of vigabatrin on audiogenic primary attacks in genetically sound-sensitive DBA/2 mice. DBA/2 male and female mice ($n = 10$ to 13/group) aged 15 to 23 days were used for the hearing primary attack test, and CD-1 male mice were used for the

biochemical test. Vigabatrin was administered intraperitoneally once, 3 times every 24 hours or 5 times every 12 hours, and 4 hours after the final administration, a sound of 20 KHz and 101 db intensity was generated for 30 seconds to induce an auditory primary attack. Vigabatrin showed a time- and dose-dependent inhibitory effect on auditory primary attacks in DBA/2 mice. The ED₅₀ (50% effective dose) for seizure frequency and seizure intensity attenuation 4 hours after a single intraperitoneal administration was 990 and 540 mg/kg, respectively. The effect on seizure frequency and intensity was significantly enhanced by repeated doses of vigabatrin, with ED₅₀ of 280 and 146 mg/kg/day given 3 times at 24-hour intervals and 5 times at 12-hour intervals, respectively. When 1500 mg/kg of vigabatrin was administered, seizures were almost completely suppressed 4 hours after administration, and 56 % was suppressed even after 72 hours. The duration of the seizure corresponds with an increase in brain GABA levels, significant correlation between brain GABA concentration and seizure frequency was observed.

Drug-induced seizure model

Six-week-old male CD-1 mice (n = 10/group) were orally administered distilled water (medium) or vigabatrin 500, 1000 and 1500 mg/kg. Four hours after administration, the convulsive agents Pentylenetetrazol (PTZ) (100 mg/kg), Mercaptopropionic acid (MPA) (40 mg/kg) or Picrotoxin (PTX) (4.0 mg/kg) were intraperitoneally administered. PTZ-induced convulsions were observed in most animals in the control group, with both clonic and tonic seizures observed. 7 of 10 cases resulted in death. Vigabatrin reduced the incidence of tonic convulsions but did not change other observations. In MPA-induced convulsions, vigabatrin did not affect the development of spasms, but reduced the development of clonic convulsions. In PTX- induced seizures, vigabatrin suppressed the development of spasms and clonic convulsions.

High pressure oxygen-induced seizure model

Male Swiss Albino mice (n = 10 to 20/group) were fasted for 18 hours, and a single intramuscular administration of vigabatrin 800 mg/kg was performed. Mice were placed in the chamber 4 hours or 24 hours after administration, the air pressure was raised to 5.44 atm, and the time until the appearance of a generalized seizure was measured. Vigabatrin suppressed seizures by 90% 4 hours after administration. This effect disappeared after 24 hours.

Spontaneous epilepsy rat (SER) model

12-16-weeks old SER (n = 4-8) underwent electrode embedding in the cerebral cortex and hippocampus. Stimulation was applied upon subject breath every 5 minutes, and animals that experienced 4 or more tonic seizures within 30 minutes were used in the experiment. After single dose of vigabatrin 50, 100 or 250 mg/kg, seizures were counted upon breath-timed stimulation at 15 minutes, 1, 2, 3, 4 and 5 hours, and 1, 2, 3, 4 days after administration. For absence seizures, a spike-and-wave complex of 5 to 7 Hz lasting 1.5 seconds or longer was identified from the EEG chart, and the number for 30 minutes was measured. Bicuculline 1 mg/kg was

intraperitoneally administered 4 hours after vigabatrin administration, and the number of tonic convulsive seizures caused by breathing stimulation was measured 5 hours later to examine the antagonistic effect. Vigabatrin significantly suppressed tonic convulsions 2 hours after administration at 250 mg/kg, and this effect was maximized after 1 day and lasted for about 3 days. Absence seizure was significantly suppressed at 100 mg/kg from 2 hours after administration, but the effect disappeared 1 day after administration. The seizure-suppressing effect of vigabatrin was antagonized by bicuculline. When vigabatrin 200 mg/kg/day was repeatedly administered for 5 days, significant suppression of tonic convulsive seizures was observed after 2 days and until 2 days following the final administration.

Pharmacological activity of enantiomer

Since vigabatrin is a racemate, the pharmacological activities of R-enantiomer (hereinafter R-form) and S-enantiomer (hereinafter S-form) were investigated.

GABA-T inhibitory activity

In the *in vitro* test, GABA-T was purified from porcine brain and the enzyme activity was measured. In an *in vivo* study, Swiss albino mice (n = 5/group) were intraperitoneally administered with saline (medium), 1500 mg/kg of vigabatrin (racemic), and 750 mg/kg of R- or S-form. Intracerebral GABA-T activity, GAD activity and intracerebral GABA concentration were measured 5 days after administration.

For GABA-T activity, 1 mmol/L of racemate and 0.5 mmol/L of S-form decreased enzyme activity in the same time course. The R-form showed a weak inhibitory effect at 5 and 10 mmol/L. In mice, a single intraperitoneal administration of 1500 mg/kg of vigabatrin (racemic) and 750 mg/kg of S-form reduced GABA-T and GAD activity in the brain to the same extent and increased GABA concentration. On the other hand, at 750 mg/kg of R-form, a transient weak suppression of GABA-T activity was observed, but almost no effect was observed on GAD activity and GABA concentration.

Antiepileptic effect

Bicuculline-induced convulsions

Bicuculline (0.55 mg/kg) was intravenously administered to CD-1 female mice (n = 10-20/group) once, and the presence or absence of convulsions was observed for 2 minutes after the administration. Vigabatrin (racemic) 100, 150, 200, 250, 300 mg/kg, S-form 25, 50, 75, 100, 125 mg/kg, R-form 1000 mg/kg was administered intraperitoneally 5 hours before bicuculline administration. The control group was intraperitoneally administered with saline. Vigabatrin (racemic) and S-form suppressed bicuculline-induced convulsions, with ED₅₀ of 221 mg/kg and 85 mg/kg, respectively. The R-form showed no anticonvulsant effect at 1000 mg/kg.

Mercaptopropionic acid-induced seizure model

Saline, vigabatrin (racemic) (100, 125, 150, 200, 250 and 300 mg/kg) or S-form (25, 50, 75, 100 and 125 mg/kg) was administered as a single

	<p>intraperitoneal dose in CD-1 male mice (n = 10/group). Five hours later, 40 mg/kg of 3-mercaptopropionic acid was intraperitoneally administered, and clonic convulsions, tonic convulsions, or death were observed for 30 minutes. Vigabatrin (racemic) and S-form suppressed convulsions in a dose-dependent manner with ED₅₀ 200 and 100 mg/kg, respectively.</p>
2) secondary pharmacodynamics	<p><u>Effect on mouse pain sensation (pressure stimulation method)</u> 5-week male CD-1 mice (n = 10/group) were used after fasting for about 17 hours. Distilled water (medium) or vigabatrin 125, 500 and 2000 mg/kg was orally administered once, and the pain threshold of the ridge was measured at 8 time points 60 to 480 minutes after the administration. Vigabatrin at 2000 mg/kg significantly increased the pain threshold 180 to 480 minutes after administration compared with the distilled water group.</p> <p><u>Effect on spontaneous EEG</u> JW male rabbits (n = 4/group) 10 to 11 weeks old were anesthetized by intraperitoneal administration of pentobarbital, and electrodes for electroencephalogram and electromyography measurements were implanted. Rabbits were fasted for at least 19 hours and orally administered with water for injection (medium, n = 12) or vigabatrin 125, 500 and 2000 mg/kg (n = 4/group). EEG was performed during one of four stages of arousal: wakefulness, resting wakefulness, spindle wave sleep, or paradoxical sleep, for 30 seconds to create a sleep-wake cycle figure. Then, the proportion (%) of time spent in each stage during an 8-hour period was calculated. Vigabatrin showed behavioral sedation at 500 mg/kg, with decreased wakefulness and increased spindle sleep on EEG. At 2000 mg/kg, behavioral sedation was observed, and EEG showed a decrease in wakefulness, an increase in resting wakefulness or light sleep, and a decrease in paradoxical sleep.</p> <p><u>Effect on spinal reflex</u> SD male rats (n = 5 to 6/group) were used. The dorsal root of the 5th lumbar spinal cord was cut under anesthesia, and the central side of the dorsal root was electrically stimulated with a square wave of 0.2 Hz, 0.1 msec, 0.26 to 1.56 V, and the ventral root on the same side. The spinal reflex potential was then recorded. Saline or vigabatrin 100, 200 and 400 mg/kg was administered intrafemorally. Vigabatrin did not affect monosynaptic and multisynaptic reflex potentials.</p> <p><u>Dyskinesia-like action</u> Vigabatrin was found to induce abnormal involuntary movements, "dyskinesia", when injected unilaterally in the striatum of rats. Therefore, it was suggested that vigabatrin may have two contradictory effects on the GABA-ergic system: an increase in brain GABA concentration due to inhibition of GABA-T activity and an antagonistic effect on GABA receptors at high doses.</p> <p>Effects on the autonomic and somatic nervous system 1) Effect on rat pupil diameter</p>

	<p>Male SD rats were orally administered 300 mg/kg of distilled water or vigabatrin and illuminate 108 lux or 431 lux 30 minutes, 1, 2, 3 and 4 hours later. The pupil diameter was measured. As a control, atropine 1.0 mg/kg was orally administered. Atropine significantly increased pupil diameter compared to distilled water, but vigabatrin had no effect.</p> <p>2) Effect on neuromuscular junction</p> <p>In anesthetized male SD rats (n = 5 to 6/group) nerve muscle specimens were prepared, and then physiological saline or vigabatrin 50, 100, 200 and 400 mg/kg were administered via a cannula at the left femoral vein. The effect of electrical stimulation of the sciatic nerve on the contractile movement of the gastrocnemius muscle was investigated. Vigabatrin did not affect the muscle contraction movements of neuromuscular specimens.</p> <p>3) Muscle relaxation</p> <p>Straub raising reaction and rotarod test were performed using CD-1 male mice (n = 10/group). Distilled water (medium) or vigabatrin 200, 400, 800 and 1600 mg/kg was intraperitoneally administered, 60 mg/kg of morphine sulfate was subcutaneously administered 1 to 60 hours later, and the tail-raising reaction was evaluated after 15 minutes. Furthermore, to evaluate the tail raising reaction medium and vigabatrin 50, 100 and 200 mg/kg twice daily after 16 hours of the last dose was administered for 3 days, or 3 days half dose (7 doses) were last dose 4 hours after. Vigabatrin was administered to mice on the same administration schedule as in the tail reaction test. Then, a rotarod test was conducted. Vigabatrin dose-dependently suppressed the tail-raising reaction induced by subcutaneous administration of morphine sulfate 60 mg/kg. In addition, a decrease in motility was also observed in the rotarod test. The effect was strongest 4 hours after vigabatrin administration (ED₅₀: tail-raising reaction 813 mg/kg, rotarod test 674 mg/kg), attenuated 16 hours later, and disappeared after 24 hours. On the other hand, in studies in which vigabatrin was administered multiple times, little or no effect was observed.</p>
3) safety pharmacology	<p><i>Effects on general symptoms and behavior of rats</i></p> <p>In 6-week-old SD male rats (n = 5/group) fasted for 18 hours distilled water (medium) or vigabatrin 125, 250, 500, 1000 and 2000 mg/kg was administered orally. After 8 hours general symptoms were observed by the Irwin method. Surviving animals were euthanized and necropsied one week later.</p> <p>Vigabatrin 250 and 500 mg/kg: lacrimation in 1/5 cases, 1000 mg/kg: lacrimation in 3/5 cases, hypersalivation 2/5 cases, 2000 mg/kg: lacrimation and hypersalivation in 3/5 cases. At 2000 mg/kg, a significant decrease in body temperature was observed 2 to 6 hours, and at 1000 and 2000 mg/kg, a significant decrease in respiratory rate was observed. At 2000 mg/kg, suppression of eye protrusion, decreased alertness, and naps were observed. Weight gain suppression was observed at 500 mg/kg and above. Enlargement of the spleen with 125 mg/kg in the autopsy one week</p>

after administration, partial adhesion between the duodenum or jejunum and colon in 1000 mg/kg, atrophy of the thymus was observed in one example at 2000 mg/kg.

Effects on the central nervous system (Report 97-LPH-005)

1) Effect on locomotor activity

5-week-old male CD-1 mice (n = 10/group) were orally administered with water for injection (medium) or vigabatrin 31, 125, 500 and 2000 mg/kg. The amount of exercise was measured 8 times for each 15 minutes from 45 minutes to 480 minutes after administration. A decrease in locomotor activity was observed at 125 mg/kg or more of vigabatrin.

2) Sleep-enhancing effect

In 5-week-old male CD-1 mice (n = 10/group) water for injection (medium) or vigabatrin 125, 500 and 2000 mg/kg was orally administered. Subsequently, after 240 minutes, 70 mg/kg of hexobarbital was intraperitoneally administered, and the time until the recurrence of the forward reflex (sleep time) was measured. The sleep time of the control group was 32 ± 3.9 minutes, while that of vigabatrin 500 and 2000 mg/kg was 68 ± 8.6 minutes and 89 ± 7.1 minutes, respectively, showing a significant increase.

3) Effect on normal body temperature

7-week-old SD male rats (n = 8/group) were orally administered with water for injection (medium) or vigabatrin 125, 500 and 2000 mg/kg. Rectal temperature was measured 8 times (60 minute intervals) 60 to 480 minutes after administration. Vigabatrin 500 and 2000 mg/kg showed significant reductions of body temperature up to 2.3 °C and 3.3 °C, respectively.

4) Impact on coordination

In 5-week-old male CD-1 mice (n = 10/group) water for injection (medium) or vigabatrin 125, 500 and 2000 mg/kg was orally administered. The residence time on the rotor rod (rotation speed: 16 rpm) was measured 8 times for 60 to 480 minutes after administration. Vigabatrin 2000 mg/kg resulted in decreased coordination in 2/10 subjects.

Effect on phencyclidine-induced hyperactivity

Phencyclidine (PCP)-induced hyperactivity was measured using CD-1 male mice (n = 6 to 24/group). Intraperitoneal injection of PCP (5 mg/kg) or physiological saline was performed 10 minutes after intraperitoneal administration of vigabatrin 400 mg/kg or 5 hours after intraperitoneal administration of vigabatrin 100, 200, 400, 600, 700 and 800 mg/kg, and the amount of exercise was measured for 35 minutes. When vigabatrin 400 mg/kg was administered 10 minutes before PCP injection, there was no effect on the amount of exercise, but when administered vigabatrin 200-700 mg/kg 5 hours prior to PCP administration, treatment significantly inhibited phencyclidine-induced hyperactivity.

Effects on cardiovascular and respiratory systems

1) Effect on hERG potassium channel

Study was conducted to analyze the *in vitro* effects of vigabatrin on hERG channels expressed in HEK293 cells using the patch clamp technique. Vigabatrin was exposed to three cells ($n = 3$) at nominal concentrations of 100 and 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ at physiological temperature ($35 \pm 2^\circ\text{C}$). Vigabatrin at concentrations up to approximately 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ did not produce significant inhibition of hERG currents (0.4% to 0.8% inhibition), which was not different ($P > 0.05$) from control $0.1 \pm 0.4\%$ inhibition; $n = 3$.

2) Effect on cardiac Purkinje fiber action potential

The *in vitro* effects of vigabatrin on action potentials (AP) from a set of four isolated rabbit cardiac Purkinje fibers ($n = 4$) were evaluated at nominal concentrations ranging from 10 to 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Vigabatrin up to a concentration of 243 $\mu\text{g}/\text{mL}$ did not alter any measured action potential parameters in a statistically significant manner.

3) Effect on hemodynamic parameters

Vigabatrin was evaluated for cardiovascular effects following intravenous administration (3-30 mg/kg) and oral administration (150 mg/kg/dose every 12 hours for 5 days). Vigabatrin produced no significant effect on blood pressure, heart rate, intraventricular pressure, dP/dT, cardiac output, calculated peripheral vascular resistance, left and right atrial pressures, or on electrocardiographic function in Mongrel dogs of either sex.

Vigabatrin given intravenously as cumulative doses in the dog (10, 30, 70, and 150 mg/kg) did not alter cardiovascular parameters. In contrast, in the rat, vigabatrin had a slight hypertensive effect at 50 mg/kg, which did not increase further on injection of the consecutive doses.

The effects of vigabatrin on blood pressure, heart rate, femoral arterial blood flow and respiratory rate were investigated in male beagle dogs under pentobarbital sodium anesthesia. Physiological saline (1 mL/kg) was administered intravenously into the right femoral vein via a cannula, and 50 minutes later vigabatrin 50, 100 and 200 mg/kg were administered sequentially at 50-minute intervals ($n = 4$). In studies with GABA antagonists, vigabatrin 100 mg/kg was intravenously administered 10 minutes after intravenous administration of 5-aminovaleric acid (10 mg/kg). In this test, respiratory volume (minute ventilation) was also measured ($n = 3$).

Intravenous administration of vigabatrin 50, 100, and 200 mg/kg showed a transient decrease in blood pressure in 2 of 4 subjects, but the mean value was not significant. There was minimal effect on heart rate. Vigabatrin increased femoral arterial blood flow at 50, 100 and 200 mg/kg in a dose-dependent manner, with increases of 81 ± 28 , 125 ± 38 and $143 \pm 44\%$ 1 minute after administration, respectively. Femoral artery vascular resistance decreased in response to changes in blood flow. Vigabatrin increased respiratory rate by 41 ± 13 , 106 ± 46 and $143 \pm 59\%$ 1 minute after administration of 50, 100 and 200 mg/kg, respectively. Increased femoral arterial blood flow, increased respiratory rate and

minute ventilation, and decreased vascular resistance with vigabatrin 100 mg/kg were suppressed by the 5-aminovaleic acid.

Effects on gastrointestinal transport

5-week-old male CD-1 mice (n = 8/group) were orally administered with distilled water (medium) or vigabatrin 500, 1000 and 2000 mg/kg. Thirty minutes later, 10 mL/kg of 5% activated carbon powder suspended in 0.5% carboxymethyl cellulose solution was orally administered, and euthanasia was performed 30 minutes later. Vigabatrin did not affect the gastrointestinal transport capacity of mice.

Effects on water and electrolyte metabolism

1) Effect on urine volume and electrolyte excretion in rats

7-week-old male SD rats (n = 8/group) were orally administered with water for injection (medium) or vigabatrin 125, 250, 500 and 2000 mg/kg in a volume of 10 mL/kg. Immediately after, 25 mL/kg water injection was administered. After that, urine was collected for 8 hours, and urine volume, pH and urine electrolyte concentration (Na⁺, K⁺, Cl⁻) were measured. Vigabatrin 2000 mg/kg increased urine output and excretion of Na⁺, K⁺ and Cl⁻.

6-week-old male SD rats (n = 9/group) were orally administered saline (medium) or vigabatrin 125, 250, 500 and 1000 mg/kg in a volume of 30 mL/kg. Then, urine was collected up to 2 hours after administration, 2 to 6 hours after administration and 6 to 24 hours after administration, and the urine volume, pH and urinary electrolyte concentration (Na⁺, K⁺, Cl⁻) were measured. Vigabatrin 500 and 1000 mg/kg increased urine output and excretion of Na⁺, K⁺ and Cl⁻ 2 hours after administration. No effect was observed on urine volume and each electrolyte mass 2 to 6 hours after administration, except the K⁺ excretion was increased at 1000 mg/kg. At 6 to 24 hours after administration, a decrease in electrolyte mass was observed at 500 and 1000 mg/kg, and a decrease in urine volume was observed at 1000 mg/kg.

3) Effect on serum electrolyte concentration in rats

6-week-old male SD rats (n = 8-10/group) were orally administered saline (medium) or vigabatrin 250, 500 and 1000 mg/kg. Blood was collected 1 and 4 hours after administration, and the Na⁺, K⁺ and Cl⁻ concentrations in the serum were measured. Serum Na⁺ concentration increased 1 hour after administration at doses of 500 and 1000 mg/kg, and serum Na⁺ concentration increased and Cl⁻ concentration decreased at 1000 mg/kg 4 hours later.

Effect on the hypothalamo-pituitary adrenal axis

Male rats were studied following either chronic treatment with sodium valproate (1g/l for a period of 3 weeks or 3 months) or acute treatment with vigabatrin (single IP injection of 1 g/kg or 250 mg/kg). The hypothalamus was homogenized to measure corticotropin releasing factor (CRF) and amino acid levels. The pituitary gland was incubated in Krebs solution, CRF (21.4 nmol/L) or arginine vasopressin (AVP) (115 nmol/L) was added, and the amount of free ACTH was measured. Administration of vigabatrin 250 and 1000 mg/kg significantly increased the GABA

	concentration in the hypothalamus, administration of 1000 mg/kg reduced CRF by about 50%, and suppressed increased plasma ACTH. Vigabatrin 1000 mg/kg suppressed pituitary basal and ACTH release stimulated by CRF or AVP.
4) pharmacodynamic interactions	No pharmacodynamic drug interaction studies have been conducted.
3. Pharmacokinetics:	
1) analytical procedures and reports on their validation	<p>An HPLC method for quantitative measurement of vigabatrin in plasma and urine – Report C-83-0002-D.</p> <p>LC-MS/MS determination of vigabatrin in rat plasma – Report DMPK/FRA/2002-0106.</p> <p>Gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) method using a chiral column for measuring rat plasma, CSF and brain S- and R-form concentrations – Report S-92-0036-D.</p>
2) absorption	<p>When ^{14}C-vigabatrin was orally administered to rats at 300 mg/kg, the plasma concentrations of both total radioactivity and unchanged drug reached the maximum (C_{max}) 0.5 hours after administration, after which the two concentrations were almost the same.</p> <p>When ^{14}C-vigabatrin was orally administered to dogs at 50 mg/kg, the unchanged form reached C_{max} (88 to 123 $\mu\text{g/ml}$) after 0.25 to 1 hour. When 300 mg/kg was orally administered, the unchanged drug reached C_{max} (405 to 531 $\mu\text{g/ml}$) 0.5 to 1 hour after administration. The maximum total radioactivity concentration was similar, and was almost the same as the unchanged drug concentration 3 hours after oral administration. Within 12 hours of oral or intravenous administration, the unchanged plasma concentration decreased to about 1/200.</p> <p>When ^{14}C-vigabatrin 50 mg/kg was administered orally in monkey, vigabatrin was unchanged after 2-3 hours, reaching C_{max} (8-27 $\mu\text{g/ml}$). When 300 mg/kg was orally administered, the unchanged drug reached C_{max} (37 to 43 $\mu\text{g/ml}$) 1 to 3 hours after administration. Total radioactivity change is the same as unchanged drug concentration reached a maximum concentration after oral administration or intravenous administration at 2-3 hours.</p> <p>Absorption of orally administered vigabatrin in rats and dogs was almost complete at both doses of 50 mg/kg and 300 mg/kg. Urinary recovery data in monkeys showed that the absorption of vigabatrin after oral administration in this species was incomplete and dose-dependent (absorption rates were low at high doses). Furthermore, the fecal radioactivity excretion rate when ^{14}C-vigabatrin was administered to monkeys confirmed that the absorption of vigabatrin was incomplete when orally administered to this animal species.</p> <p>It was clarified that vigabatrin was rapidly absorbed with t_{max} within 1 hour in both rats and dogs. The $\text{AUC}_{0-\infty}$ value in both animal species increased proportionally to the dose. In rats and dogs, the bioavailability of oral vigabatrin was almost 100%.</p>

	<p>The t_{max} (1 to 3 hours) of a single oral dose of vigabatrin to monkeys was longer than that of rats and dogs, and the C_{max} was lower than that of the other two animal species examined. In the test using monkey, AUC_{0-24hr} value for single oral administration of vigabatrin at doses of 50 and 260 mg/kg was estimated to be 54.6 ± 14.5 and $203 \pm 66 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, respectively, and the AUC_{0-24hr} value increased in a dose-dependent manner.</p>
3) distribution	<p><i>Distribution within tissues</i></p> <p><u>Tissue distribution of ^{14}C-vigabatrin orally administered to rats</u></p> <p>Albino Sprague-Dawley (SD) rats and colored Long-Evans (LE) rats were treated with a single dose of ^{14}C-vigabatrin 60 mg/kg. In most of the tissues examined (including plasma and erythrocytes), the radioactivity concentration reached a maximum within 0.5 hours after administration. The tissue with the longest t_{max} was the eye, which reached C_{max} 1 hour after administration.</p> <p>The tissue with the highest radioactivity concentration was the stomach (15 minutes after administration: $1022 \mu\text{g eq/g}$, excluding stomach content), followed by the liver (30 minutes after administration: $257 \mu\text{g eq/g}$) and the small intestine (30 minutes after administration: $154 \mu\text{g eq/g}$, excluding stomach content). The C_{max} of all other tissues was less than $100 \mu\text{g eq/g}$.</p> <p>In addition, ^{14}C-vigabatrin was orally administered to LE rats at a single dose of 60 mg/kg, and the radioactivity concentrations in plasma, skin and eyes were measured. The $AUC_{0-\infty}$ and terminal elimination half-life $t_{1/2z}$ values of eyes and skin were clearly higher in LE rats than in SD rats. These results indicate that ^{14}C-vigabatrin or metabolites have an affinity for the pigment components of the eye or skin and are slowly absent from pigmented tissues.</p> <p><i>Concentration in brain and plasma</i></p> <p>^3H-vigabatrin was administered to rats orally at a dose of 50 or 300 mg/kg once daily for a week to measure brain and plasma concentration. Vigabatrin into the brain was considered to have reached steady state by the third dose. Steady-state intracerebral trough concentrations of vigabatrin range from 0.8 to 1.2 nmol/g at 50 mg/kg and 16 to 19 nmol/g at 300 mg/kg. C_{max} was dose-proportional.</p> <p>The plasma and brain concentrations of S- and R-forms after repeated oral administration of racemic ^3H-vigabatrin in rats were also measured. Plasma concentrations of these two enantiomers were approximately equal at all time points. However, regarding brain concentration, the S-type concentration, which is the active enantiomer, tended to be higher than the R-type concentration, which is the inactive enantiomer.</p> <p><i>Intraretinal distribution</i></p> <p>Vigabatrin concentration in the retina was measured during a toxicology study in rats orally administered vigabatrin 100, 300 mg/kg for 13 weeks. Vigabatrin levels in the retina were largely dose-dependent and were less than 1/5 of the mean plasma C_{max} at the time of measurement.</p>

	<p><i>Vigabatrin concentration in CSF</i></p> <p>Vigabatrin was given to rats and dogs at doses of 50, 100, 200 (dog) or 300 (rat) mg/kg once daily for 16 week, and vigabatrin concentration in CSF was measured. In both rats and dogs, the vigabatrin concentration in CSF reached a steady state within 2 weeks. The concentration of vigabatrin in CSF in dogs was higher than that in rats.</p> <p><i>Vigabatrin concentration in CNS</i></p> <p>In a chronic toxicity study in monkeys, vigabatrin was orally administered at doses of 50, 100 or 300 mg/kg/day. The administration period was 6 years in the 50 or 100 mg/kg/day administration group and 16 months in the 300 mg/kg/day administration group. Vigabatrin levels in CSF increased with increasing dose in both males and females. The concentration of vigabatrin in CSF in the two low-dose groups was higher in females than in males, but in the high-dose group, levels did not differ greatly between gender.</p> <p>In another study, vigabatrin concentrations in CSF and in the cerebral cortex of monkeys treated with vigabatrin at 300 mg/kg for 16 months were measured. Vigabatrin concentration range in CSF in monkeys was 10.20 to 17.31 nmol/mL (mean \pm SD: 13.17 \pm 3.06 nmol/mL), and vigabatrin concentration range in cerebral cortex was 2.4 to 7.2 nmol/g (mean \pm SD: 4.2 \pm 1.9 nmol/g).</p> <p><i>Protein binding</i></p> <p>The protein binding rate of vigabatrin in human serum was measured <i>in vitro</i> using equilibrium dialysis. No binding to serum proteins was observed at any of the drug concentrations examined (20 and 100 μmol/L).</p> <p>In addition, the <i>in vivo</i> protein binding of vigabatrin in serum when vigabatrin was administered to SD rats was not observed in the examined concentration range (13 to 1378 μmol/L) up to 8 hours after administration.</p> <p><i>Placental transit</i></p> <p>The placental passage of vigabatrin in Theiler outbred (TO) mice was studied. A single intraperitoneal dose of 400 mg/kg vigabatrin dissolved in saline was given to mice on day 10 of gestation to determine the levels of vigabatrin in maternal blood, fetus and placenta 3.5, 6 and 9 hours after administration. Vigabatrin transfer to the fetus was slight, but placental vigabatrin levels were higher than fetal levels. 6 and 9 hours after administration, values could not be measured given overlap with the peaks of other substances.</p>
4) metabolism	<p>After a single dose of 14C-vigabatrin 50 or 300 mg/kg administered to rats, dogs and monkeys, the urinary excretion rate of radioactivity and unchanged drug collected by 48 hours were compared. In all study groups, most of the administered radioactivity was excreted in the urine as unchanged drug. Thus, it was shown that the metabolism of vigabatrin was extremely low in all animal species examined.</p>

	<p>The urinary biotransformation profile was evaluated using radiochromatography. Small amounts of one or two metabolites were detected in rats, dogs and monkeys. Metabolite 1 has not been identified. Metabolite 2 found in dogs and humans has been identified as vigabatrin lactam (5-vinyl-2-pyrrolidinone) and is a degradation product produced in aqueous solution.</p>
5) excretion	<p>When ¹⁴C-vigabatrin was administered orally and intravenously to rats, collected urine, feces, and cage wash fluid showed 91 to 93% and 94 to 96% of start dose radiation, respectively, from 0 to 120 hours.</p> <p>In addition, when ¹⁴C-vigabatrin was orally administered to rats, an average of 94% of the administered radioactivity was excreted in the urine and 2% was excreted in the feces in the first 24 hours after the administration. By the end of the 72-hour sampling period, a total of 97% of the administered radioactivity had been excreted.</p> <p>When ¹⁴C-vigabatrin was administered orally and intravenously to dogs, collected urine, feces, and cage wash fluid showed 91 to 93% of start dose radiation at 120 hours. Most of the dose was excreted in the urine within 12 hours.</p> <p>When ¹⁴C-vigabatrin was orally and intravenously administered to monkeys, a total of 90 to 95% of the administered radioactivity was recovered in urine and feces 120 hours after the administration. When administered intravenously, most of the radioactivity was recovered in the urine. When 50 mg/kg and 300 mg/kg were orally administered, about 40% and 23 % of radioactivity was recovered in urine and about 50 and 70% of radioactivity was recovered in feces, respectively. Vigabatrin was mainly excreted by the kidney in an unchanged form. Cumulative urinary excretion rate of unchanged drug by 72 hours ranged from 82 to 90% for intravenous administration, and ranged from 15-29% for oral administration.</p>
6) pharmacokinetic interactions (non-clinical)	<p>The influence of vigabatrin on activities of the hepatic cytochrome P-450 dependent drug-metabolizing enzymes of male CD rats was studied. Vigabatrin was administered orally in dose of 30, 100 or 300 mg/kg/day for 4 days; all tests were done after the last dose. Cytochrome P-450, ethylmorphine N-demethylation activity, aniline hydroxylation activity, microsomal protein amount, and relative liver weight were measured. This test was repeated 3 times. In the experiment I, hepatic P-450 was reduced slightly to a range of 72.4 to 81.0% of control at all dosing groups. At the highest dose (300 mg/kg/day), ethylmorphine N-demethylation activity and aniline hydroxylation activity were reduced to 64.0% and 71.9% of control values, respectively. In the experiment II, the relative liver weight was reduced to 90.2% of control values at 300 mg/kg/day, and aniline hydroxylation increased by 124.8 % and 142.5% from control at 100 and 300 mg/kg/day, respectively. In the experiment III, a similar decrease in relative liver weight was observed, but aniline hydroxylation activity was decreased by 77.2% and 73.2% of the control values in both the 100 and 300 mg/kg/day groups,</p>

	<p>respectively. Furthermore, the cytochrome P-450 concentration was lower than control value in both the 100 mg/kg/day group (83.3%) and the 300 mg/kg/day group (85.6%).</p> <p>In addition, a single oral dose of vigabatrin of 30 and 100 mg/kg was given, and the effect on the amount of cytochrome P450 drug-metabolizing enzymes and microsome protein 4 hours after administration was evaluated. In this study, there was no difference from the control group. These results suggest that vigabatrin has minimal ability to induce hepatic drug-metabolizing enzymes.</p>
7) other pharmacokinetic studies	<p>The plasma levels of vigabatrin were evaluated in 4-week oral ocular toxicity study in Sprague Dawley juvenile rats. Sprague Dawley juvenile rats (4-day old at treatment initiation) received once daily by oral gavage injection-quality water (vehicle control group) from dosing Day 1 to dosing Day 28, or of vigabatrin at 30 mg/kg/day from dosing Day 1 to dosing Day 10, and then at 30, 50 or 100 mg/kg/day from dosing Day 11 to dosing Day 28. Blood samples for the determination of plasma concentrations of test article were obtained from 3 juvenile rats/sex/group/time point (1, 2 and 4 hours after dosing on Day 28), and from all animals at 22 to 25 hours after the last dosing at necropsy. C_{max} and AUC increased with the dose from dose level 30-30 to 30-100 mg/kg. This increase was proportional to the dose. No difference in exposure between gender was evidenced at the three dose levels.</p>
4. Toxicology:	
1) Single dose toxicity	<p><i>Single oral dose toxicity in mice and rats</i></p> <p>The acute oral toxicity of two vigabatrin batches (MDL 71.754-118 and MDL 71.754-130) was evaluated in mice and rats (80 males and females of each species). Test articles as a single dose were administered by gavage at doses between 1000 and 5000 mg/kg. Animals were observed for 14 days after administration. LD_{50}s of MDL 71.754-118 were 3354 mg/kg (mice) and 4056 mg/kg (rats); MDL 71.754-130 LD_{50}s were 3345 mg/kg (mice) and 3932 mg/kg (rats). Deaths occurred at doses ≥ 2500 mg/kg for both mice and rats given both batches. Depression (all doses – rats, 2500-5000 mg/kg – mice) was the primary treatment-related clinical sign. Gastric ulcers and/or dark liquid in the gastrointestinal tract were the only consistent finding in animals found dead. No treatment-related findings were observed in animals killed on day 14.</p> <p><i>Acute oral and intraperitoneal toxicity studies in rats and mice</i></p> <p>Vigabatrin in a single dose was orally administered to mice and rats in a range from 2500 to 5000 mg/kg, and intraperitoneally in a range from 1200 mg/kg to 3000 mg/kg. Animals were observed for 14 days after administration. The oral LD_{50} in rats and mice were 3100 mg/kg and 2830 mg/kg, respectively. The LD_{50} following the intraperitoneal administration in rats and mice were 1473 mg/kg and 1028 mg/kg, respectively. Depression occurred in both rats and mice. Piloerection occurred in rats only.</p> <p><i>Acute intraperitoneal toxicity study in mature mice</i></p>

	<p>Vigabatrin as a single dose was administered intraperitoneally to mice at a range of 1000 to 3500 mg/kg at 500 mg/kg intervals. Animals were observed for 14 days. The acute LD₅₀ in mature mice was found to be 2447 mg/kg. All animals given vigabatrin were depressed in dose-dependent manner with severity of depression from slight at 1000 mg/kg to severe at 3000 mg/kg. Convulsions were seen in 2/10 mice at 3000 mg/kg group and in 1/10 mice at 3500 mg/kg group. Necropsy observations revealed a small amount of fluid in the thoracic cavity of mice receiving doses 2500 mg/kg or more, but no abnormal findings were observed in survivors.</p> <p><i>Acute intraperitoneal LD₅₀ of vigabatrin in mice</i></p> <p>Vigabatrin was intraperitoneally administered to CD-1 (ICR) mice (10 males/group) as a single dose in a range of 2000 to 3500 mg/kg. Animals were observed up to 7 days after administration. The acute LD₅₀ in this study was 3000 mg/kg. Mortality occurred between 10 hours and 4 days following injection. At the higher doses mice appeared severely sedated, catatonic and showed hunched posture.</p>
2) Repeated dose toxicity	<p><i>Dose-range finding study in rats</i></p> <p>Vigabatrin was given orally by gavage to albino CD rats (10/sex/group) for 14-16 days at doses ranging from 10 mg/kg to 1000 mg/kg/day. Clinically, at ≥200 mg/kg/day a dose-related inhibition of body weight gain and food consumption was observed. Depression and emaciation occurred at 1000 mg/kg, and 1/5 females given this dose died of undetermined cause. Clinical laboratory findings included a slight decrease of leucocyte count at 1000 mg/kg and moderate decrease of ALT level at ≥200 mg/kg. No gross or histopathological changes which could be attributed to a specific toxic effect of vigabatrin were found. The study data reflect a relatively low toxicity of vigabatrin.</p> <p><i>2-week oral exploratory toxicity study in rats</i></p> <p>Sprague Dawley rats (5 to 7 weeks of age) received water for injection (vehicle control group) or aqueous solutions of vigabatrin at 100, 300 or 500 mg/kg/day by oral gavage once daily for 2 weeks. Rats were observed daily for mortality and clinical signs. Rats were euthanized and necropsied at the end of the treatment period. Brain and eyes were collected from all animals at necropsy and representative samples from eyes were examined microscopically in all rats from all groups. No deaths occurred and no compound-related clinical signs were noted throughout the study. The oral administration of vigabatrin to SD rats at doses of 100, 300 or 500 mg/kg/day produced dose-related decreases in mean body weight gain and food consumption at all doses and in both sexes: while moderate to severe decreases were noted at 500 mg/kg/day, severity of the changes was considered to be moderate at 300 mg/kg/day and mild to moderate at 100 mg/kg/day. Therefore, under these study conditions, the No-Observed Effect Level (NOEL) was below 100 mg/kg/day, and the dose level of 300 mg/kg/day was considered to be the highest dose suitable for (sub)chronic administration.</p>

Subacute toxicity study in rats

A total of 160 rats (20/sex/group) were administered vigabatrin by gavage once daily for 3 months. Physical and ophthalmoscopic examinations were performed pretest and terminally. Blood for clinicopathological evaluation was collected during pretest, interim sacrifice (day 38) and at the termination of the study. Single daily oral doses of vigabatrin 30 mg/kg or 100 mg/kg for 3 months caused no toxic effects in rats. Alopecia, severely decreased body weight gain, convulsions, increase in fasting blood glucose, and vacuolation of the white matter of the cerebellum occurred in rats given doses of 300 mg/kg/day.

1-year toxicity study in rats

A total of 150 male and 150 female SD rats were treated with vigabatrin in the diet for up to one year. Pretest and after 6 and 12 months of treatment, ophthalmoscopic examination and laboratory analyses were performed. After 6 and 12 months of treatment several animals were necropsied to organ examination. At these same times additional animals were taken off drug and observed for 3 or 6 months to determine the extent of recovery from any symptoms or lesions. These rats were then necropsied and their brains examined by light microscopy.

Oral administration of vigabatrin to rats in diet at doses 30, 100, 200 or 300 mg/kg up to 1 year resulted in dose-related decreases in body weight, which were quite prominent at ≥ 200 mg/kg/day. Convulsions developed in most of 200 mg/kg/day and 300 mg/kg/day rats after about 3 months of treatment. Histopathologically the brain was the only organ affected. The basic lesion was white matter vacuolation in various brain areas. This vacuolation disappeared after 3 months drug off. Paradoxically, the extent of vacuolation in the 200 and 300 mg/kg groups regressed markedly during the second 6 months of treatment, suggesting some type of adaptation at these dosages.

Range finder study in dogs treated for 2 weeks

A total 5 male and 5 female beagle dogs were administered, by gavage, vigabatrin at dosages of 0, 100, 300, 600 or 1000 mg/kg for two weeks. This administration resulted in occasional emesis, decreased food consumption, and weight loss at ≥ 300 mg/kg/day and death of both the male and female dogs of the high dose group. No consistent morphologic or clinicopathologic findings could be found to explain these deaths.

Subacute oral toxicity study in dogs

24 beagle dogs received vigabatrin orally in gelatin capsules once daily in doses of 0, 30, 100, 300 mg/kg/day for 3 month. Administration of vigabatrin was well tolerated when given in doses of 30 and 100 mg/kg/day for 3 months. Toxic effects occurred at 300 mg/kg/day consisting of anorexia, decreased body weight gain and anemia.

1-year toxicity study in dogs

Beagle dogs administered 0, 50, 100 or 200 mg/kg/day of vigabatrin in single daily doses by gelatin capsules for 12 months were unaffected by treatment as far as clinical signs, body weight gain, ophthalmoscopic or

ECG examinations or gross necropsy observations could determine. Histologic alterations associated with treatment were limited to vacuolation of certain of brain white matter (primarily the fornix columns and optic tract). After 6 months of treatment the microvacuoles were apparent only in dogs given ≥ 100 mg/kg/day and were generally mild. After 1 year of treatment there did not appear to be any progression of vacuolation in dogs receiving 100 or 200 mg/kg/day. Two dogs receiving 200 mg/kg/day of vigabatrin for 7 month followed by 4 months off drug revealed no more brain vacuolation and no evidence of any residual effects, indicating the reversibility of these alterations. There were no compound-related ocular changes at any dose level and at any time point.

Oral range finder studies in monkeys

A first study has demonstrated that the oral administration of maximum dose 300 mg/kg/day of vigabatrin to cynomolgus monkeys caused no significant toxicity after 3 months with occasional loose stool being the only sign during the first 6 months of the study. In the subsequent studies single daily oral doses of 500, 750 or 1000 mg/kg/day of vigabatrin caused loose or soft stools in all monkeys starting after the first or second dose and lasting throughout 1-month treatment period. Most monkeys in the two highest dose groups also exhibited anorexia and body weight loss. Dividing the dose 600 mg/kg/day (300 mg/kg bid) did not prevent diarrhea which started within the first week of treatment. Furthermore, the plasma levels of vigabatrin were approximately the same for animals of highest dose groups, which suggested that maximum absorption had been reached at these doses. This finding may explain the possible drug-related but not dose-related brain microvacuolation of a few of treated monkeys. These findings suggest that it would not be practical to try to treat monkeys for prolonged period with vigabatrin more than 300 mg/kg/day.

6-year toxicity study in monkeys

4 groups of cynomolgus monkeys were given oral doses of 0, 50, 100, 300 mg/kg of vigabatrin once daily by nasogastral intubation. Vigabatrin was well tolerated without clinical signs or clinicopathological alterations at dose levels 50 and 100 mg/kg/day through 18 months of treatment. Histopathological examination after 3 and 6 months revealed no changes. Doses of 300 mg/kg/day through 16 months caused infrequent transient loose stools in a few monkeys. No adverse effects were observed in behavior, clinical chemistry, hematology, urinalyses, CSF pressure, organ weights or gross pathology. The only histopathologic observation of possible significance was the brain microvacuolation in the 300 mg/kg group. However, there was no clear evidence that any vacuolation in the brains of monkeys was related to vigabatrin treatment.

Monkeys given 50 or 100 mg/kg/day of vigabatrin remained on treatment for a total of 6 years. Daily oral doses of 50 and 100 mg/kg of vigabatrin were well tolerated by male and female monkeys. GABA-T activity in the left temporal brain lobe was significantly decreased 6 hours after the last dose by 30 % and 32 % in monkeys given 50 or

	<p>100 mg/kg/day, respectively. However, there was no change in brain GABA concentration. No adverse effects were observed in behavior, clinical chemistry, hematology, urinalyses, CSF pressure, organ weights or gross and histopathology. The panel of pathologists examining the brain of these monkeys concluded that there were no treatment-related pathology and that no increased vacuolations were present after 6 years of daily treatment with 50 or 100 mg/kg of vigabatrin.</p>
<p>3) Genotoxicity: in vitro</p>	<p><i>Regression mutation test using Salmonella typhimurium</i> Salmonella typhimurium (strains TA1535, TA1537, TA1538, TA98, and TA100) plate method was used (48 h) twice to obtain regressive mutation test results within or without the presence of metabolization activation by the 5000 µg/plate process. No increase in the number of regressive mutant colonies was observed in any of the strains, and no mutagenesis effect of vigabatrin was observed.</p> <p><i>Regressive mutation test using E. coli</i> As a result of two regression mutation tests by the preincubation method (48 hours) using Escherichia coli (WP2uvrA strain), an increase in the number of regressed mutation colonies was observed even with 5000 µg/plate treatment regardless of the presence or absence of metabolic activation. No mutagenic effect of vigabatrin was therefore observed.</p> <p><i>Chromosome aberration test using mammalian cells</i> The chromosomal aberration test using rat lymphocytes showed no increase in the number of cells with chromosomal structural abnormalities even after 4-hour treatment at 5000 µg/mL, regardless of the presence or absence of metabolic activation, and chromosomal aberrations due to vigabatrin treatment was not observed.</p> <p><i>Gene conversion test using yeast</i> No increase in the frequency of gene conversion was observed even with treatment of 5000 µg/mL for 16 hours (-S9) or 4 hours (+ S9) regardless of the presence or absence of metabolic activation. Vigabatrin was not found to induce gene conversion.</p> <p><i>Point mutation test using yeast</i> No increase in mutation frequency was observed with or without metabolic activation even after 16 hours (-S9) or 4 hours (+ S9) treatment at 5000 µg/mL. Vigabatrin had no mutagenic effect.</p> <p><i>Forward mutation test using CHO cells</i> No increase in the mutation frequency was observed even with treatment of 5000 µg/mL for 4 hours regardless of the presence or absence of metabolic activation, and no mutagenesis effect was observed for vigabatrin.</p>
<p>in vivo (including additional assessment on toxicokinetics)</p>	<p>Vigabatrin was evaluated in the mouse bone marrow micronucleus test. Vigabatrin was administered to mice by single oral gavage at dose levels of 0 (negative control), 170, 540 and 1700 mg/kg. In addition, a positive control group was set up in which cyclophosphamide 120 mg/kg was administered orally. Bone marrow was collected from the femur 24 or 48</p>

	<p>hours after administration to prepare a Giemsa-stained specimen for microscopy. There were no significant increases in the frequencies of micronucleated polychromatic erythrocytes in groups treated with vigabatrin compared to negative controls. The positive control mice showed significant increases in micronucleated polychromatic erythrocytes. Hence, vigabatrin was considered negative in the mouse bone marrow micronucleus test.</p>
4) Carcinogenicity:	
long-term studies	<p><i>18-month carcinogenicity study in mice</i> A total of 200 male and 200 female albino mice were administered vigabatrin in diet at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day for 18 months. Vigabatrin did not exhibit any carcinogenic potential in this study since there was no difference in the incidence of neoplastic lesions between the vigabatrin-treated group and the control group.</p> <p><i>2-year carcinogenicity study in rats</i> A total of 200 male and 200 female pigmented LE rats were administered vigabatrin in diet at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day for 2 years. The results of this study demonstrate that 2 years of vigabatrin administration was not carcinogenic in LE rats. There was no difference in the incidence of neoplastic lesions between the vigabatrin-treated group and the control group.</p>
short-term studies or mid-term studies	-
additional studies	-
5) Reproductive and developmental toxicity:	
effects on fertility and early embryonic development	<p><i>Male fertility study in rats</i> 80 male CD (SD) rats approximately 39 days old were administered vigabatrin in diet at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day for 84 days prior to mating. Vigabatrin produced no effect on male fertility or reproductive performance. There were slight to moderate reductions in food consumption and body weight gain in the 100 and 150 mg/kg/day group respectively.</p> <p><i>Reproduction study in female rats</i> 80 sexually mature female CD (SD) rats were administered vigabatrin in the diet at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day from 2 weeks prior to breeding through a 1 week breeding period and for 1 week thereafter. Females were sacrificed approximately 16 days from midweek of cohabitation with the male and examined for viable and dead fetuses, resorption, and corpora lutea. Conception rates were not affected by treatment. Corpora lutea were significantly reduced ($p < 0.05$) in the 150 mg/kg group and this resulted in significant reduction of number of implantation sites and consequently there were fewer viable fetuses. Preimplant and postimplant losses were not affected.</p>

embryotoxicity

Range-finding study in pregnant rats

Vigabatrin was administered by gavage once daily to pregnant SD rats at doses 0, 300, 400 or 500 mg/kg/day on days 7 through 16 of gestation. A marked reduction of food consumption occurred in all treated groups. This resulted in an actual body weight loss during the treatment period with a partial recovery in body weight after treatment was stopped. There were no maternal deaths but focal alopecia was noted in 3/5 dams in the 400 and 500 mg/kg groups. The number of implants, live or dead fetuses, and resorptions were similar except in the 400 mg/kg group which had a dramatic increase in resorptions (2 dams with 100 % and 3 dams with a mean of 19 % resorptions). Fetal weight showed slight to moderate reduction in all treated groups. The 1 malformed fetus (exencephaly and gastrochisis) in the 300 mg/kg group was considered fortuitous, since that was the only abnormal fetus observed.

The findings indicate the pregnant rats cannot tolerate vigabatrin dosages of 400 and 500 mg/kg without considerable adverse effects.

Morphologic teratology study in rats

Sexually mature SD rats were administered vigabatrin by gavage once daily at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day on days 7 through 16 of gestation. They were sacrificed on day 21 to evaluate the effect of the drug on the developing fetus.

A reduction in maternal food consumption in the 100 and 150 mg/kg groups was reflected in slightly reduced body weight gain during the treatment period. There were no treatment effects on conception, implantations, live or dead fetuses, or resorptions. Average live fetal weights were significantly less the 100 and 150 mg/kg groups. External and visceral examinations of the fetuses showed combined malformations (mostly involving the soft tissues) of 3 and 2 cases at 50 and 150 mg/kg/day, respectively. Skeletal examination did not reveal any additional drug-related anomalies although there was slight indication of retarded ossification in the 150 mg/kg/day group which may be related to reduced fetal weight in this group. No malformations were observed in the 100 mg/kg or control groups. As the frequency of individual malformations was low they were considered to be spurious and unrelated to treatment.

Teratology study in rabbits

80 sexually mature female New Zealand white rabbits divided into 4 groups 20 females each. All females were artificially inseminated. Vigabatrin was administered by gavage once daily at doses 0, 50, 100 or 200 mg/kg/day on days 7 through 19 of gestation. Animals were sacrificed on day 29 of pregnancy. Vigabatrin when administered to pregnant rabbits during the period of organogenesis at dosages of 50 or 100 mg/kg/day produced no teratologic effects compared to controls. Dosages of 150 and 200 mg/kg/day produced maternal weight loss and an increase in resorptions, both of which are indications of toxicity. Cleft palate occurred in a low incidence in this toxic dosages, indicating a weak

	<p>teratogenic effect in this strain of rabbits. A dose of 300 mg/kg/day was found to be lethal for pregnant rabbits in a range-finding study.</p>
<p>prenatal and postnatal toxicity</p>	<p><i>Behavioral teratology study in rats</i> Female SD rats were administered vigabatrin by gavage once daily at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day on days 7 through 16 of gestation. The females were allowed to deliver and their litters were reduced to 4 males and 4 females (where possible). After weaning 1 male and 1 female from each litter were raised to sexual maturity and mated (nonsibling) to determine any effects to reproduction and sexual competence. There were no noticeable effects on the dams except for reduced food consumption and body weight gain in the 100 and 150 mg/kg groups during the treatment period. Developmental and behavioral tests of F1 offspring show no difference between treated and control groups. Growth of F1 offspring from weaning to sexual maturity and mating revealed no remarkable effects that could be related to their in utero exposure to the drug during organogenesis.</p> <p><i>Perinatal and postnatal toxicity study in rats</i> 80 female CD (SD) rats were administered vigabatrin in the diet at doses 0, 50, 100 or 150 mg/kg/day starting on day 15 of gestation and continued throughout lactation to weaning. Vigabatrin produced no remarkable effects except for a significant reduction of body weight due to reduced food consumption and reduction in pup weights at weaning in the 100 and 150 mg/kg groups. Mating of F1 generation revealed a slight reduction (not significant at $p < 0.05$) in pregnancies at 150 mg/kg, and definitive reduction in the number of corpora lutea at 100 and 150 mg/kg, which resulted in reduced litter size at 150 mg/kg (no effect on fetal viability). Sporadic convulsions in 150 mg/kg rats and probably accounted for their poorer reproductive performance. Some mild vacuolation were present at all dosages.</p>
<p>studies in which medication is administered to the offspring (immature animals) and/or long-term effects are assessed</p>	<p><i>Toxicity study by oral gavage Administration to juvenile (pre-weaned) Beagle dogs</i> The objective of this study was the assessment of neurohistopathological changes in the brain during an oral gavage study in juvenile (pre-weaned) Beagle dogs over a treatment period of up to 91 days. Dosing commenced at postnatal Day 22 (PND22) and continued until the animals reached 16 weeks (PND112) of age. The 91-day treatment period was followed by an off-dose period of 6 weeks to assess the potential for recovery from any changes seen. In addition, in order to assess the potential for neurohistopathological changes that may arise specifically in the period up to around the age of weaning (6 to 8 weeks of age for dogs) a second sub-group of animals were dosed with vigabatrin from PND22 to PND35 and a third sub-group from PND36 to PND49.</p> <p>Main study animals received the water for injection, or the test substance, vigabatrin, by oral gavage for 91 days. Main study recovery animals were similarly treated for 91 days followed by a 6 week off-dose period. An Intermediate I subgroup of animals was dosed with water for</p>

injection or vigabatrin for 14 days (PND 22 to 35) followed by a 14 day off dose period. A further Intermediate II subgroup of animals was dosed with water for injection or vigabatrin from a slightly older age for 14 days (PND 36 to 49) followed by a 14 day off dose period.

Administration of vigabatrin at dose levels of 30 or 100 mg/kg/day was associated with mild vacuolation in the brain. In animals treated for 14 days from PND22, minimal or slight vacuolation was seen in the hippocampus, hypothalamus, thalamus, cerebellum and globus pallidus at 100 mg/kg/day and minimal vacuolation in the thalamus, globus pallidus and cerebellum at 30 mg/kg/day. In animals given 100 mg/kg/day for 91 days from PND22, minimal or slight vacuolation was observed only in the hippocampus, hypothalamus and thalamus. Clear evidence of recovery was observed after the 14 day off-dose period that followed treatment from PND 22 to PND35 and following the 6 week off-dose period that followed treatment from PND22 to PND112. No test article related brain vacuolation was observed in animals given 30 or 100 mg/kg/day for 14 days from PND36. Plasma AUC_{0-24h} exposure ranged from 54100 to 96300 ng.h/mL at 30 mg/kg/day and from 175000 to 346000 ng.h/mL at 100 mg/kg/day.

2-week oral range-finding toxicity study in juvenile rats

Sprague Dawley (SD) juvenile rats (4 days old) received injection-quality water (control group) or vigabatrin at 30, 50, 100, 300, 500 or 1000 mg/kg/day by oral gavage once daily for 2 weeks. Ten dams were used in the study, each with a litter of 4 males and 4 females.

Compound-related deaths were noted at 100 mg/kg/day and above. At 300, 500 and 1000 mg/kg/day, all animals were euthanized for humane reason between dosing Days 3 and 5, having absence of milk in the stomach, body weight loss or severely decreased body weight gain and absence of motor activity. At 100 mg/kg/day, 2/8 male and 2/8 female rats were found dead or euthanized on dosing Days 5/6. No deaths occurred at 30 and 50 mg/kg/day, nor in control animals. Compound-related clinical signs in the surviving animals consisted of absence of milk in the stomach. Decreased and sometimes absent motor activity was also noted at 100 mg/kg/day in all animals throughout the dosing period and in 4/8 male and 5/8 female rats at 50 mg/kg/day (decreased motor activity only). Minimal to moderate decreases in mean body weight gain were noted in both sexes at 30 and 50 mg/kg/day. Body weight gain was markedly decreased in the animals treated at 100 mg/kg/day. No compound-related macroscopic changes were noted. There were no microscopic changes in the eyes at 30, 50 and 100 mg/kg/day that could be considered directly related to the administration of the test article. Minimal nuclear changes in the retina (scattered nuclei in the photoreceptor layer and increased number of apoptotic bodies in the inner nuclear layer) were observed in the eyes of rats treated at 50 and 100 mg/kg/day in both sexes. These changes were diffuse and bilateral and could be related to a defective or delayed retinal maturation subsequent to body growth retardation. Under these study conditions, the

dose level of 30 mg/kg/day was considered to be close to a No-Observed Adverse Effect Level (NOAEL).

4-week oral ocular toxicity study in Sprague Dawley juvenile rats (from postnatal day 4)

Sprague Dawley (SD) juvenile rats (4-day old at treatment initiation) received once daily by oral gavage injection-quality water (control group) from dosing Day 1 to dosing Day 28 (postnatal Days 4 to 31), or vigabatrin at 30 mg/kg/day from dosing Day 1 to dosing Day 10, and then at 30, 50 or 100 mg/kg/day from dosing Day 11 to dosing Day 28.

Compound-related deaths were noted at 30-100 mg/kg/day, with 3/9 males and 1/9 females found dead on dosing Days 23-29. Compound-related clinical signs consisted principally of generalized rigidity (tonic convulsions) noted at all doses from dosing Day 23 with a dose-related incidence (2/9 males and 1/9 females at 30-30 mg/kg/day; 6/9 males and 4/9 females at 30-50 mg/kg/day; 8/9 males and 9/9 females at 30-100 mg/kg/day), and decreased motor activity and/or tremors noted occasionally in 4/9 males and 4/9 females at 30-100 mg/kg/day. Convulsions (clonic type) were also noted in 1/9 males at 30-50 mg/kg/day and 1/9 females at 30-100 mg/kg/day. Dose-related decreases in mean body weight gain were noted in all treated groups as compared with controls (-13%, -22% and -39% in males; -16%, -21% and -34% in females at 30-30, 30-50 and 30-100 mg/kg/day, respectively, at the end of the study).

There were no changes in brain weight at any dose level, as compared with controls, which were considered directly related to vigabatrin administration.

Possible compound-related microscopic ocular changes were observed in 1 eye from 1/9 males dosed at 30-100 mg/kg/day. Microscopic changes consisted of minimal central retinal degeneration. This minor change observed in the central retina of 1 eye from 1 male from the high dose group represents an equivocal finding. Under these study conditions, the dose level of 30-30 mg/kg/day was considered to be close to the NOAEL.

9-Week Oral (Gavage) Repeat-Dose Toxicity Study in Neonatal Rats

The purpose of this study was to detect adverse effects of vigabatrin treatment of juvenile SD rats for up to 9 weeks and to further evaluate brain lesions. Forty male pups were assigned to eight dosage groups (n = 5/group). Vigabatrin (50 mg/kg) or the deionized water were administered orally via gavage once daily as follows: on PNDs 4 through 25 (Groups I and V), on PNDs 4 through 46 (Groups II and VI), 4 through 65 (Groups III and VII) and 12 through 26 (Groups IV and VIII).

Mortality, adverse clinical signs, reductions in mean body weights, body weight gains, terminal body weights and brain weights, and increases in the mean ratios of brain to terminal body weights were attributed to administration of 50 mg/kg/day vigabatrin for all four treatment intervals.

The ultrastructural study of the brains revealed the presence of vacuoles which were initiated as splits of myelin sheaths. They expanded and evolved into large vacuoles which were more prominent in later stages of

	<p>treatment. These vacuoles were particularly prominent in the PND 4 to 25 (Group I) treated rats. With treatment in the PND 4 to 46 period (Group II), lesions persisted in the cerebellum (especially nuclei and adjacent white matter) and medulla, although the white matter vacuolization was diminished. In rats exposed to the test article on PNDs 4 to 65 (Group III), medullary and cerebellar lesions persisted, and there was involvement of more rostral regions such as the midbrain, thalamus and basal forebrain. Rats treated in the PND 12 to 26 period (Group IV) had vacuoles with a similar appearance and distribution, but were somewhat less extensive than those in rats with treatment beginning on PND 4. A prominent reaction was the effect of test article administration on myelination.</p> <p><i>Oral (Gavage) Investigative Brain Pathology Study in the Juvenile Rat</i></p> <p>Study objective: To assess the potential neurodegenerative effects of vigabatrin in juvenile rats upon administration via oral gavage from Day 4 to Day 30 of age.</p> <p>Methods: juvenile rats were divided into 12 groups.</p> <p>Groups 1 to 4 were dosed over Days 4 to 7 of age, Groups 5 to 8 were dosed over Days 7 to 14 of age and Groups 9 to 12 were dosed over Days 14 to 30 of age. Groups 2/6/10, 3/7/11 and 4/8/12 were dosed with 5, 15 or 50 mg/kg/day, respectively. Groups 1, 5 and 9 served as Controls and received the vehicle only.</p> <p>Results and conclusions: Oral gavage dosing with vigabatrin to the juvenile SD rats from Days 4 to 7, 7 to 14 or 14 to 30 of age at dose levels of 5, 15 or 50 mg/kg/day, was associated with treatment-related changes in the brain at dose levels of 15 or 50 mg/kg/day. Changes were found after 2 doses in animals at any age given 50 mg/kg/day and after 4 doses at 15 mg/kg/day over Days 7 to 14 or 14 to 30 of age. The major change was neuropil vacuolation which was present after 2 doses in the youngest animals and in animals dosed over Days 14 to 30 of age but after 4 doses in animals dosed from Days 7 to 14 of age. Animals dosed from Days 4 to 7 or 7 to 14 of age also showed swollen oligodendrocytes after 2 doses at 50 mg/kg/day and after 4 doses at 15 mg/kg/day from Day 7 of age. There was also a reduction of myelin after 4 doses in animals dosed at 50 mg/kg/day from Days 7 to 14 or 14 to 30 of age, or from 11 doses in animals dosed at 15 mg/kg/day from Days 14 to 30 of age.</p> <p>Age-related variations in the location of the lesions and the characteristics of the findings indicated that the effect was confined to the myelination process and there was no indication of gliosis or neuronal degeneration. A degree of recovery was evident after all three dose regimens.</p> <p>There were no treatment-related changes in the brains of rats given 5 mg/kg/day over any of the dosing regimens.</p>
6) local tolerance	Since vigabatrin is an orally administered preparation, no local irritation test has been conducted.
7) additional toxicity studies:	Not applicable.
antigenicity (antibody response)	-

immunotoxicity	-
study of the mechanisms of action	The mechanism of action of vigabatrin is inhibition of GABA transaminase (GABA-T) activity. Relevant studies are described in the "Primary pharmacodynamics".
drug dependence	<p><i>Physical dependence studies in rats and dogs.</i></p> <p>In the rat study, animals received 30 to 300 mg/kg/day of vigabatrin for 6 or 12 months. In the first dog study, vigabatrin was administered at a dose of 300 mg/kg/day for 12 weeks and then discontinued. In a second dog study animals received 50, 100 or 200 mg/kg/day for 7 or 12 months prior to drug discontinuation.</p> <p>Although convulsions were observed during treatment of rats with the higher doses of vigabatrin, no withdrawal signs were observed upon drug discontinuation.</p> <p>In the first dog study, some of the animals exhibited weight loss so severe that they received euthanasia. No other signs of withdrawal were observed. During the second dog study, withdrawal signs were not observed in any animal.</p>
toxicity of metabolites	Not applicable.
toxicity of impurities	Not applicable.
other	<p><i>Sequential neuropathology study in dogs</i></p> <p>The neuropathology of a 300 mg/kg/day oral dose of vigabatrin was evaluated sequentially in groups of Beagle dogs during treatment (weeks 1-12) and recovery from dosing (weeks 1, 2, 4, 8, 12, 16). The administration of drug produced microvacuolation that could be delineated from background by 4 weeks of dosing. The microvacuolation reached highest levels of severity between 8 and 12 weeks and was reversible within 16 weeks postdosing.</p> <p><i>Electrophysiological study of daily administration of vigabatrin in dogs</i></p> <p>Daily administration of 300 mg/kg of vigabatrin for 12 weeks causes multifocal intramyelinic edema resulting in microscopic vacuolation. Surface recorded SEP data demonstrate a consistent increase in central transmission latency associated with the administration of vigabatrin. AEP data showed no consistent change or difference between treated and control groups.</p> <p>Alterations in SEP latencies completely recover after 12 weeks of treatment.</p> <p><i>Evaluation of flash-evoked potentials in vigabatrin-treated dogs</i></p> <p>Flash-evoked potentials (FEPs) were used to evaluate the visual function of 4 Beagle dogs given oral vigabatrin at 300 mg/kg for 12 weeks. FEPs were collected from each dog after 12 weeks of treatment and after 2, 4, 6, and 8 weeks of recovery. Vigabatrin-induced slowing of FEPs occurred in peaks with latencies of ≥ 75 msec. recovery was inferred from the dramatic acceleration of FEP peak latencies in treated dogs during recovery period.</p>

Longitudinal study of visual evoked potentials and somatosensory evoked potentials in dogs receiving daily doses of vigabatrin

Administration of vigabatrin at a dose of 300 mg/kg/day is associated with significant changes in conduction within CNS fiber tracts as manifested by slowing of central somatosensory evoked potentials (SEPs) and visual evoked potentials (VEPs) measures. Dogs continued to receive vigabatrin for period up to 6 weeks after initial evoked potential manifestation of dysfunction. Even under these circumstances, evoked potential measures recovered to normal after drug cessation.

Ex vivo MRI and histopathological assessments on the onset and recovery of vigabatrin-induced intramyelinic edema

Evaluation of neuropathology associated with long-term treatment of dogs with vigabatrin was performed with qualitative ex vivo MRI and histological quantitation of microvacuolation in hypothalamus, thalamus, and columns of the fornix. Beagles were assigned to 18 groups and administered vigabatrin orally at doses of 300 mg/kg/day or placebo. Animals were sacrificed and examined at weekly intervals during 12 weeks of treatment and at 1, 2, 4, 6, 12, 16 weeks after discontinuation of drug. Vigabatrin causes microvacuolation in dogs, as demonstrated by histological and MRI changes. These changes appear to be correlated with drug treatment and regress after drug withdrawal.

13-week oral ocular toxicity study in rats with an interim necropsy at 4 weeks and a 4-week recovery period

Sprague Dawley rats (6 to 7 weeks of age) received injection-quality water (control group) or vigabatrin at 100 or 300 mg/kg/day by oral gavage once daily for 4 or 13 weeks. Rats were divided into 3 groups: control group, treated at 100 mg/kg/day and treated at 300 mg/kg/day. Each group was further subdivided into 3 subgroups. Rats from subgroup 1 were euthanatized and necropsied after 4 weeks of dosing. Rats from subgroup 2 were euthanatized and necropsied at the end of the 13-week dosing period. Rats from subgroup 3 served as recovery animals and were maintained without compound administration for 4 weeks after completion of 13 weeks of dosing.

The oral administration of vigabatrin to Sprague Dawley rats for 4 or 13 weeks at 100 or 300 mg/kg/day followed by a 4-week recovery period induced at both dose levels ophthalmoscopic retinal changes, with a dose-related incidence and severity, consisting clinically of increased luminescence and/or pallor of the retina, and to a lesser extent kinking of the vessels. Minimal changes were characterized by the presence of nuclei of the outer nuclear layer in the photoreceptor layer and more severe lesions by locally extensive loss of photoreceptors and disorganization of outer nuclear layers.

Ophthalmological and histopathological retinal changes were still noted at the end of the 4-week recovery period. There was no evidence for any compound-related changes in taurine and hypotaurine blood and liver levels and in ornithine blood levels.

3-month oral exploratory study (ocular effects) in rats exposed or not to excessive light

Long Evans (pigmented) and Wistar (albino) rats (aged 2 months at study initiation) were given compound-free drinking water (control group) or drinking water containing vigabatrin at concentrations calculated to correspond to a daily administration of 300 mg/kg, for approximately 3 months (12 weeks). Animals were divided into 8 groups: 4 groups ("illuminated", consisting of control and treated rats from both strains) were exposed for 7 days (24 hours/day) to excessive light (approximately 500 lux) starting on the first dosing day, and then housed under standard conditions for the 11 weeks. 4 other similar groups ("non-illuminated") were housed under standard conditions (12 hour light with approximately 25 lux/12 hours darkness) throughout the 12-week treatment period. At the end of the treatment period, animals were euthanatized, eyes were sampled, and, blood collected for plasma level determination of vigabatrin.

Following oral administration of vigabatrin in drinking water at a dose level of 300 mg/kg/day to 2-month old Wistar and Long Evans rats exposed or not to excessive light, compound-related ocular changes consisted of marked increases in GABA mean concentrations in the retina and vitreous in all treated groups, consistent with the GABA mimetic activity of the compound, which were however lower in illuminated Wistar rats. Excessive light resulted in degenerative retinal changes characterized by loss of photoreceptor and outer nuclear layers in albino rats, and mild decreases in most amino acid concentrations in albino and pigmented rats, likely to reflect a decreased activity of retina.

6-week oral study – The role of Taurine in Vigabatrin- and light induced retinal toxicity in rats

The objective of the study was to investigate in the Long Evans rats, if the retinal damage induced by a 6-week oral administration of vigabatrin may be counteracted by administration of taurine. Vigabatrin was administered at two dose levels (30 and 150 mg/kg/day) to animals that have either been "loaded" with taurine via the drinking water or have received no exogenous taurine.

Daily administration of vigabatrin for 6 weeks to Long Evans rats at 30 and 150 mg/kg/day induced a slight reduction in mean body weight gains at both dose levels and irrespective of the environmental conditions (high intensity light and mydriasis) or presence of taurine. In addition, at the higher dose level of 150 mg/kg, there was a minimal body weight loss at the beginning of treatment. Under the conditions of the study, retinal histological changes were observed after one week of treatment and a time-dependent progression in severity was clearly seen on day 21 and day 42/43 for animals receiving 30 or 150 mg/kg/day of vigabatrin and exposed to high intensity light enhanced with mydriasis. These effects were not counteracted by the concomitant administration of taurine.

In absence of high intensity light, but with mydriasis only, animals treated with 150 mg/kg/day of vigabatrin with or without co-

administration of taurine did not present any retinal damage at microscopic or functional evaluation by electro-retinography (ERG).

Functional changes were observed at ERG on day 42 in all groups receiving 30 or 150 mg/kg/day of vigabatrin, exposed to high intensity light enhanced with mydriasis and with or without supplementation with taurine. Therefore, under the conditions of the study no protective effect of taurine was demonstrated.

Vigabatrin and enantiomers: 13-week comparative brain toxicity study in rats

The objective of this study was to compare the toxicity of vigabatrin and enantiomers at specified sites in the brain when given orally to rats for 13 weeks. 5 groups of male and female SD rats were given distilled water (controls), active enantiomer 150 mg/kg/day, inactive enantiomer 150 mg/kg/day, vigabatrin (racemate) 300 mg/kg/day, and vigabatrin + pyridoxine (300 mg/kg/day + 10 mg/kg/day).

All animals survived, but hairloss, high stepping gait and spasms were observed in groups 2, 4 and 5. Group 3 animals were similar to controls. Body weight gain in groups 2, 4 and 5 was decreased (by 25 to 31 % in males and 8 to 16 % in females relative to controls at week 13). Absolute brain weight was slightly decreased in groups 2, 4, and 5. Necropsy and histopathological data in group 3 were similar to those in group 1. In groups 2, 4 and 5 histologically there was vacuolation in various parts of the brain and a retinopathy.

Thus, the inactive enantiomer was not toxic at 150 mg/kg/day but the other test articles containing the active enantiomer showed similar toxicity.

Comparative oral 3-month toxicity studies with S-form and racemic vigabatrin

These studies were conducted to determine if the pharmacologically active S enantiomer is responsible for toxicity.

Sprague-Dawley rats were administered vigabatrin (RS mixture) in the diet at dosages of 0, 50, 100, or 300 mg/kg/day for 3 months. For comparison the S enantiomer was administered in a similar fashion at dosages of 0, 25, 50, 150 or 300 mg/kg/day.

The study suggested that the toxic effects of vigabatrin are due to the pharmacologically active S enantiomer since it produced the same effects as the RS mixture but at lower dosages.

Effect of pyridoxine hydrochloride on vigabatrin toxicity in rats

A total of 60 male and 60 female SD rats for 4 months were given drugs in the diet as follows: Group 1 (control), Group 2 (300 mg/kg/day pyridoxine HCl), Group 3 (100 mg/kg/day vigabatrin and 100 mg/kg/day pyridoxine HCl), Group 4 (300 mg/kg/day vigabatrin and 300 mg/kg/day pyridoxine HCl), Group 5 (100 mg/kg/day vigabatrin), Group 6 (300 mg/kg/day vigabatrin).

Administration of vigabatrin resulted in a mild reduction in body weight gain and food consumption and some intramyelinic edema (brain vacuolation) at 100 mg/kg/day and noticeable reduction in body weight

	<p>gain, food consumption, convulsions, and intramyelinic edema at 300 mg/kg/day. Supplementation of the diet with equal quantities of pyridoxine hydrochloride had no noticeable effect on any of these results. A retinal degeneration also seen in the study (low incidence) was unaffected by pyridoxine HCl treatment. Pyridoxine alone produced no brain or retinal changes.</p>
5. Conclusions on non-clinical study	<p>A comprehensive body of nonclinical data is available for vigabatrin.</p> <p>In pharmacology studies it was shown that vigabatrin irreversibly inhibits GABA-T activity, increases GABA levels in the brain, and suppresses seizures in various epilepsy models, including juvenile rat models. Regarding pharmacological safety, inhibitory behavior is thought to be the result of increased GABA concentration in the brain.</p> <p>Since vigabatrin is a racemate, the pharmacological activities of R-enantiomer and S-enantiomer were investigated. For GABA-T activity, 1 mmol/L of racemate and 0.5 mmol/L of S-form decreased enzyme activity in the same time course. The R-form showed a weak inhibitory effect. It was concluded that S-enantiomer is an active component of racemic mixture.</p> <p>Following oral administration vigabatrin was rapidly and completely absorbed in rats and dogs, but in monkeys, incomplete and dose-dependent absorption, reduced rate of absorption at high doses were observed. The t_{max} (1 to 3 hours) of a single oral dose of vigabatrin in monkeys was slower than that of rats and dogs, and C_{max} was assumed to be lower than in rats and dogs. In rats and dogs, the bioavailability of oral vigabatrin was almost 100%. Exposure (AUC) increased proportionally to dose. In the rat and monkey repeat dose toxicity studies, TK parameters showed no gender difference in exposure or plasma concentrations.</p> <p>In single dose toxicity studies in mice and rats was demonstrated that depression was the primary treatment-related clinical sign.</p> <p>Data of repeat dose toxicity studies indicate that, in animals, vigabatrin is neurotoxic in the adult and during pre- and postnatal development. Brain lesions, referred to as intramyelinic edema, were detected in adult animals (mouse, rat, dog; equivocal in monkey). These lesions were characterized by microvacuoles in white matter, and were observed after 3 months or more of dosing. The brain microvacuolation disappeared after drug withdrawn. No clear behavioral correlates were observed in animals.</p> <p>Vigabatrin-induced retinal degeneration was observed in albino mouse and rats, but not in pigmented rats, dogs, or monkeys. In a repeated dose oral ocular toxicity studies in rats, retinal degeneration was observed at a dose of 100 mg/kg/day or more with a dose-related incidence and severity. A 3-month oral ocular toxicity study comparing rats exposed and not exposed to light suggested that light irradiation may be involved in the development of retinal degeneration.</p> <p>Vigabatrin was not genotoxic both <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> tests.</p>

	<p>Long-term carcinogenicity studies revealed no carcinogenic potential of vigabatrin.</p> <p>Vigabatrin produced no effect on male fertility or reproductive performance in rats. No effects on maternal fertility were observed in prenatal and postnatal developmental and maternal function studies in rats. In teratology study in rabbits and rats, the frequency of malformations was low, so they were considered to be spurious and unrelated to treatment. Vigabatrin produced no remarkable effects on postnatal development of pups exposed the drug in utero and during lactation period to weaning.</p> <p>The studies comparing the toxicity of vigabatrin and enantiomers, suggested that the toxic effects of vigabatrin are due to the pharmacologically active S enantiomer since it produced the same effects as the RS mixture but at lower dosages.</p> <p>Thus, nonclinical data indicate that vigabatrin is safe when used in the therapeutic dose range.</p>
--	---

Applicant (Marketing Authorization Holder)



(signature)

НІК (full name)

3

ЗВІТ

про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення):	САБРИЛ® , гранули для орального розчину по 500 мг
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	Лікарський засіб за повним досьє (автономне досьє), інший лікарський засіб, нова діюча речовина.
2) проведені дослідження	<input checked="" type="checkbox"/> так <input type="checkbox"/> ні якщо ні, обґрунтувати
2. Фармакологія:	
1) первинна фармакодинаміка	<p><i>Інгібуючий вплив на ГАМК-Т</i></p> <p>Інгібуючий вплив вігабатрину на ГАМК-амінотрансферазу (ГАМК-Т) <i>in vitro</i> порівнювали з впливом на інші амінотрансферази амінокислот (АСТ і АЛТ), орнітин-амінотрансферазу (ОАТ) і фермент, що продукує ГАМК, глутаматдекарбоксилазу (ГАД). ГАМК-Т, АСТ, АЛТ і ГАД були частково очищені при виділенні з головного мозку щурів. Вігабатрин пригнічував активність ГАМК-Т у мозку щурів відповідно до тривалості реакції. Вігабатрин зв'язувався з ГАМК-Т і викликав необоротне пригнічення ферменту. Дія вігабатрину в концентрації 10 ммоль/л протягом більше 40 хвилин не впливала на активність ГАД і АСТ. Активність АЛТ була дещо пригніченою під впливом вігабатрину в концентрації 10 ммоль/л, але швидкість цієї реакції була приблизно в 1000 разів повільнішою, ніж така щодо ГАМК-Т. Концентрація 10 ммоль/л не впливала на активність ферменту ОАТ або вироблення глутамінової кислоти з орнітину. З огляду на відсутність впливу на активність очищеної ГАМК-Т з <i>Pseudomonas fluorescens</i> при концентрації 1–10 ммоль/л, було продемонстровано, що вігабатрин має високу селективність щодо ГАМК-Т ссавців.</p> <p>Біохімічні властивості вігабатрину <i>in vivo</i> досліджували в центральній нервовій системі (ЦНС). У дозі 1500 мг/кг вігабатрин знижував активність ГАМК-Т у мозку на 80 % протягом 48 годин і на 40 % протягом 6 днів. Активність ГАД знижувалася на 25 % через 48 годин і нормалізувалася на 6-й день. Було досліджено дію вігабатрину на різні ділянки мозку. Щурам інтраперитонеально вводили одноразову дозу вігабатрину 1500 мг/кг, а через 6 годин після введення видаляли головний мозок. Мозок розділили на 10 ділянок для вимірювання концентрації ГАМК, активності ГАМК-Т та активності ГАД (n = 5/група). У всіх випадках спостерігався незначний вплив на ГАД, тоді як пригнічення</p>

ГАМК-Т досягало 60–80 %, а рівні ГАМК збільшилися у 2,5 рази у довгастому мозку та у 8,2 рази у гіпокампі.

Біохімічні та токсикологічні ефекти 10-денного інтраперитонеального введення вігабатрину в діапазоні доз від 10 до 1250 мг/кг/добу досліджували на самцях мишей CD1 (n = 10–15/група). Вігабатрин у всіх дозах знижував активність ГАМК-Т і ГАД та підвищував концентрацію ГАМК у мозку в цілому через 24 години після 10 введення. Максимальне пригнічення ГАМК-Т (доза ≥ 400 мг/кг/добу) становило приблизно 10 % від контрольної активності; максимальне пригнічення ГАД (доза ≥ 400 мг/кг/добу) становило 55–60 % від контрольної активності. Концентрація ГАМК у мозку (як дія препарату) стрімко зростала у діапазоні від 100 до 750 мг/кг/добу, досягаючи максимуму близько 400 % від контрольних значень при дозі 750 мг/кг/добу.

Вігабатрин дозою 100 або 500 мг/кг/добу вводили інтраперитонеально мишам Swiss Albino CD (n = 5/група) протягом 1, 2, 4, 6, 8, 10 або 12 днів. Через 24 години після кожного введення групу тварин (n = 5) умертвляли і видаляли головний мозок. Визначали активність ГАМК-Т, активність ГАД та концентрацію ГАМК. Зниження активності ГАМК-Т у мозку стало стабільним через 4 дні введення, і активність ГАМК-Т зменшилася приблизно до 40 % і 20 % від значень у контрольній групі при дозі 100 і 500 мг/кг/добу відповідно. Концентрація ГАМК у мозку корелювала зі зниженням активності ГАМК-Т: після четвертої ін'єкції було досягнуто рівноважного стану. Рівноважний стан відображав зміну приблизно в 2 рази порівняно з контрольними значеннями при дозі 100 мг/кг/добу і в 4 рази при дозі 500 мг/кг/добу. Активність ГАД була знижена до 72 % і 60 % від значень у контрольній групі при дозі 100 і 500 мг/кг/добу відповідно.

Вплив на поглинання та вивільнення ГАМК

Тест на вивільнення ГАМК: у дослідженні *in vitro* готували синапсоми кори головного мозку самок щурів Sprague Dawley (SD). Синапсоми інкубували протягом 20 хвилин у присутності 10 мкмоль/л [U-¹⁴C]-ГАМК, а потім ресуспендували у фосфатному середовищі. Суспензії інкубували протягом 30 хвилин перед додаванням тетродотоксину (ТТХ; 1,0 мкмоль/л), γ -ацетиленової ГАМК (0,5–5 мМ) або вігабатрину (0,25–5 мМ). У дослідженні *in vivo* щурам інтраперитонеально вводили фізіологічний розчин або вігабатрин 1000 мг/кг, а через 14 годин готували синапсоми кори головного мозку. Концентрацію амінокислот (аспарагінова кислота, треонін, серин, глутамін, глутамінова кислота, гліцин, аланін, ГАМК) вимірювали після інкубації суспензії синапсомом з ТТХ (1 мкмоль/л) або вератрином (75 мкмоль/л) протягом 10 хвилин. Вігабатрин (діапазон концентрацій 0,25–5 мМ) на 22–95 % збільшував вивільнення попередньо введеного [U-¹⁴C]-ГАМК із синапсомом

кори головного мозку щурів у залежний від концентрації спосіб. Ефект вігабатрину пригнічувався ТТХ і блокувався верапамілом. При попередньому введенні тваринам вігабатрину за 14 днів, вивільнення ГАМК із синапсом значно збільшувалося. Вміст ГАМК у тканині також значно збільшився. Змін концентрації інших амінокислотах не відбулося.

Тест на поглинання ГАМК: після інкубації суспензії синапсом у присутності або відсутності вігабатрину або ТТХ (1 мкмоль/л) протягом 5 хвилин додавали [$U-^{14}C$]-ГАМК (кінцева концентрація 1 мкмоль/л) та інкубували ще протягом 2 або 5 хвилин. Вігабатрин пригнічував поглинання [$U-^{14}C$]-ГАМК на 52 % при концентрації 5 мМ. ТТХ пригнічував інгібуючий вплив вігабатрину на поглинання ГАМК.

Вплив вігабатрину на моделі епілепсії у тварин

Модель аудіогенних первинних нападів

Дослідники вивчали вплив вігабатрину на аудіогенні первинні напади у генетично чутливих до звуку мишей DBA/2. Самців і самок мишей DBA/2 (n = 10–13/група) віком від 15 до 23 днів використовували для дослідження аудіогенних первинних нападів, а самців мишей CD-1 використовували для біохімічного тесту. Вігабатрин вводили інтраперитонеально одноразово, 3 рази кожні 24 години або 5 разів кожні 12 годин, а через 4 години після останнього введення протягом 30 секунд генерували звук частотою 20 кГц та інтенсивністю 101 дБ, щоб викликати первинний аудіогенний напад. Було продемонстровано інгібуючий залежний від часу і дози вплив вігабатрину на первинні аудіогенні напади у мишей DBA/2. 50 % ефективна доза (ED_{50}) вігабатрину щодо зменшення частоти нападів та інтенсивності судом через 4 години після одноразового інтраперитонеального введення становила 990 і 540 мг/кг відповідно. Вплив на частоту та інтенсивність нападів значно посилювався при повторних введеннях вігабатрину з ED_{50} 280 та 146 мг/кг/добу при введенні 3 рази з 24-годинними інтервалами та 5 разів з 12-годинними інтервалами відповідно. При введенні 1500 мг/кг вігабатрину напади майже повністю припинилися через 4 години після введення, а 56 % – навіть через 72 години. Тривалість нападів корелювала з підвищенням рівня ГАМК у головному мозку, спостерігалася достовірна кореляція між концентрацією ГАМК у головному мозку та частотою нападів.

Модель медикаментозно індукованих судом

Шеститижневим самцям мишей CD-1 (n = 10/група) перорально вводили дистильовану воду (нейтральне середовище) або вігабатрин 500, 1000 і 1500 мг/кг. Через 4 години інтраперитонеально вводили засоби, що провокують судом: пентилентетразол (PTZ) (100 мг/кг), меркаптопропіонову кислоту (МРА) (40 мг/кг) або пікротоксин (РТХ) (4 мг/кг). У більшості тварин контрольної групи спостерігалися спричинені РТЗ

судоми, як клонічні, так і тонічні. 7 із 10 випадків були летальними. Вігабатрин зменшував частоту тонічних судом, але не змінював інші типи судом. При судамах, спричинених МРА, вігабатрин не впливав на виникнення тонічних спазмів, але зменшував розвиток клонічних судом. При індукованих РТХ судамах вігабатрин зменшував виникнення тонічних і клонічних судом.

Модель судом, індукованих високим тиском кисню

Самцям мишей Swiss Albino (n = 10–20/група) після 18-годинного голодування одноразово внутрішньом'язово вводили вігабатрин 800 мг/кг. Через 4 або 24 години після введення мишей поміщали в камеру, підвищували тиск повітря до 5,44 атм і вимірювали час до появи генералізованих судом. Вігабатрин зменшував судоми на 90 % через 4 години після введення. Цей ефект зникав через 24 години.

Модель спонтанної епілепсії щурів (SER)

12-16-тижневим щурам із SER (n = 4–8) вживили електроди у кору головного мозку та гіпокамп. Стимуляцію проводили на вдиху тварини кожні 5 хвилин, і тварин, у яких спостерігалось 4 або більше тонічних судоми протягом 30 хвилин, використовували для експерименту. Після одноразового введення вігабатрину 50, 100 або 250 мг/кг підраховували судоми при стимуляції електродів за ритмом дихання через 15 хвилин, 1, 2, 3, 4 і 5 годин і 1, 2, 3, 4 дні після введення. Напади абсансів на ЕЕГ-кривій визначали за комплексом «спайк-хвиля» з частотою від 5 до 7 Гц тривалістю 1,5 с або довше і вимірювали їх кількість протягом 30 хвилин. Бікукулін 1 мг/кг вводили інтраперитонеально через 4 години після введення вігабатрину, і кількість тонічних судомних нападів, спричинених стимуляцією, вимірювали через 5 годин, щоб дослідити антагоністичний ефект. Вігабатрин значно зменшував тонічні судоми через 2 години після введення дозою 250 мг/кг, і цей ефект був максимальним через 1 день і тривав приблизно 3 дні. Напади абсансів значно зменшувалися при дозі 100 мг/кг через 2 години після введення, але ефект зникав через 1 день. Протисудомний ефект вігабатрину порушувався дією бікукуліну. При багаторазовому застосуванні вігабатрину дозою 200 мг/кг/добу протягом 5 днів спостерігалось значне зменшення тонічних судом через 2 дні, що утримувалося до 2 днів після останнього введення.

Фармакологічна активність енантіомерів

Оскільки вігабатрин є рацематом, було досліджено фармакологічну активність R-енантіомеру (далі – R-форма) та S-енантіомеру (далі – S-форма).

Інгібуючий вплив на активність ГАМК-Т

У дослідженні *in vitro* ГАМК-Т виділяли з головного мозку свиней та вимірювали активність ферменту. У дослідженні *in vivo* мишам Swiss albino (n = 5/група) інтраперитонеально вводили

	<p>фізіологічний розчин (нейтральне середовище), 1500 мг/кг вігабатрину (рацемічну суміш) і 750 мг/кг R- або S-форми. Внутрішньомозкову активність ГАМК-Т, активність ГАД та внутрішньомозкову концентрацію ГАМК вимірювали через 5 днів після введення.</p> <p>Активність ГАМК-Т при застосуванні 1 ммоль/л рацемату та 0,5 ммоль/л S-форми знижувалася протягом однакового періоду часу. При застосуванні R-форми виявлено слабкий інгібуючий ефект у концентрації 5 та 10 ммоль/л. У мишей одноразове інтраперитонеальне введення 1500 мг/кг вігабатрину (рацемічного) та 750 мг/кг S-форми знижувало активність ГАМК-Т і ГАД у мозку однаковою мірою та підвищувало концентрацію ГАМК. З іншого боку, при введенні 750 мг/кг R-форми спостерігалось тимчасове слабке пригнічення активності ГАМК-Т, але майже не спостерігалось впливу на активність ГАД та концентрацію ГАМК.</p> <p><i>Протиепілептичний ефект</i></p> <p><u>Судоми, індуковані бікукуліном</u></p> <p>Бікукулін (0,55 мг/кг) вводили внутрішньовенно одноразово самкам мишей CD-1 (n = 10–20/група) і протягом 2 хвилин після введення відмічали наявність або відсутність судом. Вігабатрин (рацемічний) 100, 150, 200, 250, 300 мг/кг, S-форму 25, 50, 75, 100, 125 мг/кг, R-форму 1000 мг/кг вводили інтраперитонеально за 5 годин до введення бікукуліну. Контрольній групі інтраперитонеально вводили фізіологічний розчин. Вігабатрин (рацемічний) і S-форма пригнічували індуковані бікукуліном судоми з ED₅₀ 221 мг/кг і 85 мг/кг відповідно. Не виявлено протисудомного ефекту R-форми у дозі 1000 мг/кг.</p> <p><u>Модель судом, індукованих меркаптопропіоновою кислотою</u></p> <p>Фізіологічний розчин, вігабатрин (рацемічний) (100, 125, 150, 200, 250 і 300 мг/кг) або S-форму (25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг) вводили самцям мишей CD-1 (n = 10/група) інтраперитонеально у вигляді одноразової дози. Через 5 годин інтраперитонеально вводили 40 мг/кг 3-меркаптопропіонової кислоти, і через 30 хвилин спостерігалися клонічні судоми, тонічні судоми або смерть. Вігабатрин (рацемічний) і S-форма пригнічували судоми у залежний від дози спосіб з ED₅₀ 200 і 100 мг/кг відповідно.</p>
2) вторинна фармакодинаміка	<p><u>Вплив на відчуття болю у мишей (метод стимуляції тиском)</u></p> <p>5-тижневих самців мишей CD-1 (n = 10/група) використовували після голодування протягом приблизно 17 годин. Дистильовану воду (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 500 і 2000 мг/кг вводили перорально одноразово і вимірювали больовий поріг у 8 часових точках від 60 до 480 хвилин після введення. Вігабатрин дозою 2000 мг/кг значно підвищив больовий поріг через 180–480 хвилин після введення порівняно з дистильованою водою.</p> <p><u>Вплив на спонтанну ЕЕГ</u></p>

Самцям кролів виду JW (n = 4/група) віком від 10 до 11 тижнів під анестезією пентобарбіталом (шляхом інтраперитонеального введення) вживляли електроди для запису ЕЕГ та електроміограми. Після щонайменше 19 годин голодування кролям вводили перорально воду для ін'єкцій (нейтральне середовище, n = 12) або вігabatрин 125, 500 і 2000 мг/кг (n = 4/група). ЕЕГ реєстрували протягом 30 с під час однієї з чотирьох стадій: бадьорість, спокій, сон з веретеноподібними хвилями або парадоксальний сон, щоб створити картину циклу сон-бадьорість. Потім була розрахована частка (%) часу кожної стадії протягом 8-годинного періоду. Продемонстровано, що вігabatрин впричиняє седацію у дозі 500 мг/кг зі зменшенням бадьорості та збільшенням «сонних веретен» на ЕЕГ. При дозі 2000 мг/кг спостерігалася седація, а на ЕЕГ виявлено зменшення активності бадьорості, подовження стану спокою або поверхневого сну та зменшення парадоксального сну.

Вплив на спинномозкові рефлекси

Використовували самців щурів SD (n = 5–6/група). Під анестезією розрізали дорсальний корінець 5-го поперекового сегменту спинного мозку, його центральну частину, а також вентральний корінець з того самого боку стимулювали електричним струмом з прямокутним імпульсом 0,2 Гц, 0,1 мс, 0,26–1,56 В. Потім реєстрували потенціал спинномозкового рефлексу. Фізіологічний розчин або вігabatрин дозою 100, 200 і 400 мг/кг вводили у стегно внутрішньом'язово. Вігabatрин не впливав на моносинаптичні та мультисинаптичні рефлекси.

Провокуючий дискінезію ефект

Було виявлено, що вігabatрин індукує виникнення патологічних мимовільних рухів, «дискінезії», при односторонньому введенні в смугасте тіло щурів. Тому було зроблено припущення, що вігabatрин може мати два протилежні ефекти на ГАМК-ергічну систему: підвищення концентрації ГАМК у головному мозку внаслідок пригнічення активності ГАМК-Т та антагоністичний вплив на ГАМК-рецептори при застосуванні у високих дозах.

Вплив на автономну та соматичну нервову систему

1) Вплив на діаметр зіниці щурів

Самцям щурів SD перорально вводили 300 мг/кг дистильованої води або вігabatрину і піддавали дії світла інтенсивністю 108 люкс або 431 люкс через 30 хвилин, 1, 2, 3 і 4 години після введення. Вимірювали діаметр зіниці. В якості контролю застосовували атропін 1,0 мг/кг перорально. Атропін значно збільшив діаметр зіниці порівняно з дистильованою водою, а вігabatрин не чинив будь-якого впливу.

2) Вплив на нервово-м'язове з'єднання

Готували зразки нервово-м'язового апарату анестезованих самців щурів SD (n = 5–6/група), а потім через канюлю в ліву стегнову вену вводили фізіологічний розчин або вігabatрин 50,

	<p>100, 200 і 400 мг/кг. Досліджували вплив на скорочення литкового м'яза стимуляції сідничного нерва електричним струмом. Вігабатрин не впливав на скорочення м'язів у нервово-м'язових зразках.</p> <p>3) Релаксація м'язів</p> <p>Реакцію Штрауба (ступінь підняття хвоста) та тест ротарод (rotarod test) проводили на самцях мишей CD-1 (n = 10/група). Інтраперитонеально вводили дистильовану воду (нейтральне середовище) або вігабатрин 200, 400, 800 і 1600 мг/кг, а через 1–60 годин підшкірно вводили 60 мг/кг сульфату морфіну. Реакцію підняття хвоста оцінювали через 15 хвилин. Крім того, вводили нейтральне середовище та вігабатрин 50, 100 і 200 мг/кг двічі на добу протягом 3 днів і реакцію Штрауба оцінювали через 16 годин після останнього введення. Групам мишей, досліджуваним на ротарод, вігабатрин вводили за тією ж схемою. Через 4 години після введення сьомої дози проводили оцінку реакції Штрауба. Потім проводили тест на ротарод. Вігабатрин у залежній від дози спосіб пригнічував реакцію підняття хвоста, спричинену підшкірним введенням морфіну сульфату 60 мг/кг. Крім того, у тесті на ротарод спостерігалось зниження рухливості. Ефект був найсильнішим через 4 години після введення вігабатрину (ED₅₀: у реакції Штрауба 813 мг/кг, у тесті ротарод 674 мг/кг), послабився через 16 годин і зник через 24 години. З іншого боку, у дослідженнях з багаторазовим введенням вігабатрину спостерігався незначний ефект або відсутність ефекту.</p>
3) фармакологія безпеки	<p><i>Вплив на загальні симптоми та поведінку щурів</i></p> <p>6-тижневим самцям щурів SD (n = 5/група) після 18 годин голодування перорально вводили дистильовану воду (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 250, 500, 1000 і 2000 мг/кг. Через 8 годин оцінювали загальні симптоми за методом Ірвіна. Через тиждень виживших тварин піддавали евтаназії та аутопсії.</p> <p>Результати: вігабатрин 250 і 500 мг/кг: слюзотеча в 1/5 випадку, 1000 мг/кг: слюзотеча в 3/5 випадках, гіперсалівація в 2/5 випадках, 2000 мг/кг: слюзотеча і гіперсалівація в 3/5 випадках. При дозі 2000 мг/кг спостерігалось значне зниження температури тіла через 2–6 годин, а при дозі 1000 і 2000 мг/кг – значне зниження частоти дихання. При дозі 2000 мг/кг спостерігалось зменшення екзофтальму, зниження пильності та сонливості. Зменшення приросту маси тіла спостерігалось при дозі 500 мг/кг і вище. При аутопсії через тиждень після введення виявлено збільшення селезінки при дозі 125 мг/кг, часткова спайка між дванадцятипалою або тонкою кишкою та товстою кишкою при дозі 1000 мг/кг, атрофія тимуса спостерігалася в одному випадку при дозі 2000 мг/кг.</p> <p><i>Вплив на центральну нервову систему (ЦНС)</i></p> <p>1) Вплив на рухову активність</p>

5-тижневим самцям мишей CD-1 (n = 10/група) перорально вводили воду для ін'єкцій (нейтральне середовище) або вігабатрин 31, 125, 500 і 2000 мг/кг. Обсяг фізичної активності визначали 8 разів кожні 15 хвилин, починаючи з 45 хвилин до 480 хвилин після введення. При дозі вігабатрину 125 мг/кг або вище спостерігалось зниження рухової активності.

2) Ефект подовження сну

5-тижневим самцям мишей CD-1 (n = 10/група) перорально вводили воду для ін'єкцій (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 500 і 2000 мг/кг. Через 240 хвилин інтраперитонеально вводили 70 мг/кг гексобарбіталу та вимірювали час до відновлення рефлексу руху вперед (forward reflex) (час сну). Тривалість сну контрольної групи становила $32 \pm 3,9$ хвилини, тоді як при введенні вігабатрину 500 і 2000 мг/кг – $68 \pm 8,6$ хвилини і $8 \pm 7,1$ хвилини відповідно, що свідчить про значне збільшення.

3) Вплив на нормальну температуру тіла

7-тижневим самцям щурів SD (n = 8/група) перорально вводили воду для ін'єкцій (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 500 і 2000 мг/кг. Ректальну температуру вимірювали 8 разів (з інтервалами 60 хвилин) від 60 до 480 хвилин після введення. При введенні вігабатрину 500 і 2000 мг/кг виявлено значне зниження температури тіла на $2,3 \text{ }^\circ\text{C}$ і $3,3 \text{ }^\circ\text{C}$ відповідно.

4) Вплив на координацію

5-тижневим самцям мишей CD-1 (n = 10/група) перорально вводили воду для ін'єкцій (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 500 і 2000 мг/кг. Час перебування на стрижні ротора (швидкість обертання: 16 об/хв) вимірювали 8 разів протягом 60–480 хвилин після введення. Введення вігабатрину 2000 мг/кг призводило до порушення координації у 2/10 тварин.

Вплив на гіперактивність, індуковану фенциклідином

Гіперактивність, індуковану фенциклідином (PCP), визначали у самців мишей CD-1 (n = 6–24/група). Інтраперитонеальну ін'єкцію PCP (5 мг/кг) або фізіологічного розчину виконували через 10 хвилин після інтраперитонеального введення вігабатрину 400 мг/кг або через 5 годин після інтраперитонеального введення вігабатрину 100, 200, 400, 600, 700 і 800 мг/кг. Обсяг фізичної активності визначали протягом 35 хвилин. При введенні вігабатрину 400 мг/кг за 10 хвилин до ін'єкції PCP не спостерігалось впливу на обсяг фізичної активності, але при введенні вігабатрину 200–700 мг/кг за 5 годин до введення PCP гіперактивність, спричинена фенциклідином, значно пригнічувалась.

Вплив на серцево-судинну та дихальну системи

1) Вплив на калієві канали hERG

Було проведено дослідження з метою аналізу *in vitro* впливу вігабатрину на канали hERG, що експресуються в клітинах

НЕК293, за допомогою методу фіксації потенціалу (patch clamp technique). Три клітини ($n = 3$) піддавали дії вігабатрину в номінальних концентраціях 100 та 300 мкг/мл при фізіологічній температурі (35 ± 2 °C). Вігабатрин у концентраціях приблизно 250 мкг/мл не спричиняв значного пригнічення потоку каналами hERG (пригнічення від 0,4 % до 0,8 %), що не відрізнялося ($P > 0,05$) від контролю ($n = 3$) – $0,1 \pm 0,4$ % пригнічення.

2) Вплив на потенціал дії волокон Пуркіньє

Вплив вігабатрину *in vitro* на потенціали дії (ПД) чотирьох ізольованих волокон Пуркіньє кролів ($n = 4$) оцінювали при номінальних концентраціях у діапазоні від 10 до 300 мкг/мл. Вігабатрин до концентрації 243 мкг/мл не змінював будь-яких параметрів потенціалу дії статистично значущим чином.

3) Вплив на параметри гемодинаміки

Вплив вігабатрину на серцево-судинну функцію оцінювали після внутрішньовенного (3–30 мг/кг) та перорального (150 мг/кг/прийом кожні 12 годин протягом 5 днів) введення. Вігабатрин не чинив суттєвого впливу на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень, внутрішньошлунковий тиск, похідну тиску за часом (dP/dT), серцевий викид, розрахований периферичний опір судин, тиск у лівому та правому передсерді або на ЕКГ безпородних собак незалежно від статі.

Вігабатрин, введений собакам внутрішньовенно у вигляді кумулятивних доз (10, 30, 70 і 150 мг/кг), не змінював серцево-судинні параметри. У щурів при введенні дозою 50 мг/кг вігабатрин мав незначний гіпертензивний ефект, який не посилювався при введенні наступних доз.

Вплив вігабатрину на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень, кровотік у стегновій артерії і частоту дихання досліджували на самцях собак породи бігль під анестезією натрію пентобарбіталом. Фізіологічний розчин (1 мл/кг) вводили внутрішньовенно через канюлю в праву стегнову вену, а через 50 хвилин послідовно вводили вігабатрин 50, 100 і 200 мг/кг з 50-хвилинними інтервалами ($n = 4$). У дослідженнях з антагоністами ГАМК вігабатрин дозою 100 мг/кг внутрішньовенно вводили через 10 хвилин після внутрішньовенного введення 5-аміновалеріанової кислоти (10 мг/кг). У цьому дослідженні також вимірювали дихальний об'єм (хвилинна вентиляція легень) ($n = 3$).

При внутрішньовенному введенні вігабатрину 50, 100 і 200 мг/кг продемонстровано транзиторне зниження артеріального тиску у 2 з 4 тварин, але середні значення не було значущим. Спостерігався мінімальний вплив на частоту серцевих скорочень. Вігабатрин збільшував кровотік у стегновій артерії при дозах 50, 100 та 200 мг/кг у залежній від дози спосіб, з підвищенням відповідно на 81 ± 28 , 125 ± 38 та 143 ± 44 % через 1 хвилину після введення.

Судинний опір стегнової артерії зменшився у відповідь на зміни кровотоку.

Вігабатрин збільшив частоту дихання на 41 ± 13 , 106 ± 46 та 143 ± 59 % через 1 хвилину після введення 50, 100 та 200 мг/кг відповідно. Підвищення кровотоку у стегновій артерії, збільшення частоти дихання та хвилинної вентиляції легень, а також зниження судинного опору при застосуванні вігабатрину 100 мг/кг пригнічувалися при введенні 5-аміновалеріанової кислоти.

Вплив на транспорт вздовж шлунково-кишкового тракту

5-тижневим самцям мишей CD-1 ($n = 8$ /група) перорально вводили дистильовану воду (нейтральне середовище) або вігабатрин 500, 1000 і 2000 мг/кг. Через 30 хвилин перорально вводили 10 мл/кг суспензії 5% порошку активованого вугілля у 0,5% розчині карбоксиметилцелюлози і через 30 хвилин після цього проводили евтаназію. Вігабатрин не впливав на транспортну здатність шлунково-кишкового тракту мишей.

Вплив на водно-електролітний обмін

1) Вплив на об'єм сечі та екскрецію електролітів у щурів

7-тижневим самцям щурів SD ($n = 8$ /група) перорально вводили воду для ін'єкцій (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 250, 500 і 2000 мг/кг в об'ємі 10 мл/кг. Відразу після цього робили ін'єкцію 25 мл/кг води. Після цього збирали сечу протягом 8 годин, виміряли об'єм сечі, рН та концентрацію електролітів у сечі (Na^+ , K^+ , Cl^-). Вігабатрин 2000 мг/кг підвищував діурез і виведення Na^+ , K^+ і Cl^- .

6-тижневим самцям щурів SD ($n = 9$ /група) перорально вводили фізіологічний розчин (нейтральне середовище) або вігабатрин 125, 250, 500 і 1000 мг/кг в об'ємі 30 мл/кг. Потім збирали сечу до 2 годин після введення, від 2 до 6 годин після введення та від 6 до 24 годин після введення і вимірювали об'єм сечі, рН та концентрацію електролітів у сечі (Na^+ , K^+ , Cl^-). Вігабатрин 500 і 1000 мг/кг підвищував діурез і виведення Na^+ , K^+ і Cl^- через 2 години після введення. Через 2–6 годин після введення не спостерігалось впливу на об'єм сечі та масову частку кожного електроліту, за винятком збільшення екскреції K^+ при 1000 мг/кг. Через 6–24 години після введення спостерігалось зменшення масової частки електролітів при 500 і 1000 мг/кг, а також зменшення об'єму сечі при 1000 мг/кг.

3) Вплив на концентрацію електролітів у сироватці крові щурів

6-тижневим самцям щурів SD ($n = 8$ –10/група) перорально вводили фізіологічний розчин (нейтральне середовище) або вігабатрин 250, 500 і 1000 мг/кг. Через 1 і 4 години після введення збирали зразки крові та вимірювали концентрації Na^+ , K^+ і Cl^- у сироватці крові. Концентрація Na^+ у сироватці крові збільшувалася через 1 годину після введення при дозах 500 і

	<p>1000 мг/кг, при 1000 мг/кг концентрація Na⁺ у сироватці крові зросла, а концентрація Cl⁻ знизилася через 4 години.</p> <p><i>Вплив на гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову систему</i></p> <p>Самців щурів досліджували після тривалого введення вальпроату натрію (1 г/л протягом 3 тижнів або 3 місяців) або короткочасного введення вігабатрину (одноразова інтраперитонеальна ін'єкція 1 г/кг або 250 мг/кг). Гіпоталамус гомогенізували для вимірювання рівня кортикотропін-релізинг фактору (КРФ) та рівнів амінокислот. Тканину гіпофіза інкубували в розчині Кребса, додавали КРФ (21,4 нмоль/л) або аргінін-вазопресин (АВП) (115 нмоль/л) і вимірювали кількість вільного АКТГ. Введення вігабатрину 250 і 1000 мг/кг значно підвищувало концентрацію ГАМК у гіпоталамусі, введення 1000 мг/кг зменшувало рівень КРФ приблизно на 50 % і пригнічувало підвищення АКТГ у плазмі крові. Вігабатрин дозою 1000 мг/кг пригнічував базальний рівень та вивільнення АКТГ, стимульоване КРФ або АВП.</p>
4) фармакодинамічні взаємодії	Дослідження з вивчення фармакодинамічних взаємодій не проводились.
3. Фармакокінетика:	
1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації	<p>Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для кількісного вимірювання вігабатрину в плазмі крові та сечі – звіт С-83-0002-D.</p> <p>Метод рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (РХ-МС/МС) для визначення вігабатрину в плазмі крові щурів – звіт DMPK/FRA/2002-0106.</p> <p>Метод газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ-МС) з використанням хіральної колонки для вимірювання концентрації S- та R-форм у плазмі крові, спинномозковій рідині (СМР) та тканині головного мозку щурів – звіт S-92-0036-D.</p>
2) всмоктування	<p>При пероральному введенні ¹⁴C-вігабатрину щурам дозою 300 мг/кг концентрації у плазмі крові як загальної радіоактивності, так і незміненого препарату досягали максимуму (C_{max}) через 0,5 години після введення, після чого обидві концентрації були майже однаковими.</p> <p>При пероральному введенні собакам ¹⁴C-вігабатрину дозою 50 мг/кг незмінена форма досягала C_{max} (88–123 мкг/мл) через 0,25–1 годину. При пероральному введенні 300 мг/кг незмінений препарат досяг C_{max} (405–531 мкг/мл) через 0,5–1 годину після введення. Максимальна концентрація загальної радіоактивності була подібною і майже однаковою з концентрацією незміненого препарату через 3 години після перорального введення. Протягом 12 годин після перорального або внутрішньовенного введення концентрація в плазмі крові незміненої форми знизилася приблизно до 1/200.</p>

	<p>При пероральному введенні ^{14}C-вігабатрину 50 мг/кг мавпам вігабатрин визначався у незмінній формі через 2–3 години, досягши C_{max} (8–27 мкг/мл). При пероральному введенні 300 мг/кг незмінений препарат досяг C_{max} (37–43 мкг/мл) через 1–3 години після введення. Зміна загальної радіоактивності була такою ж, як концентрація незміненого препарату, досягнувши максимальної концентрації після перорального або внутрішньовенного введення через 2–3 години.</p> <p>Всмоктування перорально введеного вігабатрину у щурів і собак було майже повним при обох дозах – 50 мг/кг і 300 мг/кг. Дані щодо виділення з сечею у мавп показали, що всмоктування вігабатрину після перорального застосування у цього виду тварин було неповним і залежним від дози (швидкість всмоктування була низькою при високих дозах). Крім того, визначення швидкості виведення радіоактивності з фекаліями при введенні ^{14}C-вігабатрину мавпам підтвердило, що всмоктування вігабатрину було неповним при пероральному введенні цього виду тварин.</p> <p>Було з'ясовано, що вігабатрин швидко всмоктувався з t_{max} упродовж 1 години як у щурів, так і у собак. Значення $\text{AUC}_{0-\infty}$ в обох видів тварин збільшувалося пропорційно дозі. У щурів і собак біодоступність перорально введеного вігабатрину становила майже 100 %.</p> <p>Час досягнення максимальної концентрації (t_{max}) (1–3 години) при пероральному введенні одноразової дози вігабатрину мавпам був довшим, ніж у щурів і собак, а C_{max} була нижчою, ніж у цих двох видів тварин. У дослідженні на мавпах значення $\text{AUC}_{0-24 \text{ год}}$ для одноразового перорального введення вігабатрину дозами 50 і 260 мг/кг становило $54,6 \pm 14,5$ і 203 ± 66 мкг·год/мл відповідно, і збільшувалося залежно від дози.</p>
3) розподіл	<p><u>Розподіл у тканинах</u> <u>Розподіл у тканинах ^{14}C-вігабатрину при пероральному введенні щурам</u></p> <p>Щурам-альбіносам SD і пігментованим щурам Long-Evans (LE) вводили одноразову дозу ^{14}C-вігабатрину 60 мг/кг. У більшості з досліджуваних тканин (включаючи плазму крові та еритроцити) концентрація радіоактивності досягала максимуму протягом 0,5 години після введення. Найдовший t_{max} визначався в тканинах очей, у яких C_{max} було досягнуто через 1 годину після введення.</p> <p>Найвища концентрація радіоактивності визначена у шлунку (через 15 хвилин після введення: 1022 мкг екв/г, не враховуючи вміст шлунка), наступними за концентрацією тканинами були печінка (30 хвилин після введення: 257 мкг екв/г) і тонкий кишечник (30 хвилин після введення: 154 мкг екв/г, не враховуючи вміст). C_{max} в усіх інших тканинах становила менше 100 мкг екв/г.</p> <p>Крім того, ^{14}C-вігабатрин вводили перорально щурам LE одноразовою дозою 60 мг/кг і вимірювали концентрації</p>

радіоактивності в плазмі крові, шкірі та тканинах ока. Значення $AUC_{0-\infty}$ і кінцевого періоду напіввиведення $t_{1/2z}$ для тканин ока і шкіри були вищими у щурів LE, ніж у щурів SD. Ці результати свідчать, що ^{14}C -вігабатрин або метаболіти мають спорідненість до пігментних компонентів тканин ока або шкіри і повільно виводяться з пігментованих тканин.

Концентрація в головному мозку та плазмі крові

3Н-вігабатрин вводили щурам перорально дозою 50 або 300 мг/кг один раз на добу протягом тижня для вимірювання концентрації в тканині головного мозку та плазмі крові. Враховувалося, що вігабатрин в головному мозку досягає рівноважного стану до третього введення. Внутрішньомозкові мінімальні концентрації вігабатрину у рівноважному стані коливалися від 0,8 до 1,2 нмоль/г при дозі 50 мг/кг і від 16 до 19 нмоль/г при дозі 300 мг/кг. C_{max} була пропорційною дозі.

Також вимірювали концентрації S- і R-форм у плазмі крові та головному мозку після багаторазового перорального введення рацемічного 3Н-вігабатрину щурам. Концентрації цих двох енантіомерів у плазмі крові були приблизно однаковими в усіх часових точках. Однак, щодо концентрації в головному мозку, концентрація S-форми, яка є активним енантіомером, зазвичай була вищою, ніж концентрація R-форми, яка є неактивним енантіомером.

Розподіл у сітківці ока

Концентрацію вігабатрину в сітківці ока вимірювали під час токсикологічного дослідження на щурах, яким перорально вводили вігабатрин 100, 300 мг/кг протягом 13 тижнів. На момент вимірювання рівні вігабатрину в сітківці значною мірою залежали від дози і становили менше 1/5 середньої C_{max} у плазмі крові.

Концентрація вігабатрину в СМР

Вігабатрин вводили щурам і собакам дозами 50, 100, 200 мг/кг (собаки) або 300 мг/кг (щури) один раз на добу протягом 16 тижнів і вимірювали концентрацію вігабатрину в СМР. І у щурів, і у собак концентрація вігабатрину в СМР досягала рівноважного стану у межах 2 тижнів. Концентрація вігабатрину в СМР собак була вищою, ніж у щурів.

Концентрація вігабатрину в ЦНС

У дослідженні хронічної токсичності на мавпах вігабатрин вводили перорально дозами 50, 100 або 300 мг/кг/добу. Період введення становив 6 років у групі, яка отримувала 50 або 100 мг/кг/добу, і 16 місяців у групі, яка отримувала 300 мг/кг/добу. Рівні вігабатрину в СМР збільшувалися зі збільшенням дози як у самців, так і у самок. Концентрація вігабатрину в СМР у двох групах низьких доз була вищою у самок, ніж у самців, але в групі високих доз рівні суттєво не відрізнялися між статтю.

	<p>В іншому дослідженні вимірювали концентрацію вігабатрину в СМР та в корі головного мозку мавп, які отримували вігабатрин дозою 300 мг/кг протягом 16 місяців. Діапазон концентрацій вігабатрину в СМР мавп становив від 10,20 до 17,31 нмоль/мл (середнє значення \pm стандартне відхилення [СВ]: $13,17 \pm 3,06$ нмоль/мл), а діапазон концентрацій вігабатрину в корі головного мозку становив від 2,4 до 7,2 нмоль/г (середнє значення \pm СВ: $4,2 \pm 1,9$ нмоль/г).</p> <p><i>Зв'язування з білками</i></p> <p>Ступінь зв'язування вігабатрину з білками сироватки крові людини вимірювали <i>in vitro</i> за допомогою рівноважного діалізу. Не спостерігалось зв'язування з білками сироватки крові у жодній з досліджених концентрацій препарату (20 і 100 мкмоль/л).</p> <p>Крім того, не спостерігалось зв'язування вігабатрину з білками сироватки крові <i>in vivo</i> у досліджуваному діапазоні концентрацій (від 13 до 1378 мкмоль/л) до 8 годин після введення щурам SD.</p> <p><i>Проникнення через плаценту</i></p> <p>Досліджено проникнення вігабатрину через плаценту на безпородних мишах Theiler (ТО). Одноразову дозу 400 мг/кг вігабатрину, розчиненого у фізіологічному розчині, інтраперитонеально вводили мишам на 10 день вагітності для визначення рівнів вігабатрину в крові матері, плода та тканині плаценти через 3,5, 6 та 9 годин після введення. Передача вігабатрину плоду була незначною, але рівні вігабатрину в плаценті були вищими, ніж у крові плода. Через 6 і 9 годин після введення значення не можна було виміряти, оскільки вони перекривалися з піками інших речовин.</p>
4) метаболізм	<p>Після введення одноразової дози ^{14}C-вігабатрину 50 або 300 мг/кг щурам, собакам і мавпам порівнювали швидкість виведення із сечею радіоактивності та незміненого препарату протягом 48 годин. У всіх досліджуваних групах більша частина введеної радіоактивності виводилася із сечею у формі незміненого препарату. Таким чином, було продемонстровано, що метаболізм вігабатрину був надзвичайно низьким у всіх досліджуваних видів тварин.</p> <p>Профіль біотрансформації оцінювали у сечі за допомогою методу радіохроматографії. Невеликі кількості одного або двох метаболітів були виявлені у щурів, собак і мавп. Метаболіт 1 не ідентифікований. Метаболіт 2, виявлений у собак і людини, був ідентифікований як лактам вігабатрину (5-вініл-2-піролідінон) і є продуктом розпаду, який утворюється у водному розчині.</p>
5) виведення	<p>При пероральному та внутрішньовенному введенні ^{14}C-вігабатрину щурам у зібраних від 0 до 120 годин сечі, фекаліях та рідині після промивання кліток виявлено відповідно 91–93 % та 94–96 % від початкової дози радіації.</p> <p>Крім того, при пероральному введенні ^{14}C-вігабатрину щурам у середньому 94 % введеної радіоактивності виводилося із сечею, а</p>

	<p>2% – з фекаліями у перші 24 години після введення. До кінця 72-годинного періоду відбору проб було виведено загалом 97 % введеної радіоактивності.</p> <p>При пероральному та внутрішньовенному введенні ¹⁴C-вігабатрину собакам у зібраних сечі, фекаліях та рідині після промивання кліток виявлено від 91 до 93 % від початкової дози радіоактивності через 120 годин. Більша частина дози виводилася із сечею протягом 12 годин.</p> <p>При пероральному та внутрішньовенному введенні ¹⁴C-вігабатрину мавпам загалом від 90 до 95 % введеної радіоактивності виявлялося в сечі та фекаліях через 120 годин після введення. При внутрішньовенному введенні більша частина радіоактивності виявлялася в сечі. При пероральному введенні 50 мг/кг і 300 мг/кг приблизно 40 % і 23 % радіоактивності виділялося з сечею і приблизно 50 і 70 % радіоактивності виділялося з фекаліями відповідно. Вігабатрин виводився переважно нирками у незміненому вигляді. Сукупна ступінь виведення із сечею незміненого препарату до 72 годин коливалася від 82 до 90 % при внутрішньовенному введенні та від 15 до 29 % при пероральному введенні.</p>
<p>б) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)</p>	<p>Вплив вігабатрину на активність печінкових ферментів цитохрому Р-450, що метаболізують лікарські засоби, досліджено на самцях щурів CD. Вігабатрин вводили перорально дозою 30, 100 або 300 мг/кг/добу протягом 4 днів; усі тести були проведені після останнього введення. Вимірювали активність цитохрому Р-450, активність N-деметилування стилморфіну, активність гідроксилювання аніліну, кількість мікосомальних білків та відносну масу печінки. Тест повторювали тричі. У експерименті I рівень Р-450 у печінці дещо знизився до діапазону від 72,4 до 81,0 % від контрольних значень у всіх групах дозування. При найвищій дозі (300 мг/кг/добу) активність N-деметилування стилморфіну та активність гідроксилювання аніліну знизилися до 64,0 % та 71,9 % від контрольних значень відповідно. У експерименті II відносна маса печінки знизилася до 90,2 % від контрольних значень при дозі 300 мг/кг/добу, а гідроксилювання аніліну збільшилося на 124,8 % і 142,5 % порівняно з контролем при дозах 100 і 300 мг/кг/добу відповідно. У експерименті III спостерігалось подібне зниження відносної маси печінки, але активність гідроксилювання аніліну знизилася на 77,2 % і 73,2 % від контрольних значень у групах 100 і 300 мг/кг/добу відповідно. Крім того, концентрація цитохрому Р-450 була нижчою, ніж контрольне значення як у групі 100 мг/кг/добу (83,3 %), так і в групі 300 мг/кг/добу (85,6 %).</p> <p>Крім того, одноразову дозу вігабатрину 30 і 100 мг/кг вводили перорально і оцінювали вплив на кількість ферментів цитохрому Р-450, що метаболізують лікарські засоби, і мікосомальних білків через 4 години після введення. У цьому дослідженні не</p>

	виявлено відмінностей від контрольної групи. Ці результати свідчать, що вігабатрин має мінімальну здатність індукувати печінкові ферменти, що метаболізують лікарські засоби.
7) інші фармакокінетичні дослідження	Рівні вігабатрину в плазмі крові оцінювали в 4-тижневому дослідженні токсичності щодо органів зору при пероральному застосуванні нестатевозрілим щурам SD. Нестатевозрілі щури SD (віком 4 дні на початку дослідження) отримували перорально через зонд один раз на добу воду для ін'єкцій (контрольна група) від 1 до 28 дня введення або вігабатрин дозою 30 мг/кг/добу з 1 до 10 дня, а потім 30, 50 або 100 мг/кг/добу з 11 до 28 дня введення препарату. Зразки крові для визначення концентрацій в плазмі крові досліджуваного препарату були отримані від 3 нестатевозрілих щурів кожної статі у кожній часовій точці (через 1, 2 і 4 години після введення дози на 28 день) і від усіх тварин – через 22–25 годин після останнього введення під час аутопсії. C_{max} і AUC збільшувалися при введенні препарату від рівня дози 30-30 до 30-100 мг/кг. Це збільшення було пропорційним дозі. Не було виявлено різниці в експозиції за статтю при застосуванні трьох рівнів доз.
4. Токсикологія:	
1) токсичність у разі одноразового введення	<p><i>Токсичність у разі одноразового перорального введення мишам і щурам</i></p> <p>Гостру токсичність при пероральному застосуванні двох серій вігабатрину (MDL71.754-118 і MDL71.754-130) оцінювали на мишах і щурах (по 80 самців і самок кожного виду). Досліджувані лікарські засоби у вигляді одноразової дози вводили через зонд дозами від 1000 до 5000 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 14 днів після введення. Половинні летальні дози (LD_{50}) для серії MDL 71.754-118 становили 3354 мг/кг (миші) і 4056 мг/кг (щури); LD_{50} для серії MDL71.754-130 становили 3345 мг/кг (миші) і 3932 мг/кг (щури). Смерть наступала при дозах ≥ 2500 мг/кг як для мишей, так і для щурів, при введенні обох серій. Основною клінічною ознакою, пов'язаною з препаратом, була депресія (усі дози – щури, 2500–5000 мг/кг – миші). Постійними ознаками при аутопсії тварин, знайдених мертвими, були виразки шлунка та/або темна рідина в шлунково-кишковому тракті. У тварин, яких умертвили на 14-й день, не спостерігалось будь-яких ознак, пов'язаних з препаратом.</p> <p><i>Дослідження гострої токсичності при пероральному та інтраперитонеальному введенні щурам і мишам</i></p> <p>Вігабатрин перорально вводили мишам і щурам разовою дозою у діапазоні від 2500 до 5000 мг/кг та інтраперитонеально в діапазоні від 1200 мг/кг до 3000 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 14 днів після введення. Пероральна LD_{50} для щурів і мишей становила 3100 мг/кг і 2830 мг/кг відповідно. LD_{50} після інтраперитонеального введення щурам і мишам становила</p>

	<p>1473 мг/кг і 1028 мг/кг відповідно. Депресія спостерігалася як у щурів, так і у мишей. Пілоерекція спостерігалася лише у щурів.</p> <p><i>Дослідження гострої токсичності при інтраперитонеальному введенні дорослим мишам</i></p> <p>Мишам інтраперитонеально вводили вігабатрин у вигляді одноразової дози в діапазоні від 1000 до 3500 мг/кг з інтервалами у 500 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 14 днів. Було встановлено гостру LD₅₀ для зрілих мишей на рівні 2447 мг/кг. У всіх тварин, які отримували вігабатрин, спостерігалася депресія з тяжкістю залежно від дози від легкої при дозі 1000 мг/кг до тяжкої при дозі 3000 мг/кг. Судоми спостерігалися у 2/10 мишей у групі дозування 3000 мг/кг та у 1/10 мишей у групі дозування 3500 мг/кг. При аутопсії виявлено незначну кількість рідини в грудній порожнині мишей, які отримували дози 2500 мг/кг або вище, але жодних відхилень від норми не спостерігалася у виживших тварин.</p> <p><i>Гостра LD₅₀ вігабатрину при інтраперитонеальному введенні мишам</i></p> <p>Вігабатрин інтраперитонеально вводили мишам CD-1 (ICR) (n = 10 самців/група) у вигляді одноразової дози в діапазоні від 2000 до 3500 мг/кг. За тваринами спостерігали до 7 днів після введення. Гостра LD₅₀ у цьому дослідженні становила 3000 мг/кг. Смерть наступала у період від 10 годин до 4 днів після ін'єкції. При більш високих дозах у мишей спостерігалася виражена седація, кататонія і згорблена поза.</p>
2) токсичність у разі повторних введень	<p><i>Дослідження з визначення діапазону доз на щурах</i></p> <p>Щурам-альбіносам CD (n = 10/стать/група) вводили вігабатрин перорально через зонд дозами від 10 мг/кг до 1000 мг/кг/добу протягом 14–16 днів. Клінічно при дозах ≥ 200 мг/кг/добу спостерігалася залежно від дози зменшення приросту маси тіла та споживання корму. При дозі 1000 мг/кг виникли депресія та виснаження, і 1 з 5 самок, які отримували цю дозу, померла з невизначеної причини. Клінічні лабораторні дані включали незначне зниження кількості лейкоцитів при 1000 мг/кг і помірне зниження рівня АЛТ при ≥ 200 мг/кг. Не виявлено макроскопічних або гістопатологічних змін, які можна було б віднести до специфічної токсичної дії вігабатрину. Дані дослідження свідчать про відносно низьку токсичність вігабатрину.</p> <p><i>2-тижневе пошукове дослідження токсичності при пероральному введенні щурам</i></p> <p>Щури SD (віком від 5 до 7 тижнів) отримували через зонд воду для ін'єкцій (контрольна група) або водні розчини вігабатрину дозою 100, 300 або 500 мг/кг/добу один раз на добу протягом 2 тижнів. Щурів щодня спостерігали щодо смертності та клінічних ознак. Наприкінці періоду введення щурів піддавали евтаназії та аутопсії. Головний мозок і очі були відібрані у всіх</p>

тварин під час аутопсії та репрезентативні зразки тканин очей всіх щурів з усіх груп досліджували під мікроскопом. Смертельних випадків і клінічних ознак, пов'язаних із введенням препарату, не спостерігалось протягом усього дослідження. Пероральне введення вігabatрину щурам SD у дозах 100, 300 або 500 мг/кг/добу спричинило залежне від дози зменшення середнього приросту маси тіла та споживання корму при всіх дозах та у тварин обох статей: у той час як помірне або виражене зменшення було відзначено при 500 мг/кг/добу, тяжкість змін вважалася помірною при 300 мг/кг/добу і легкою або помірною при 100 мг/кг/добу. Таким чином, за умов даного дослідження рівень дози, при якому не спостерігається ефекту (NOEL) був нижче 100 мг/кг/добу, а рівень дози 300 мг/кг/добу вважався найвищою дозою, придатною для тривалого застосування.

Дослідження підгострої токсичності на щурах

Загалом 160 щурів (n = 20/стать/група) вводили вігabatрин через зонд один раз на добу протягом 3 місяців. Фізикальне та офтальмоскопічне обстеження було проведено перед та наприкінці дослідження. Кров для лабораторної оцінки забирали перед дослідженням, під час проміжного умертвіння (день 38) та наприкінці дослідження. Одноразові добові пероральні дози вігabatрину 30 мг/кг або 100 мг/кг протягом 3 місяців не спричиняли токсичних ефектів у щурів. У щурів, які отримували дози 300 мг/кг/добу, спостерігалися алопеція, різке зниження приросту маси тіла, судоми, підвищення рівня глюкози в крові натще та вакуолізація білої речовини мозочка.

Дослідження токсичності на щурах тривалістю 1 рік

Загалом 150 самців і 150 самок щурів SD отримували вігabatрин з кормом протягом 1 року. Перед дослідженням і через 6 і 12 місяців застосування препарату проводили офтальмоскопічне обстеження та лабораторні аналізи. Через 6 та 12 місяців прийому препарату кількох тварин було піддано аутопсії для обстеження органів. У цей же час додатковій групі тварин відміняли препарат та спостерігали протягом 3 або 6 місяців для визначення ступеня відновлення будь-яких симптомів або уражень. Потім цих щурів піддавали аутопсії, а їхній головний мозок досліджували методом світлової мікроскопії.

Пероральне введення щурам з кормом вігabatрину дозами 30, 100, 200 або 300 мг/кг протягом 1 року призводило до залежного від дози зниження маси тіла, яке було досить вираженим при ≥ 200 мг/кг/добу. Судоми розвинулися у більшості щурів, які приймали 200 мг/кг/добу та 300 мг/кг/добу, приблизно через 3 місяці. Головний мозок був єдиним органом, у якому спостерігалися гістопатологічні ознаки ураження. Основним ураженням була вакуолізація білої речовини в різних областях мозку. Вакуолізація зникла через 3 місяці після відміни препарату. Парадоксально, але ступінь вакуолізації в групах

дозування 200 і 300 мг/кг помітно регресував протягом наступних 6 місяців введення препарату, що свідчить про певний тип адаптації до цих доз.

Дослідження з визначення діапазону доз на собаках, які отримували препарат протягом 2 тижнів

Загалом 5 самцям і 5 самкам собак породи бігль вводили через зонд вігабатрин дозами 0, 100, 300, 600 або 1000 мг/кг протягом 2 тижнів. Введення препарату призводило до періодичного блювання, зменшення споживання корму та втрати маси тіла при ≥ 300 мг/кг/добу та смерті і самців, і самок у групі високих доз. Не вдалося виявити відповідних морфологічних або клініко-патологічних даних, які б пояснили причину цих смертельних випадків.

Дослідження підгострої токсичності при пероральному застосуванні собакам

24 собаки породи бігль отримували вігабатрин перорально в желатинових капсулах один раз на добу в дозах 0, 30, 100, 300 мг/кг/добу протягом 3 місяців. Застосування вігабатрину добре переносилося при застосуванні дозами 30 і 100 мг/кг/добу протягом 3 місяців. Токсичні ефекти виникли при дозі 300 мг/кг/добу і включали анорексію, зменшення приросту маси тіла та анемію.

Дослідження токсичності на собаках тривалістю 1 рік

У собак породи бігль, яким вводили вігабатрин у желатинових капсулах у вигляді одноразової дози 0, 50, 100 або 200 мг/кг/добу протягом 12 місяців, не виявлено впливу препарату на клінічні ознаки, приріст маси тіла, результати офтальмоскопічного або ЕКГ обстеження або макроскопічні ознаки при аутопсії. Гістологічні зміни, пов'язані з введенням препарату, обмежувалися вакуолізацією певних ділянок білої речовини головного мозку (головним чином стовпів склепіння та зорового тракту). Після 6 місяців введення препарату мікровакуолі виявляли лише у собак, яким вводили ≥ 100 мг/кг/добу, і вони загалом були незначними. Після 1 року введення препарату не спостерігалось прогресування вакуолізації у собак, які отримували 100 або 200 мг/кг/добу. У двох собак, які отримували вігабатрин дозою 200 мг/кг/добу протягом 7 місяців з наступним 4-місячним періодом відміни препарату, не виявлено вакуолізації головного мозку та будь-яких резидуальних ознак, що свідчить про зворотність цих змін. При будь-якому рівні дози та в будь-якій часовій точці не виявлено пов'язаних з препаратом змін органів зору.

Дослідження з визначення діапазону доз при пероральному введенні мавпам

Перше дослідження продемонструвало, що пероральне введення максимальної дози вігабатрину 300 мг/кг/добу мавпам циномолгус не спричиняв значної токсичності через 3 місяці, а

єдиною ознакою протягом перших 6 місяців дослідження були рідкі випорожнення. У наступних дослідженнях пероральне введення одноразових щоденних доз вігабатрину 500, 750 або 1000 мг/кг/добу спричиняло рідкі або м'які випорожнення у всіх мавп, починаючи з першого або другого введення і протягом 1-місячного періоду. У більшості мавп у двох групах найвищої дози також спостерігались анорексія та втрата маси тіла. Розділення дози 600 мг/кг/добу (300 мг/кг 2 рази на добу) не запобігало виникненню діареї, яка розпочалася протягом першого тижня введення препарату. Крім того, рівні вігабатрину в плазмі крові були приблизно однаковими у тварин груп найвищих доз, що свідчило про максимальне всмоктування при цих дозах. Цей висновок може пояснити можливу пов'язану з прийомом препарату не залежну від дози мікровакуолізацію головного мозку у деяких мавп. Результати свідчать, що було б непрактично вводити мавпам протягом тривалого періоду вігабатрин дозою більше 300 мг/кг/добу.

6-річне дослідження токсичності на мавпах

4 групам мавп циномогус вводили перорально через назогастральний зонд вігабатрин дозами 0, 50, 100, 300 мг/кг один раз на добу. Вігабатрин добре переносився, не спричиняючи клінічних ознак або лабораторних змін у дозах 50 та 100 мг/кг/добу протягом 18 місяців. При гістопатологічному дослідженні через 3 та 6 місяців не виявлено змін. Введення дози 300 мг/кг/добу протягом 16 місяців спричиняло нечасті транзиторні рідкі випорожнення у деяких мавп. Не спостерігалось побічних ефектів з боку поведінки, біохімічних параметрів крові та гематологічних показників та аналізів сечі, тиску СМР, маси органів або макроскопічних ознак. Єдиною значущою гістопатологічною ознакою була мікровакуолізація головного мозку в групі дозування 300 мг/кг. Однак не отримано чітких доказів, що вакуолізація в головному мозку мавп була пов'язана з введенням вігабатрину.

Мавпам, які отримували вігабатрин дозою 50 або 100 мг/кг/добу, введення препарату продовжували протягом 6 років. Добові пероральні дози вігабатрину 50 і 100 мг/кг добре переносилися самцями і самками мавп. Активність ГАМК-Т у лівій скроневій долі головного мозку знижувалася через 6 годин після останньої дози на 30 % та 32 % у мавп, які отримували 50 або 100 мг/кг/добу відповідно. Однак концентрація ГАМК у мозку не змінилася. Не спостерігалось побічних ефектів з боку поведінки, біохімічних параметрів, гематологічних показників, аналізів сечі, тиску СМР, маси органів або макроскопічних та гістологічних ознак. Група патологоанатомів, які досліджували головний мозок цих мавп, дійшла висновку про відсутність патології, пов'язаної з введенням препарату, та відсутність підвищеної вакуолізації після 6 років щоденного введення 50 або 100 мг/кг вігабатрину.

<p>3) генотоксичність: in vitro</p>	<p><i>Тест на зворотні мутації Salmonella typhimurium</i> Планшетний метод з <i>Salmonella typhimurium</i> (штами TA1535, TA1537, TA1538, TA98 і TA100) використовували (48 год) двічі для отримання результатів тесту на зворотну мутацію з метаболічною активацією або без такої при 5000 мкг/планшет. Не спостерігалось збільшення кількості колоній зі зворотними мутаціями в жодному зі штамів, тобто не спостерігалось мутагенного ефекту вігабатрину.</p> <p><i>Тест на зворотні мутації Escherichia coli</i> У результаті двох тестів на зворотні мутації методом преінкубації (48 годин) з використанням <i>Escherichia coli</i> (штам WP2uvrA) не спостерігалось збільшення кількості колоній зі зворотними мутаціями навіть при концентрації 5000 мкг/планшет незалежно від наявності чи відсутності метаболічної активації. Таким чином, не спостерігалось мутагенного ефекту вігабатрину.</p> <p><i>Тест на хромосомні аберації у клітинах ссавців</i> У тесті на хромосомні аберації з використанням лімфоцитів щурів не виявлено збільшення кількості клітин із хромосомними структурними аномаліями навіть після 4-годинної обробки препаратом у концентрації 5000 мкг/мл, незалежно від наявності чи відсутності метаболічної активації, тобто хромосомних аберацій внаслідок обробки вігабатрином не спостерігалось.</p> <p><i>Тест на конверсію генів з використанням дріжджових грибів</i> Не спостерігалось підвищення частоти конверсії генів навіть при обробці зразків препаратом у концентрації 5000 мкг/мл протягом 16 годин (-S9) або 4 годин (+S9) незалежно від наявності чи відсутності метаболічної активації. Вігабатрин не індукував конверсію генів.</p> <p><i>Тест на точкові мутації з використанням дріжджових грибів</i> Не спостерігалось збільшення частоти мутацій навіть після 16 годин (-S9) або 4 годин (+ S9) обробки зразків препаратом у концентрації 5000 мкг/мл з метаболічною активацією або без такої. Вігабатрин не мав мутагенного ефекту.</p> <p><i>Тест на пряму мутацію з використанням клітин яєчників китайського хом'яка (CHO)</i> Не спостерігалось збільшення частоти мутацій навіть при обробці клітин препаратом у концентрації 5000 мкг/мл протягом 4 годин, незалежно від наявності чи відсутності метаболічної активації, і мутагенного ефекту вігабатрину не виявлено.</p>
<p>in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)</p>	<p>Вігабатрин оцінювали в мікроядерному тесті на клітинах кісткового мозку мишей.</p> <p>Вігабатрин вводили мишам за допомогою перорального зонда в одноразових дозах 0 (негативний контроль), 170, 540 і 1700 мг/кг. Крім того, була створена група позитивного контролю, якій вводили циклофосамід 120 мг/кг перорально. Через 24 або 48 годин після введення препарату зі стегнової кістки забирали кістковий мозок для підготовки забарвленого за Гімзою зразка для</p>

	<p>мікроскопії. У групах, які отримували вігабатрин, не спостерігалось значного підвищення частоти виявлення мікроядерних поліхроматичних еритроцитів порівняно з групою негативного контролю. У мишей з групи позитивного контролю виявлено значне збільшення кількості мікроядерних поліхроматичних еритроцитів. Таким чином, вігабатрин був визнаний негативним у мікроядерному тесті на клітинах кісткового мозку мишей.</p>
4) канцерогенність:	
довгострокові дослідження	<p><i>18-місячне дослідження канцерогенності на мишах</i> Загалом 200 самцям і 200 самкам мишей-альбіносів з кормом вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу протягом 18 місяців. У цьому дослідженні не виявлено будь-якого канцерогенного потенціалу вігабатрину, оскільки не спостерігалось різниці в частоті неопластичних уражень між групою, яка отримувала вігабатрин, та контрольною групою.</p> <p><i>2-річне дослідження канцерогенності на щурах</i> Загалом 200 самцям і 200 самкам пігментованих щурів LE з кормом вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу протягом 2 років. За результатами цього дослідження, застосування вігабатрину протягом 2 років не було канцерогенним у щурів LE. Не виявлено різниці в частоті неопластичних уражень між групою, яка отримувала вігабатрин, і контрольною групою.</p>
короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості	-
додаткові дослідження	-
5) репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	
вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток	<p><i>Дослідження впливу на фертильність самців щурів</i> 80 самцям щурів CD (SD) віком приблизно 39 днів вводили з кормом вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу протягом 84 днів до спарювання. Вігабатрин не впливав на фертильність або репродуктивну здатність самців. У групі 100 і 150 мг/кг/добу було відзначено незначне або помірне зменшення споживання корму та приросту маси тіла відповідно.</p> <p><i>Дослідження репродуктивної функції на самках щурів</i> 80 статевозрілим самкам CD (SD) щурів вводили з кормом вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу за 2 тижні до спарювання, протягом 1 тижня парувального періоду і протягом 1 тижня після цього. Самок умертвляли приблизно через 16 днів після середини тижня спільного перебування з самцем і досліджували на предмет життєздатних і мертвих плодів, резорбції плода та кількості жовтих тіл. Введення препарату не вплинуло на частоту зачаття. Жовті тіла були значно зменшені</p>

	<p>($p < 0,05$) у групі 150 мг/кг, що призвело до значного зменшення кількості місць імплантації і, як наслідок, до зменшення кількості життєздатних плодів. Пре- та постімплантаційні втрати не змінилися.</p>
ембріотоксичність	<p><i>Дослідження з визначення діапазону доз на вагітних щурах</i> Вагітним щурам SD вводили через зонд вігабатрин дозами 0, 300, 400 або 500 мг/кг/добу один раз на добу з 7 по 16 день вагітності. Значне зменшення споживання корму спостерігалось у всіх групах дозування. Це призвело до фактичної втрати маси тіла протягом періоду введення препарату з частковим відновленням маси тіла після його припинення. Не спостерігалось випадків смерті матерів, але вогнищева алопеція була відзначена у 3/5 самок у групах дозування 400 і 500 мг/кг. Кількість імплантованих, живих або мертвих плодів і резорбцій плода була подібною, за винятком групи 400 мг/кг, у якій спостерігалось різке збільшення резорбцій плода (2 самки з резорбцією 100 % плодів і 3 самки з резорбцією в середньому 19 %). У всіх групах, які отримували препарат, відзначалося незначне або помірне зниження маси тіла плода. Вади розвитку (екзенцефалія та гастрошизис) у одного плода у групі 300 мг/кг вважалися випадковими, оскільки це був єдиний аномальний плід. Результати свідчать, що вагітні щури не можуть переносити дози вігабатрину 400 і 500 мг/кг без значних побічних ефектів.</p> <p><i>Морфологічні тератологічні дослідження на щурах</i> Статевозрілим щурам SD через зонд один раз на добу вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу з 7 по 16 день вагітності. Тварин умертвили на 21 день, щоб оцінити вплив препарату на плід, що розвивається. Зменшення споживання корму матерями в групах 100 і 150 мг/кг призвело до незначного зменшення приросту маси тіла протягом періоду введення препарату. Не спостерігалось впливу препарату на зачаття, імплантацію, кількість живих або мертвих плодів або резорбцію плодів. Середня маса тіла життєздатних плодів була значно меншою у групах 100 і 150 мг/кг. При зовнішньому та вісцеральному обстеженні плодів виявлено комбіновані вади розвитку (переважно з ураженням м'яких тканин) у 3 та 2 випадках при дозі 50 та 150 мг/кг/добу відповідно. Обстеження скелета не виявило будь-яких додаткових аномалій, пов'язаних із застосуванням препарату, хоча були незначні ознаки затримки осифікації в групі 150 мг/кг/добу, що могло бути пов'язано зі зниженням маси плода в цій групі. Не спостерігалось вад розвитку в групі 100 мг/кг або контрольній групі. Оскільки частота окремих вад розвитку була низькою, їх вважали випадковими та не пов'язаними з введенням препарату.</p> <p><i>Тератологічні дослідження на кролях</i> 80 статевозрілих самок новозеландських білих кролів були розподілені на 4 групи по 20 самок у кожній. Усі самки були</p>

	<p>штучно запліднені. З 7 по 19 день вагітності через зонд один раз на добу вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 200 мг/кг/добу. Тварин умертвили на 29 день вагітності. Вігабатрин при введенні вагітним кролям у період органогенезу в дозах 50 або 100 мг/кг/добу не спричиняв тератогенних ефектів порівняно з групою контролю. Введення доз 150 і 200 мг/кг/добу призводило до втрати маси тіла матері та збільшення резорбції плода, що є ознаками токсичності. При введенні цих токсичних доз виникала розщелина піднебіння з низькою частотою, що вказує на слабкий тератогенний ефект у цього виду кролів. Доза 300 мг/кг/добу виявилася летальною для вагітних самок кролів у дослідженні з визначення діапазону доз.</p>
<p>пренатальна і постнатальна токсичність</p>	<p><i>Тератологічні дослідження щодо поведінки потомства на щурах</i></p> <p>Самкам щурів SD з 7 по 16 день вагітності через зонд один раз на добу вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу. Самкам дозволили народжувати, а їхнє потомство зменшили до 4 самців і 4 самок (за можливості). Після відлучення 1 самця та 1 самку з кожного посліду виростили до статевої зрілості та спарували (не з сиблінгом), щоб визначити вплив на репродуктивну функцію та сексуальну здатність. Не виявлено помітного впливу на матерів, за винятком зменшення споживання корму та приросту маси тіла в групах 100 і 150 мг/кг протягом періоду введення препарату. Тести на розвиток та поведінку потомства F1 не виявили відмінностей між групами активного препарату та контролю. Зростання потомства F1 від відлучення до статевої зрілості та спарювання не виявило будь-яких помітних ефектів, які могли б бути пов'язані з внутрішньоутробним впливом препарату під час органогенезу.</p> <p><i>Дослідження перинатальної та постнатальної токсичності на щурах</i></p> <p>80 самкам CD (SD) щурів з кормом вводили вігабатрин дозами 0, 50, 100 або 150 мг/кг/добу, починаючи з 15 дня вагітності та продовжуючи протягом усього періоду лактації до відлучення. Вігабатрин не спричиняв помітних ефектів, за винятком значного зниження маси тіла внаслідок зменшення споживання корму та зниження маси тіла потомства при відлученні у групах 100 та 150 мг/кг. При спарюванні покоління F1 виявлено незначне зниження (недостовірне, $p < 0,05$) частоти вагітностей при дозі 150 мг/кг і зменшення кількості жовтих тіл при 100 і 150 мг/кг, що призвело до зменшення розміру потомства при дозі 150 мг/кг (за відсутності впливу на життєздатність плодів). Спорадичні судоми у щурів при введенні дози 150 мг/кг, ймовірно, пояснювали їх гіршу репродуктивну здатність. Незначна вакуолізація головного мозку спостерігалася у всіх групах дозування.</p>
<p>дослідження, при яких препарат вводиться потомству</p>	<p><i>Дослідження токсичності при пероральному введенні через зонд нестатевозрілим (перед відлученням) собакам породи бігль</i></p>

(нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія

Метою цього дослідження була оцінка нейрогістопатологічних змін у головному мозку нестатевозрілих (перед відлученням) собак породи бігль при введенні вігабатрину через пероральний зонд протягом періоду до 91 дня. Введення препарату розпочинали на 22 день після народження (PND22) і продовжували до досягнення тваринами віку 16 тижнів (PND112). Після 91 дня періоду введення препарату слідував період без введення протягом 6 тижнів, щоб оцінити потенціал відновлення після будь-яких виявлених змін. Крім того, для оцінки нейрогістопатологічних змін, які можуть виникнути у віці відлучення (вік 6–8 тижнів для собак), другій підгрупі тварин вводили вігабатрин з PND22 до PND35 і третій підгрупі – з PND36 до PND49.

Досліджувані тварини основної групи отримували воду для ін'єкцій або вігабатрин через пероральний зонд протягом 91 дня. Тваринам основного дослідження відновлення вводили препарат подібним чином протягом 91 дня з подальшим 6-тижневим періодом без введення препарату. Проміжній підгрупі I вводили воду для ін'єкцій або вігабатрин протягом 14 днів (PND 22–35) з наступною 14-денною перервою введення. Іншій проміжній підгрупі II вводили воду для ін'єкцій або вігабатрин, починаючи з трохи старшого віку, протягом 14 днів (PND 36–49) з наступною 14-денною перервою.

Застосування вігабатрину в дозах на рівні 30 або 100 мг/кг/добу було пов'язано з незначною вакуолізацією в головному мозку. У тварин, які отримували препарат протягом 14 днів з PND22, спостерігалася мінімальна або незначна вакуолізація в гіпокампі, гіпоталамусі, таламусі, мозочку та блідій кулі при дозі 100 мг/кг/добу та мінімальна вакуолізація в таламусі, блідій кулі та мозочку при 30 мг/кг/добу. У тварин, які отримували 100 мг/кг/добу протягом 91 дня з PND22, мінімальна або незначна вакуолізація спостерігалася лише в гіпокампі, гіпоталамусі та таламусі. Чіткі ознаки відновлення спостерігалися через 14 днів перерви після введення препарату з PND 22 до PND35 і через 6 тижнів перерви після введення препарату з PND22 до PND112. У тварин, які отримували 30 або 100 мг/кг/день протягом 14 днів з PND36, не спостерігалася вакуолізації головного мозку, пов'язаної з досліджуваним препаратом. Експозиція $AUC_{0-24 \text{ год}}$ у плазмі крові коливалася від 54100 до 96300 нг•год/мл при дозі 30 мг/кг/добу та від 175000 до 346000 нг•год/мл при дозі 100 мг/кг/добу.

2-тижневе дослідження токсичності з визначенням діапазону доз при пероральному застосуванні нестатевозрілим щурам

Нестатевозрілі щури SD (віком 4 дні) через пероральний зонд отримували воду для ін'єкцій (контрольна група) або вігабатрин дозою 30, 50, 100, 300, 500 або 1000 мг/кг/добу один раз на добу

протягом 2 тижнів. У дослідженні використовували також 10 самок-матерів, з потомством з 4 самців і 4 самок у кожної.

Смертельні випадки, пов'язані з препаратом, спостерігалися при дозі 100 мг/кг/добу і вище. При дозах 300, 500 і 1000 мг/кг/добу всіх тварин умертвили з гуманних міркувань між 3 і 5 днем введення препарату. У них спостерігалось: відсутність молока в шлунку, втрата маси тіла або виражене зменшення приросту маси тіла та відсутність рухової активності. При дозі 100 мг/кг/добу 2/8 самців і 2/8 самок щурів були знайдені мертвими або були піддані евтаназії на 5/6 день. Не зафіксовано загибелі тварин ні у контрольній групі, ні при дозах 30 і 50 мг/кг/добу. Клінічні ознаки, пов'язані з препаратом, у виживших тварин включали відсутність молока в шлунку. Знижена, а іноді й відсутня рухова активність також спостерігалася при дозі 100 мг/кг/добу у всіх тварин протягом періоду введення препарату та при дозі 50 мг/кг/добу (тільки зниження рухової активності) у 4/8 самців і 5/8 самок. Мінімальне або помірне зниження середнього приросту маси тіла було відзначено у тварин обох статей при 30 і 50 мг/кг/добу. Приріст маси тіла помітно зменшився у тварин, які отримували 100 мг/кг/добу. Макроскопічних змін, пов'язаних із введенням препарату, не виявлено. Не спостерігалось мікроскопічних змін в тканинах очей, які можна вважати безпосередньо пов'язаними з введенням досліджуваного препарату 30, 50 і 100 мг/кг/добу. Мінімальні зміни ядер у сітківці (розсіяні ядра в шарі фоторецепторів і збільшення кількості апоптозних тіл у внутрішньому ядерному шарі) спостерігалися в тканинах очей щурів обох статей, які отримували 50 і 100 мг/кг/добу. Ці зміни були дифузними та двосторонніми і могли бути пов'язані з порушенням або затримкою дозрівання сітківки внаслідок затримки росту тіла. За умов даного дослідження рівень дози 30 мг/кг/добу вважався близьким до рівня дози, що не спричиняє видимих побічних ефектів (NOAEL).

4-тижневє дослідження токсичного впливу на очі при пероральному введенні нестатевозрілим щурам SD (з 4-го дня після народження)

Нестатевозрілі щури SD (віком 4 дні на початку дослідження) отримували через пероральний зонд один раз на добу воду для ін'єкцій (контрольна група) з 1 до 28 дня періоду введення (PND4–31) або вігабатрин 30 мг/кг/добу з 1 до 10 дня, а потім дозою 30, 50 або 100 мг/кг/добу з 11 до 28 дня періоду введення препарату.

Випадки смерті, пов'язаної з препаратом, спостерігалися при 30-100 мг/кг/добу, при цьому 3/9 самців і 1/9 самка були знайдені мертвими на 23–29 дні введення препарату. Клінічні ознаки, пов'язані з препаратом, головним чином включали генералізовану ригідність (тонічні судоми), що відзначалася при всіх дозах, починаючи з 23 дня введення, з залежною від дози

частотою (2/9 самців і 1/9 самка при 30-30 мг/кг/добу; 6/9 самців і 4/9 самок при 30-50 мг/кг/добу; 8/9 самців і 9/9 самок при 30-100 мг/кг/добу). Також зниження рухової активності та/або тремор періодично відзначали у 4/9 самців і 4/9 самок при 30-100 мг/кг/добу. Судоми (клонічного типу) також спостерігалися у 1/9 самця при дозі 30-50 мг/кг/добу та 1/9 самки при 30-100 мг/кг/добу. Залежне від дози зниження середнього приросту маси тіла було відзначено в усіх групах, які отримували препарат, порівняно з контролем (-13 %, -22 % і -39 % у самців; -16 %, -21 % і -34 % у самок при дозуванні 30-30, 30-50 і 30-100 мг/кг/добу відповідно наприкінці дослідження).

Не виявлено змін маси головного мозку, які вважалися безпосередньо пов'язаними з прийомом вігабатрину, при будь-якому рівні дози порівняно з контролем.

Мікроскопічні зміни, можливо пов'язані з препаратом, спостерігалися в тканинах 1 ока 1/9 самця, який отримував дозу 30-100 мг/кг/добу. Ці зміни полягали в мінімальній центральній дегенерації сітківки. Незначна зміна, що спостерігалася в центральній зоні сітківки 1 ока 1 самця з групи високої дози, є сумнівним результатом. За умов даного дослідження рівень дози 30-30 мг/кг/добу вважався близьким до NOAEL.

9-тижневе дослідження токсичності у разі повторних введень перорально (через зонд) новонародженим щурам

Метою даного дослідження було виявлення побічних ефектів вігабатрину при введенні протягом 9 тижнів нестатевозрілим щурам SD і подальша оцінка ураження головного мозку. Сорок самців були розподілені на 8 груп дозування (n = 5/група). Вігабатрин (50 мг/кг) або деіонізовану воду вводили перорально через зонд один раз на добу наступним чином: на PND 4-25 (групи I і V), PND 4-46 (групи II і VI), PND 4-65 (групи III і VII) і PND 12-26 (групи IV і VIII).

Смертність, несприятливі клінічні ознаки, зниження середньої маси тіла, приросту маси тіла, кінцевої маси тіла та маси головного мозку, а також збільшення середнього співвідношення маси мозку до кінцевої маси тіла були пов'язані з введенням вігабатрину 50 мг/кг/добу у всіх чотирьох інтервалах періоду введення препарату.

Дослідження ультраструктури головного мозку виявило наявність вакуолей, які починались як розриви мієлінових оболонок. Вони розширювалися і перетворювалися у великі вакуолі, які були більш помітними на пізніх стадіях введення препарату. Ці вакуолі були особливо вираженими у щурів, які отримували препарат у PND 4-25 (група I). При введенні препарату в PND 4-46 (група II) ураження зберігалися в мозочку (особливо в ядрах і прилеглий білій речовині) і довгастому мозку, хоча вакуолізація білої речовини зменшувалася. У щурів, які отримували досліджуваний препарат у PND 4-65 (група III),

	<p>зберігалися ураження довгастого мозку та мозочка, а також спостерігалось залучення більш ростральних областей, таких як середній мозок, таламус і базальні відділи переднього мозку. Щури, які отримували препарат у PND 12–26 (група IV), мали вакуолі подібного вигляду і розподілу, але були дещо менш вираженими, ніж у щурів, яким введення препарату розпочиналося з PND 4. Виражена реакція була впливом досліджуваного препарату на мієлінізацію.</p> <p><i>Пошукове дослідження патології головного мозку при пероральному введенні (через зонд) нестатевозрілим щурам</i></p> <p>Мета дослідження: оцінити потенційний нейродегенеративний ефект вігабатрину при введенні через пероральний зонд нестатевозрілим щурам з 4 до 30 дня після народження.</p> <p>Методи: нестатевозрілих щурів розподілили на 12 груп. Групи 1–4 отримували препарат у віці від 4 до 7 днів, групи 5–8 – у віці від 7 до 14 днів, а групи 9–12 отримували препарат у віці від 14 до 30 днів. Дози у групах 2/6/10, 3/7/11 і 4/8/12 становили 5, 15 або 50 мг/кг/добу відповідно. Групи 1, 5 і 9 слугували контролем і отримували тільки носій лікарського засобу.</p> <p>Результати та висновки: введення через зонд нестатевозрілим щурам віком від 4 до 7 днів, від 7 до 14 днів або від 14 до 30 днів вігабатрину дозами 5, 15 або 50 мг/кг/добу асоціювалося зі змінами в головному мозку при рівнях доз 15 або 50 мг/кг/добу. Зміни були виявлені після 2 введень у тварин будь-якого віку, які отримували 50 мг/кг/добу, і після 4 введень 15 мг/кг/добу у віці 7–14 або 14–30 днів. Основною ознакою була вакуолізація нейропіля, наявна після 2 введень у наймолодших тварин і у тварин віком 14–30 днів і після 4 введень у тварин віком 7–14 днів. У тварин, які отримували препарат у віці з 4 до 7 дня або з 7 до 14 дня, також спостерігалися набряк олігодендроцитів після 2 введень 50 мг/кг/добу та після 4 введень 15 мг/кг/добу з віку 7 днів. Також спостерігалося зменшення мієліну після 4 введень у тварин, які отримували 50 мг/кг/добу у віці 7–14 або 14–30 днів, або після 11 введень у тварин, які отримували 15 мг/кг/добу у віці 14–30 днів.</p> <p>Залежні від віку варіації в локалізації уражень та характеристики ознак свідчили, що ефект був обмежений процесом мієлінізації і не було ознак гліозу або дегенерації нейронів. Відновлення було очевидним після всіх трьох режимів дозування.</p> <p>Не виявлено пов'язаних з препаратом змін у головному мозку щурів, які отримували 5 мг/кг/добу за будь-якою із схем дозування.</p>
б) місцева переносимість	Оскільки вігабатрин призначений для перорального застосування, дослідження місцевої переносимості не проводилися.
7) додаткові дослідження токсичності:	

антигенність (утворення антитіл)	Не застосовне.
імунотоксичність	Не застосовне.
дослідження механізмів дії	Механізм дії вігабатрину полягає в пригніченні активності ГАМК-трансамінази (ГАМК-Т). Відповідні дослідження описані в розділі «Первинна фармакодинаміка».
лікарська залежність	<p><i>Дослідження фізичної залежності на щурах і собаках</i></p> <p>У дослідженні на щурах тварини отримували від 30 до 300 мг/кг/добу вігабатрину протягом 6 або 12 місяців. У першому дослідженні на собаках вігабатрин вводили дозою 300 мг/кг/добу протягом 12 тижнів, а потім відміняли. У другому дослідженні на собаках тварини отримували 50, 100 або 200 мг/кг/день протягом 7 або 12 місяців до припинення введення препарату.</p> <p>Хоча під час введення вігабатрину щурам у більш високих дозах спостерігалися судоми, після припинення введення препарату не спостерігалось ознак синдрому відміни.</p> <p>У першому дослідженні на собаках у деяких тварин спостерігалася втрата маси тіла настільки тяжка, що їх піддали евтаназії. Інших ознак синдрому відміни не спостерігалось. Під час другого дослідження на собаках ознак синдрому відміни не спостерігалось у жодної тварини.</p>
токсичність метаболітів	Не застосовне.
токсичність домішок	Не застосовне.
інше	<p><i>Поетапне дослідження нейропатології на собаках</i></p> <p>Нейропатологію, що виникає при пероральному застосуванні вігабатрину 300 мг/кг/добу, оцінювали послідовно в групах собак породи бігль під час введення препарату (тижні 1–12) та протягом відновлення після введення (тижні 1, 2, 4, 8, 12, 16). Введення препарату спричиняло мікровакуолізацію, яку можна було відмежувати від фону через 4 тижні після введення. Мікровакуолізація досягла найвищого рівня тяжкості між 8 і 12 тижнями і була оборотною у межах 16 тижнів після введення препарату.</p> <p><i>Електрофізіологічне дослідження щоденного введення вігабатрину собакам</i></p> <p>Щоденне введення 300 мг/кг вігабатрину протягом 12 тижнів спричинило мультифокальний інтрамієліновий набряк, що призвів до мікроскопічної вакуолізації.</p> <p>Реєстрація поверхневих сомато-сенсорних викликаних потенціалів (ССВП) продемонструвала послідовне збільшення латентності центральної передачі при введенні вігабатрину.</p> <p>Дані щодо слухових викликаних потенціалів (СВП) не виявили відповідних змін або відмінностей між групами препарату та контролю.</p> <p>Зміни латентності ССВП повністю відновилися через 12 тижнів введення препарату.</p>

Оцінка спалахових зорових викликаних потенціалів у собак, які отримували вігабатрин

Зорові потенціали, викликані спалахом світла (сЗВП), реєстрували для оцінки зорової функції 4 собак породи бігль, які отримували перорально вігабатрин дозою 300 мг/кг протягом 12 тижнів. сЗВП визначали у кожній собаці через 12 тижнів введення препарату та через 2, 4, 6 та 8 тижнів відновлення. Викликане вігабатрином уповільнення сЗВП виникало у піках з латентністю ≥ 75 мс. Висновок щодо відновлення робився на основі різкого збільшення латентності піків сЗВП у собак, які отримували препарат у період відновлення.

Поздовжнє дослідження ЗВП і ССВП у собак, які отримували вігабатрин щоденно

Застосування вігабатрину дозою 300 мг/кг/добу асоціювалося зі значними змінами провідності у ЦНС, що проявлялося уповільненням центральних ССВП і ЗВП. Собаки продовжували отримувати вігабатрин до 6 тижнів після початкового прояву дисфункції викликаних потенціалів. Навіть за цих обставин показники викликаних потенціалів нормалізувалися після припинення введення препарату.

MPT ex vivo та гістопатологічна оцінка виникнення та відновлення інтрамієлінового набряку, спричиненого вігабатрином

Оцінку нейропатології, пов'язаної з тривалим введенням вігабатрину собакам, проводили за допомогою якісної MPT ex vivo та кількісного гістологічного визначення мікровакуолізації в гіпоталамусі, таламусі та колонах склепіння мозку. Собаки породи бігль були розподілені на 18 груп і отримували перорально вігабатрин дозою 300 мг/кг/добу або плацебо. Тварин умертвляли та обстежували з інтервалами в тиждень протягом 12 тижнів введення препарату та через 1, 2, 4, 6, 12, 16 тижнів після його припинення. Вігабатрин спричинив мікровакуолізацію у собак, що було продемонстровано гістологічними та MPT-зміними. Ці зміни, ймовірно, були пов'язані з введенням препарату і регресували після відміни препарату.

13-тижневе дослідження токсичності щодо очей при пероральному введенні цурам, з проміжною аутопсією через 4 тижні та 4-тижневим періодом відновлення

Щури SD (віком від 6 до 7 тижнів) отримували воду для ін'єкцій (контрольна група) або вігабатрин дозою 100 або 300 мг/кг/добу через пероральний зонд один раз на добу протягом 4 або 13 тижнів. Щурів розподілили на 3 групи: контрольна, дозування 100 мг/кг/добу та дозування 300 мг/кг/добу. Кожну групу додатково розділили на 3 підгрупи. Щурів з підгрупи 1 піддали евтаназії та аутопсії після 4 тижнів введення препарату. Щури з підгрупи 2 були піддані евтаназії та аутопсії наприкінці 13-тижневого періоду введення препарату. Щури з підгрупи 3

служували для спостереження за відновленням, і їх підтримували без введення препарату протягом 4 тижнів після завершення 13 тижнів періоду введення.

Пероральне введення вігабатрину щурам SD протягом 4 або 13 тижнів дозою 100 або 300 мг/кг/добу з подальшим 4-тижневим періодом відновлення спровокувало при обох рівнях доз офтальмоскопічні зміни сітківки із залежною від дози частотою та тяжкістю. Клінічно це проявлялося посиленням люмінесценції та/або блідістю сітківки та меншою мірою – згинами судин. Мінімальні зміни характеризувалися наявністю ядер зовнішнього ядерного шару у шарі фоторецепторів, а більш тяжкі ураження – локально поширеною втратою фоторецепторів та дезорганізацією зовнішніх ядерних шарів.

Офтальмоскопічні та гістопатологічні зміни сітківки зберігалися до кінця 4-тижневого періоду відновлення. Не виявлено доказів будь-яких пов'язаних із препаратом змін рівнів таурину та гіпотаурину в крові та в печінці та рівнів орнітину в крові.

3-місячне пошукове дослідження (офтальмологічні ефекти) на щурах, яких піддавали або не піддавали впливу надмірного світла

Щурам Long Evans (пігментовані) та Wistar (альбіноси) (віком 2 місяці на початку дослідження) давали питну воду без препарату (контрольна група) або питну воду, що містила вігабатрин у концентраціях, що відповідали добовій дозі 300 мг/кг, протягом приблизно 3 місяців (12 тижнів). Тварини були розподілені на 8 груп. 4 групи («опромінені світлом», що склалися з контролю та щурів, які отримали препарат, обох видів) піддавалися впливу надмірного освітлення (приблизно 500 люкс) протягом 7 днів (24 години на добу), починаючи з першого дня прийому препарату, а потім утримувалися в стандартних умовах протягом 11 тижнів. 4 інші подібні групи («неопромінені світлом») утримувалися в стандартних умовах (12 годин освітлення приблизно 25 люкс/12 годин темряви) протягом 12-тижневого періоду введення препарату. Наприкінці періоду введення препарату тварин піддавали евтаназії, брали зразки тканин очей і збирали кров для визначення рівня вігабатрину в плазмі крові.

Після перорального введення з питною водою вігабатрину дозою 300 мг/кг/добу 2-місячним щурам Wistar і Long Evans, які піддавалися або не піддавалися впливу надмірного світла, пов'язані з препаратом зміни очей полягали у помітному підвищенні середньої концентрації ГАМК у сітківці та склоподібному тілі у всіх групах, які отримували препарат, що узгоджується з ГАМК-міметичною дією препарату, яка, однак, була нижчою у опроміненних світлом щурів Wistar. Надмірне освітлення призводило до дегенеративних змін сітківки, що характеризувалися втратою фоторецепторів і зовнішніх ядерних шарів у щурів-альбіносів і незначним зниженням концентрації

більшості амінокислот у щурів-альбіносів і пігментованих щурів, що, ймовірно, відображає знижену активність сітківки.

6-тижневе дослідження перорального застосування цурам – дія таурину на токсичність щодо сітківки, індуковану вігабатрином і впливом світла

Метою дослідження було дослідити на щурах LE, чи може запобігти введення таурину пошкодженню сітківки в результаті 6-тижневого перорального застосування вігабатрину. Вігабатрин вводили у двох дозах (30 і 150 мг/кг/добу) тваринам, які або були «навантажені» таурином через питну воду, або не отримували екзогенного таурину.

Щоденне введення вігабатрину протягом 6 тижнів щурам LE дозами 30 і 150 мг/кг/добу спричиняло незначне зниження середнього приросту маси тіла при обох рівнях доз і незалежно від зовнішніх умов (висока інтенсивність освітлення та мідріаз) або наявності таурину. Крім того, при вищому рівні дози 150 мг/кг спостерігалася мінімальна втрата маси тіла на початку введення препарату. За умов дослідження гістологічні зміни сітківки спостерігалися через 1 тиждень введення препарату, і залежне від часу прогресування тяжкості чітко виявлялося на 21 і 42-43 день у тварин, які отримували 30 або 150 мг/кг/добу вігабатрину та піддавалися впливу світла високої інтенсивності, посиленого при мідріазі. Одночасне застосування таурину не запобігало появі цих ефектів.

За відсутності дії світла високої інтенсивності, а за наявності лише мідріазу у тварин, які отримували вігабатрин 150 мг/кг/добу з одночасним введенням таурину або без нього, не виявляли будь-яких пошкоджень сітківки під час мікроскопічної або функціональної оцінки за допомогою електроретинографії (ЕРГ).

Функціональні зміни спостерігалися при ЕРГ на 42 день у всіх групах, які отримували вігабатрин 30 або 150 мг/кг/добу разом з впливом світла високої інтенсивності, посиленого мідріазом, та з добавкою таурину або без такої. Таким чином, в умовах даного дослідження профілактичної дії таурину не виявлено.

Вігабатрин та енантіомери: 13-тижневе порівняльне дослідження токсичної дії на головний мозок щурів

Метою даного дослідження було порівняти токсичний вплив вігабатрину та енантіомерів на певні ділянки головного мозку при пероральному введенні щурам протягом 13 тижнів. 5 груп самців і самок щурів SD отримували дистильовану воду (контроль), активний енантіомер 150 мг/кг/добу, неактивний енантіомер 150 мг/кг/добу, вігабатрин (рацемат) 300 мг/кг/добу та вігабатрин + піридоксин (300 мг/кг/добу + 10 мг/кг/добу).

Усі тварини вижили, але у групах 2, 4 та 5 спостерігалися випадіння шерсті, хода по типу «степаж» та тонічні судоми. Тварини 3 групи були подібними до контрольної. Приріст маси тіла у групах 2, 4 та 5 зменшився (на 25–31 % у самців та на 8–

	<p>16 % у самок порівняно з контролем на 13 тижні). Абсолютна маса головного мозку дещо зменшилася в групах 2, 4 і 5. Дані аутопсії та гістопатологічного дослідження у групі 3 були подібними до даних у групі 1. У групах 2, 4 і 5 виявляли гістологічні ознаки вакуолізації в різних частинах мозку та ретинопатію.</p> <p>Таким чином, неактивний енантіомер не проявляв токсичності при дозі 150 мг/кг/добу, але інші досліджувані препарати, що містили активний енантіомер, продемонстрували подібну токсичність.</p> <p><i>Порівняльні 3-місячні дослідження токсичності S-форми та рацемічного вігабатрину при пероральному застосуванні</i></p> <p>Ці дослідження були проведені, щоб визначити, чи проявляє токсичність фармакологічно активний S-енантіомер.</p> <p>Щурам SD з кормом вводили вігабатрин (рацемічну суміш RS) дозами 0, 50, 100 або 300 мг/кг/добу протягом 3 місяців. Для порівняння подібним чином вводили S-енантіомер дозами 0, 25, 50, 150 або 300 мг/кг/добу.</p> <p>Дослідження показало, що токсичні ефекти вігабатрину зумовлені фармакологічно активним S-енантіомером, оскільки він чинить ті самі ефекти, що і суміш RS, але у менших дозах.</p> <p><i>Вплив піридоксину гідрохлориду на токсичність вігабатрину у щурів</i></p> <p>Загалом 60 самців і 60 самок щурів SD протягом 4 місяців отримували препарати з кормом наступним чином: група 1 (контроль), група 2 (300 мг/кг/добу піридоксину гідрохлориду), група 3 (100 мг/кг/добу вігабатрину та 100 мг/кг/добу піридоксину гідрохлориду), група 4 (300 мг/кг/добу вігабатрину та 300 мг/кг/добу піридоксину гідрохлориду), група 5 (100 мг/кг/добу вігабатрину), група 6 (300 мг/кг/добу вігабатрину).</p> <p>Застосування вігабатрину призвело до помірного зменшення приросту маси тіла та споживання корму та до незначного інтрамієлінового набряку (вакуолізації головного мозку) при дозі 100 мг/кг/добу та вираженого зменшення приросту маси тіла, споживання їжі, судом та інтрамієлінового набряку при дозі 300 мг/кг/добу. Додавання до раціону рівної кількості піридоксину гідрохлориду не мало помітного впливу на будь-який із цих результатів. На дегенерацію сітківки, яку також виявляли в дослідженні (з низькою частотою), застосування піридоксину гідрохлориду не вплинуло. Сам по собі піридоксин не спричиняв змін головного мозку або сітківки.</p>
5. Висновки щодо доклінічного вивчення	<p>Для вігабатрину наявна комплексна інформація щодо доклінічних даних.</p> <p>У фармакологічних дослідженнях було продемонстровано, що вігабатрин необоротно пригнічує активність ГАМК-Т, підвищує рівень ГАМК у головному мозку та пригнічує напади у різних моделях епілепсії, включаючи моделі на нестатевозрілих щурах.</p>

	<p>Щодо фармакологічної безпеки, вважається, що процес пригнічення є результатом підвищення концентрації ГАМК в головному мозку.</p> <p>Оскільки вігабатрин є рацематом, було досліджено фармакологічну активність R-енантіомеру та S-енантіомеру. 1 ммоль/л рацемату та 0,5 ммоль/л S-форми знижували активність ГАМК-Т за однаковий період часу. R-форма виявила слабкий інгібуючий ефект. Було зроблено висновок, що S-енантіомер є активним компонентом рацемічної суміші.</p> <p>Після перорального застосування вігабатрин швидко та повністю всмоктувався у щурів і собак, а у мавп спостерігалось неповне та залежне від дози всмоктування, знижена швидкість всмоктування при високих дозах. У мавп t_{max} (1–3 години) при введенні одноразової дози вігабатрину перорально був довшим, ніж у щурів і собак, а C_{max} виявлялася нижчою, ніж у щурів і собак. У щурів і собак біодоступність перорально введеного вігабатрину становила майже 100 %. Експозиція (AUC) збільшувалася пропорційно дозі. У дослідженнях токсичності у разі повторних введень на щурах і мавпах не виявлено різниці в експозиції або концентрації в плазмі крові за статевою ознакою.</p> <p>У дослідженнях токсичності у разі одноразового введення на мишах і щурах продемонстровано, що депресія була основною пов'язаною з препаратом клінічною ознакою.</p> <p>Дані досліджень токсичності у разі повторних введень свідчать, що при застосуванні тваринам вігабатрин є нейротоксичним для дорослих, а також під час пре- і постнатального розвитку. У дорослих тварин (миші, щури, собаки і неоднозначно – мавпи) були виявлені ураження головного мозку, названі інтрамієліновим набряком. Ці ураження характеризувалися мікровакуолями в білій речовині і спостерігалися через ≥ 3 місяці введення препарату. Після відміни препарату мікровакуолізація в мозку зникала. У тварин не спостерігалось чітких поведінкових кореляцій.</p> <p>Дегенерація сітківки, спричинена вігабатрином, спостерігалася у мишей-альбіносів та щурів, але не у пігментованих щурів, собак або мавп. У дослідженнях токсичності щодо органів зору у разі повторних пероральних введень на щурах спостерігали дегенерацію сітківки при дозі ≥ 100 мг/кг/добу із залежними від дози частотою та тяжкістю. У 3-місячному дослідженні токсичного впливу на очі при пероральному введенні, у якому порівнювали щурів, яких піддавали впливу світла і не піддавали впливу світла, продемонстровано, що опромінення світлом може брати участь у розвитку дегенерації сітківки.</p> <p>Не виявлено генотоксичності вігабатрину як у тестах <i>in vitro</i>, так і <i>in vivo</i>.</p> <p>Довгострокові дослідження канцерогенності не виявили канцерогенного потенціалу вігабатрину.</p>
--	--

	<p>Вігабатрин не впливав на фертильність самців або репродуктивну функцію щурів. У дослідженнях пре- та постнатального розвитку та материнських функцій на щурах не спостерігалось впливу на фертильність самок. У тератологічних дослідженнях на кролях і щурах частота вад розвитку була низькою, тому вони вважалися випадковими та не пов'язаними з введенням препарату. Вігабатрин не чинив помітного впливу на постнатальний розвиток потомства, яке піддавалося дії препарату внутрішньоутробно та в період вигодовування до відлучення.</p> <p>У дослідженнях, що порівнювали токсичність вігабатрину та енантіомерів, продемонстровано, що токсичні ефекти вігабатрину зумовлені фармакологічно активним S-енантіомером, оскільки він спричиняв ті самі ефекти, що й рацемічна суміш, але при нижчих дозах.</p> <p>Таким чином, доклінічні дані свідчать про безпечність вігабатрину при застосуванні в діапазоні терапевтичних доз.</p>
--	---

Власник реєстраційного посвідчення (заявник)

