



Оригинальная статья / Research article

Сравнительное адаптивное исследование фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов GP30121 и Цераксон® с использованием коррекции на уровень эндогенного анализата

А. Н. Арефьева^{1, 3}✉, А. Р. Доротенко^{1, 3}, С. М. Носков⁴, И. Е. Макаренко^{1, 2},
Р. В. Драй¹, Т. Н. Комаров⁵, О. А. Арчакова⁵, Н. С. Багаева⁵, И. Е. Шохин⁵

¹ Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг». 198515, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Связи, д. 34-А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А. И. Евдокимова» Минздрава России). 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

⁴ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3». 150007, Россия, г. Ярославль, ул. Маяковского, д. 61

⁵ Общество с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики». 117149, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

✉ Контактное лицо: Арефьева Анна Николаевна. E-mail: Anna.Arefeva@geropharm.com

ORCID: А. Н. Арефьева – <https://orcid.org/0000-0003-3178-3581>; А. Р. Доротенко – <https://orcid.org/0000-0003-1142-6325>; С. М. Носков – <https://orcid.org/0000-0003-3456-9409>;
И. Е. Макаренко – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>; Р. В. Драй – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>;
Т. М. Комаров – <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; О. А. Арчакова – <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>;
Н. С. Багаева – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; И. Е. Шохин – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Статья поступила: 01.06.2023

Статья принята в печать: 18.08.2023

Статья опубликована: 25.08.2023

Резюме

Введение. Цитиколин – естественный эндогенный нуклеозид, состоящий из цитидина и холина, связанных дифосфатным мостиком, участвующий в синтезе мембранных фосфолипидов в качестве промежуточного звена. Препараты цитиколина обладают нейротропным и нейрометаболическим действием, используются для лечения широкого спектра неврологической патологии. Для регистрации воспроизведенного препарата цитиколина необходимо проведение исследования биоэквивалентности.

Цель. Целью данного исследования являлось изучение сравнительной фармакокинетики (ФК) и биоэквивалентности препаратов, содержащих цитиколин – GP30121 и Цераксон®, у здоровых добровольцев при приеме натощак.

Материалы и методы. В настоящей статье описана оценка фармакокинетики препаратов, содержащих цитиколин, с коррекцией на фоновое значение анализата (уридина). Для проведения исследования был выбран адаптивный дизайн. Определение концентрации уридина было выполнено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Статистический анализ проводили при помощи программного обеспечения R Project, версия 3.6.3.

Результаты и обсуждение. Было показано, что значения 94.12%-х ДИ при $\alpha = 0,0294$ для отношений геометрических средних основных ФК параметров основного метаболита действующего вещества исследуемых препаратов укладываются в допустимые пределы 80.00–125.00 %.

Заключение. Была доказана биоэквивалентность препаратов, из чего можно сделать вывод, что данный подход может быть рассмотрен в исследованиях других лекарственных средств.

Ключевые слова: цитиколин, уридин, адаптивный дизайн, биодоступность, безопасность

Конфликт интересов. Исследование спонсировалось ООО «ГЕРОФАРМ». Авторы Р. В. Драй, И. Е. Макаренко, А. Р. Доротенко, А. Н. Арефьева являются сотрудниками ЗАО «Фарм-Холдинг», который является подразделением ООО «ГЕРОФАРМ». Авторы И. Е. Шохин, С. М. Носков, Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова, Н. С. Багаева являются сотрудниками учреждений, выполнявших данное контрактное исследование для ООО «ГЕРОФАРМ».

Вклад авторов. Р. В. Драй, И. Е. Макаренко, А. Р. Доротенко, А. Н. Арефьева участвовали в планировании и координации всех этапов исследования биоэквивалентности. С. М. Носков руководил клиническим этапом исследования. И. Е. Шохин руководил аналитической частью исследования. Т. Н. Комаров и О. А. Арчакова выполняли аналитическую часть исследования, участвовали в разработке и валидации аналитической методики. Н. С. Багаева выполняла статистическую и фармакокинетическую часть исследования. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и подготовке рукописи.

Финансирование. Исследование финансировалось ООО «ГЕРОФАРМ».

Соответствие принципам этики. Условием для проведения исследования являлись Разрешение МЗ РФ № 173 от 31.03.2021 и одобрение исследования Советом по Этике (выписка из протокола заседания Совета по Этике № 269 от 23.03.2021). Протокол исследования GP30121-P4-11, версия 4.0 от 5 февраля 2021 г., и все основные документы исследования были одобрены Независимым этическим комитетом Государственного бюджетного учреждения Здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3» (выписка из протокола № 142 заседания Независимого Этического Комитета от 28 января 2022 г.). Проведение исследования соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на участие в исследовании.

© Арефьева А. Н., Доротенко А. Р., Носков С. М., Макаренко И. Е., Драй Р. В., Комаров Т. Н., Арчакова О. А., Багаева Н. С., Шохин И. Е., 2023

© Arefeva A. N., Dorotenko A. R., Noskov S. M., Makarenko I. E., Drai R. V., Komarov T. N., Archakova O. A., Bagaeva N. S., Shokhin I. E., 2023

Для цитирования: Арефьева А. Н., Доротенко А. Р., Носков С. М., Макаренко И. Е., Драй Р. В., Комаров Т. Н., Арчакова О. А., Багаева Н. С., Шохин И. Е. Сравнительное адаптивное исследование фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов GP30121 и Цераксон® с использованием коррекции на уровень эндогенного аналита. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(3):218–227. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-218-227>

An Open-label Randomized Crossover Study with Adaptive Design of the Pharmacokinetics and Bioequivalence of GP30121 and Ceraxon® Corrected for Endogenous Analyte Level

Anna N. Arefeva^{1,3}✉, Artem R. Dorotenko^{1,3}, Sergey M. Noskov⁴, Igor E. Makarenko^{1,2}, Roman V. Drai¹, Timofey N. Komarov⁵, Olga A. Archakova⁵, Natalya S. Bagaeva⁵, Igor E. Shokhin⁵

¹ CJSC "Pharm Holding", 34-A, Svyazi str., Saint-Petersburg, Strel'na settlement, 198515, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Pavlov University). 6–8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia

⁴ Clinical Hospital No. 3. 61, Mayakovskogo str., Yaroslavl, 150007, Russia

⁵ LLC "Center for Pharmaceutical Analytics". 8, Simferopolsky Boulevard, Moscow, 117149, Russia

✉ **Corresponding author:** Anna N. Arefeva. **E-mail:** Anna.Arefeva@geropharm.com

ORCID: Anna N. Arefeva – <https://orcid.org/0000-0003-3178-3581>; Artem R. Dorotenko – <https://orcid.org/0000-0003-1142-6325>; Sergey M. Noskov – <https://orcid.org/0000-0003-3456-9409>; Igor E. Makarenko – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>; Roman V. Drai – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>; Timofey N. Komarov – <https://orcid.org/0000-0001-8354-7877>; Olga A. Archakova – <https://orcid.org/0000-0001-6621-1060>; Natalya S. Bagaeva – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>; Igor E. Shokhin – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Received: 01.06.2023

Revised: 18.08.2023

Published: 25.08.2023

Abstract

Introduction. Citicoline is an endogenous nucleoside consisting of cytidine and choline linked by a diphosphate bridge that is involved in the synthesis of membrane phospholipids. Drugs containing citicoline have neuroprotective and neurometabolic effects and are used for the treatment of a wide range of neurological disorders. In its turn, bioequivalence study is a pathway to register a generic citicoline drug in Russian Federation.

Aim. The aim of the study was to investigate the comparative pharmacokinetics (PK) and bioequivalence of two citicoline-containing drugs GP30121 and Ceraxon® in healthy male volunteers when taken on an empty stomach.

Materials and methods. We evaluated the pharmacokinetics of citicoline-containing drugs corrected for endogenous analyte (uridine) level using an adaptive design. We determined uridine concentration by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. We used R Project software, version 3.6.3. for performing statistical analysis for the study.

Results and discussion. GP30121 and Ceraxon® exhibited similar PK profiles. It was shown that the values of 94.12% confidence interval (CI) at $\alpha = 0.0294$ for the geometric mean ratios for the primary PK parameters of the main metabolite of the active ingredient of the investigated drugs were fully contained within the predefined equivalence limits of 80.00–125.00%.

Conclusion. The study demonstrates bioequivalence of GP30121 and Ceraxon® proving the approach with the correction for endogenous analyte could be considered in studies of other drugs.

Keywords: citicoline, uridine, bioavailability, adaptive design, safety

Conflict of interest. The study was sponsored by LLC "GEROPHARM". The authors Roman V. Drai, Igor E. Makarenko, Artem R. Dorotenko, Anna N. Arefeva are employees of CJSC "Pharm Holding", which is a division of LLC "GEROPHARM". The authors Igor E. Shokhin, Sergey M. Noskov, Timofey N. Komarov, Olga A. Archakova, Natalya S. Bagaeva are employees of institutions that performed this contract study for LLC "GEROPHARM".

Contribution of the authors. Roman V. Drai, Igor E. Makarenko, Artem R. Dorotenko, Anna N. Arefeva participated in the planning and coordination of all stages of the bioequivalence study. Sergey M. Noskov supervised the clinical stage of the study. Igor E. Shokhin supervised the analytical part of the study. Timofey N. Komarov and Olga A. Archakova performed the analytical part of the study, participated in the development and validation of the analytical methodology. Natalya S. Bagaeva performed the statistical and pharmacokinetic part of the study. All authors participated in the discussion of the results and preparation of the manuscript.

Funding. The study was funded by LLC "GEROPHARM".

Compliance with the principles of ethics. The condition for conducting the study was the Permit of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 173 dated March 31, 2021 and the approval of the study by the Ethics Council (extract from the minutes of the meeting of the Ethics Council No. 269 dated March 23, 2021). The study protocol GP30121-P4-11, version 4.0 dated February 5, 2021, and all the main study documents were approved by the Independent Ethics Committee of the State Budgetary Health Institution of the Yaroslavl Region "Clinical Hospital No. 3" (extract from the protocol No. 142 of the meeting of the Independent Ethics Committee dated January 28, 2022). The study was carried out in accordance with the ethical standards developed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association "Ethical principles for conducting scientific medical research involving humans" as amended in 2000 and "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation", approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 19.06.2003 No. 266. All subjects provided written informed consent before any screening procedures were carried out.

For citation: Arefeva A. N., Dorotenko A. R., Noskov S. M., Makarenko I. E., Drai R. V., Komarov T. N., Archakova O. A., Bagaeva N. S., Shokhin I. E. An open-label randomized crossover study with adaptive design of the pharmacokinetics and bioequivalence of GP30121 and Ceraxon® corrected for endogenous analyte level. *Drug development & registration.* 2023;12(3):218–227. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-218-227>

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что смертность от эпизодов острого мозгового кровообращения (ОНМК) и их осложнений за последние два десятилетия повсеместно снижается, абсолютное число пациентов, перенесших ОНМК, достаточно велико и продолжает расти. Вероятно, именно поэтому инсульт остается второй по частоте причиной смерти по всему миру [1]. На территории Российской Федерации доля ОНМК в структуре общей смертности составляет 21,4 %, при этом за последние 10 лет смертность от ОНМК среди пациентов трудоспособного возраста увеличилась более чем на 30 % (41 на 100 000 населения), а ранняя 30-дневная летальность после инсульта приближается к 35 %¹.

Согласно национальным клиническим рекомендациям по неврологии, пациентам, перенесшим ишемический инсульт, показано назначение препаратов цитиколина. Внутривенное введение препарата в течение 10 дней с последующим переходом на пероральный прием достоверно улучшает исходы у пациентов с ишемическим инсультом и снижает показатели инвалидизации и смертности². На данный момент цитиколин является единственным нейропротектором, вошедшим в европейские рекомендации по лечению инсульта³. Помимо ОНМК, цитиколин также рекомендован в качестве препарата, обладающего нейрометаболическим действием, для коррекции когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии.

Цитиколин (цитидин-5'-дифосфатхолин или ЦДФ-холин) – естественный эндогенный нуклеозид, состоящий из цитидина и холина, связанных дифосфатным мостиком, участвующий в синтезе мембранных фосфолипидов в качестве промежуточного звена. При пероральном приеме цитиколин в организме человека быстро метаболизируется до холина и цитидина, с последующим стремительным дезаминированием последнего до уридина, который является как ключевым метаболитом экзогенного цитиколина, так и прекурсором эндогенного цитиколина [4]. Нейропротекторное и нейрометаболическое действие данного препарата обусловлено не только его участием в синтезе ацетилхолина, но и способностью окисляться до бетаина, донора метильных групп.

Лишь один препарат цитиколина в РФ на момент проведения данного исследования был представлен в виде таблеток, покрытых пленочной оболочкой.

¹ Неврология. Национальное руководство. Краткое издание. Доступно по: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970428900.html>. Ссылка активна на 14.08.2023.

² Неврология. Национальное руководство. Краткое издание. Доступно по: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970428900.html>. Ссылка активна на 14.08.2023.

³ Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack 2008. Available at: http://www.congrewswitzerland.com/fileadmin/files/2013/esostroke/pdf/ESO08_Guidelines_Original_english.pdf. Accessed: 01.09.2021.

Данная лекарственная форма предпочтительна для ряда пациентов, так как лишена как недостатков форм для парентерального введения (например, необходимость наличия квалифицированного персонала), так и недостатков жидкой пероральной формы (затруднения при глотании жидкостей у части пациентов с последствиями ОНМК, аллергические реакции на вспомогательные вещества и прочее), поэтому создание и выведение на рынок воспроизведенного препарата в виде таблеток является актуальной задачей. Одним из шагов к этому должно стать установление биоэквивалентности воспроизведенного и оригинального препаратов.

Целью данного исследования являлось изучение сравнительной фармакокинетики (ФК) и биоэквивалентности препаратов, содержащих цитиколин – GP30121 и Цераксон®, у здоровых добровольцев при приеме натошак. Помимо оценки фармакокинетических параметров (ФК параметров) основного метаболита цитиколина, был произведен сравнительный анализ данных о переносимости исследуемых препаратов (ИП).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Препарат сравнения (ПС) – Цераксон®, таблетки для приема внутрь, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг (Ferrer Internacional S.A., Испания). Тестируемый препарат (ТП) – GP30121, таблетки для приема внутрь, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг (ООО «ГЕРО-ФАРМ», Россия).

Дизайн и клиническая часть исследования

Исследование проводили в соответствии с протоколом, принципами Хельсинкской декларации, стандартами по Надлежащей клинической практике (ICH GCP), а также в соответствии с другим законодательством, принятым в РФ и ЕАЭС. Условием для проведения данного исследования являлись Разрешение МЗ РФ № 173 от 31.03.2021 и одобрение исследования Советом по Этике (выписка из протокола заседания Совета по Этике № 269 от 23.03.2021). Все добровольцы подписали форму информированного согласия до проведения каких-либо процедур.

В связи с тем, что литературные данные, необходимые для расчета объема выборки были весьма ограничены, для данного клинического исследования был предусмотрен адаптивный дизайн (Potvin C) с возможностью проведения 2 части исследования в случае недостижения мощности 80 % и неподтверждения биоэквивалентности с учетом корректировки ошибки первого рода ($\alpha = 0,0294$) [2]. Для 1 части исследования было запланировано рандомизировать 42 добровольца. С учетом того, что CV_{intra} для наибо-

лее вариабельного показателя (AUC) не превышает 29 %¹, завершить исследование по протоколу должны были не менее 38 добровольцев.

Критерии включения и невключения в исследование обеспечивали участие в исследовании здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет, мужчин и женщин, некурящих и не имеющих в настоящее время и в анамнезе зависимости от алкоголя или наркотиков. В исследование не могли быть включены добровольцы с положительными серологическими тестами на инфекции, отягощенным аллергологическим анамнезом, труднодоступными венами верхних конечностей, перенесшие значительную кровопотерю в течение последних 3 месяцев, соблюдающие любую особую диету или образ жизни, принимающие на регулярной основе какие-либо лекарственные препараты, а также принимавшие препараты или биологически активные добавки, содержащие холин и/или цитиколин в течение 14 дней до начала скрининга, беременные и кормящие.

Клиническая фаза исследования состояла из скрининга, 2 этапов приема ИП, периода «отмывки» и телефонного контакта в конце исследования. Длительность скрининга – до 14 дней. Длительность каждого этапа – 40 часов, период «отмывки» – 7 дней от момента приема препарата ($>5 t_{1/2}$). Также был предусмотрен телефонный контакт в конце исследования – на 8-й день после приема ИП в рамках этапа 2. Таким образом, общая продолжительность данного исследования для каждого добровольца не превышала 31 день.

В данном исследовании для оценки фармакокинетики ИП в качестве исследуемого анализа был выбран уридин, который представляет собой эндогенное вещество с выраженными циркадными колебаниями. Самый низкий значений уровень эндогенного уридина в плазме крови достигает после полудня, примерно к 15 часам, а пик его концентрации приходится на полночь [3]. В связи с этим, в условиях каждого этапа настоящего клинического исследования в день, предшествующий дню приема ИП, был предусмотрен забор крови для последующего определения базальных уровней анализа по тем же правилам и в тех же временных точках, что и забор образцов в день приема ИП, но без непосредственного приема препаратов. Данный подход соответствует современным регуляторным требованиям ЕАЭС и необходим для получения истинных значений прироста концентраций анализа после приема ИП.

¹ 6th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit, August 17-19, 2015 Chicago, USA. The bioequivalence of Citicoline 500 mg film tablet. Available at: <https://d2cax41o7ahm5l.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/onursal-saglam-novagenix-biyoanalitik-ilac-turkey.pdf>. Accessed: 05.2019.

Добровольцы были госпитализированы в исследовательский центр примерно за 12 часов до забора биообразцов для последующего определения базальных уровней анализа.

Субъекты принимали тестируемый препарат или препарат сравнения в дозе 1000 мг (2 таблетки по 500 мг), запив его 200 мл негазированной воды комнатной температуры, натощак (последний прием пищи был минимум за 12 часов до приема препарата).

Образцы крови были забраны в следующих точках: до (–10 минут) и через 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 1 ч 15 мин, 1 ч 30 мин, 1 ч 45 мин, 2 ч, 2 ч 30 мин, 3 ч, 3 ч 30 мин, 4 ч, 5 ч, 6 ч, 8 ч, 12 ч, 16 ч от запланированного времени приема ИП/приема ИП (например, если прием ИП осуществлялся в 6:00, то забор крови в рамках первого дня в точке «–10 минут» был осуществлен в 5:50).

Добровольцам первые 4 часа от времени приема препарата следовало избегать положения лежа, а также приема любых жидкостей, так как это могло привести к изменениям в фармакокинетике исследуемого анализа. Через 4 часа осуществлялось питание добровольцев, жидкость предоставлялась по потребности.

На протяжении каждой госпитализации врач-исследователь осуществлял динамическое наблюдение за добровольцами, которое включало: физикальный осмотр, измерение температуры тела, уровня артериального давления, частоты дыхательных движений и частоты сердечных сокращений. Также с целью оценки безопасности ИП в конце 2 этапа был забран биологический материал для выполнения клинического и биохимического анализов крови, анализа мочи.

После завершения этапа 2 (на 8 день от приема препарата врач-исследователь осуществлял телефонный звонок с целью контроля состояния добровольца.

Аналитическая часть исследования

Образцы крови во время каждого из периодов исследования были отобраны в вакуумные пробирки вместимостью 5 мл, содержащие натрия фторид (NaF) и калиевую соль EDTA (K_2EDTA или K_3EDTA), и через 30 минут были центрифугированы при охлаждении. Затем образцы плазмы были помещены в полипропиленовые пробирки в двух экземплярах (аликвоты А и Б), закупорены и заморожены на сухом льду. Объем плазмы в анализируемой аликвоте составил не менее 1,0 мл. В дальнейшем все образцы хранили при температуре ≤ -70 °C.

Определение концентрации уридина в крови участников исследования было выполнено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. При разработке методики количественного опреде-

ления уридина в плазме крови человека учитывался опыт других исследований, описанный в доступной литературе¹ [4].

Пробоподготовка проводилась способом осаждения белков ацетонитрилом. Количественное определение проводилось методом ВЭЖХ с использованием тандемного масс-спектрометрического детектора с тройным квадруполом. Разработанная методика была валидирована в соответствии с требованиями Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (утверждены решением № 85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.) по следующим валидационным параметрам: «селективность, специфичность, пригодность СО, эффект матрицы, калибровочная кривая, точность, прецизионность, степень извлечения, нижний предел количественного определения, перенос пробы, краткосрочная стабильность («настолярная» и «постпрепаративная»), стабильность при трехкратной заморозке-разморозке, стабильность исходных и рабочих стандартных растворов, долгосрочная стабильность аналита в матрице». Подтвержденный аналитический диапазон методики составил 60,00–6000,00 нг/мл в плазме крови, что позволяет применять разработанную методику для проведения аналитической части исследований фармакокинетики препаратов цитиколина по активному метаболиту уридину.

Статистический анализ данных

Статистический анализ был выполнен в один этап после завершения биоаналитических процедур и расчета фармакокинетических параметров в рамках каждой части КИ. Расчет фармакокинетических параметров и дисперсионный анализ проводили с помощью программного обеспечения R Project, версия 3.5.1 (Package "bear" 2.8.3-2) и пакета MS Excel. Статистический анализ исходных данных субъектов, а также анализ безопасности проводили при помощи программного обеспечения R Project, версия 3.6.3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании было скринировано 46 добровольцев с учетом 4 дополнительных субъектов, рандомизация была проведена для 42 субъектов (21 женщина и 21 мужчина). Добровольцы были распределены в одну из 2 групп в соотношении 1:1. Описательная статистика для возраста добровольцев и

исходных антропометрических характеристик представлена в таблице 1.

Таблица 1. Демографическая и антропометрическая информация о субъектах, рандомизированных в исследование. Описательная статистика (N = 42)

Table 1. Demographic and anthropometric information about subjects randomized to the study. Descriptive statistics (N = 42)

	Возраст (лет) Age (years)	Масса тела, кг Body weight, kg	Рост, см Height, cm	ИМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²
Mean	33,7	71,9	173,0	23,9
SD	6,8	9,3	6,2	2,0
Median	33,5	73,7	172,0	24,1
Min	18,0	54,5	160,0	20,4
Max	45,0	89,2	189,0	27,5

За время проведения настоящего исследования не было зарегистрировано ни одного нежелательного явления ни на фоне приема тестируемого препарата GP30121, ни на фоне приема препарата сравнения Цераксон®. Индивидуальные значения показателей безопасности у всех добровольцев находились в пределах физиологической нормы.

По результатам аналитической части исследования изменения концентрации уридина в плазме крови добровольцев до приема ИП примерно совпадали с описанными в литературе (рисунок 1). Минимальные значения концентрации эндогенного уридина приходились на 12:00, что раньше, чем в литературных данных (около 15:00), однако, необходимо учитывать раннее пробуждение добровольцев в день забора биобразцов (около 05:00). При построении профиля концентрации уридина после приема исследуемых препаратов без коррекции на базальный уровень аналита очевиден вклад в данный профиль эндогенного уридина, концентрация которого меняется в соответствии со временем суток, что не позволяет должным образом рассчитать исследуемые для оценки биоэквивалентности фармакокинетические параметры. В частности, наблюдались более высокие концентрации уридина в точке до приема препарата по сравнению с временной точкой «15 минут» после приема препарата, что соответствовало форме кривой эндогенного уридина и нивелировалось при вычитании его концентрации (минимальная концентрация уридина наблюдалась в точке «-10 минут») (рисунок 1).

Концентрация уридина в плазме крови добровольцев после приема ИП и коррекции на базальный уровень аналита не превысила 3368,19 нг/мл.

¹ 6th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit, August 17–19, 2015 Chicago, USA. The bioequivalence of Citicoline 500 mg film tablet. Available at: <https://d2cax41o7ahm5l.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/onursal-saglam-novagenix-biyoanalitik-ilac-turkey.pdf>. Accessed: 05.2019.

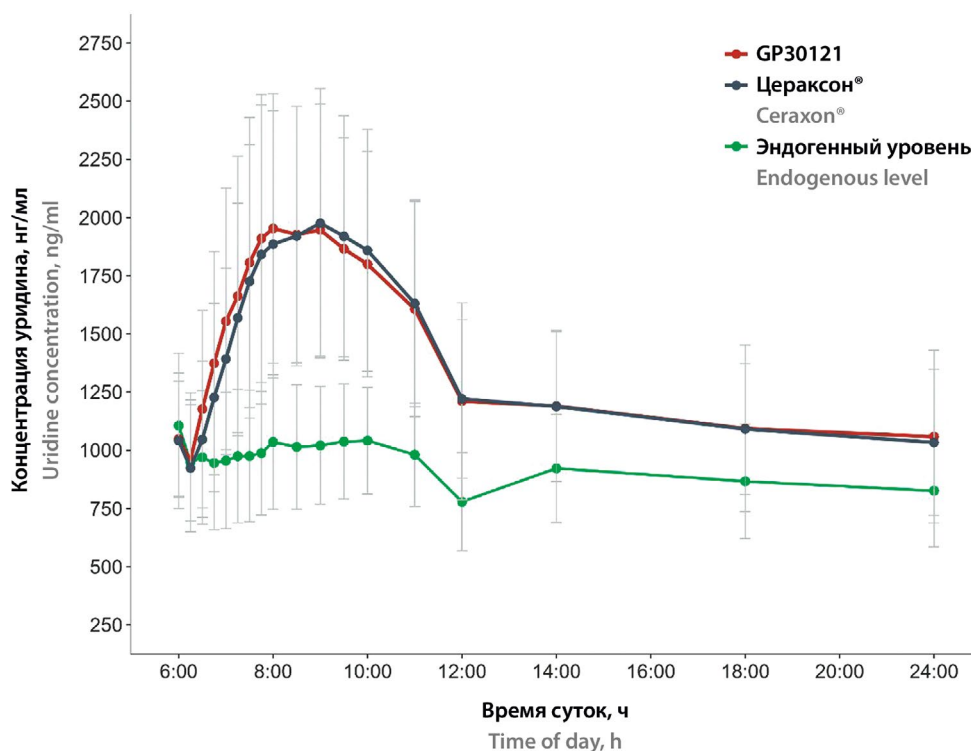


Рисунок 1. Усредненные профили концентрации уридина в плазме крови добровольцев после приема ТП и ПС в сравнении с уровнем эндогенного уридина в зависимости от времени суток. Синим цветом обозначен фармакокинетический профиль основного метаболита ПС Цераксон®, красным – фармакокинетический профиль основного метаболита ТП GP30121, зеленым – концентрация эндогенного уридина

Figure 1. Uridine plasma concentration during both periods after administration of GP30121 and Ceraxon® in comparison with the level of endogenous uridine depending on the time of the day. Blue – PK profile of the main metabolite of Ceraxon®, red – PK profile of the main metabolite of GP30121, green – concentration of endogenous uridine

В ходе проведения фармакокинетического анализа было выявлено, что у 1 субъекта показатель AUC_{0-t} уридина после приема ПС составил 259,39 нг/мл, что оказалось менее 5 % от среднего геометрического AUC_{0-t} уридина после приема ПС (Geom Mean (без учета значения AUC_{0-t} исключенного добровольца) = 5579,12 нг/мл; где 5 % от Geom Mean = 278,96 нг/мл). В связи с этим субъект был исключен из анализа фармакокинетики и оценки биоэквивалентности.

Для каждого добровольца по данным зависимости концентраций уридина в плазме крови от времени были рассчитаны следующие фармакокинетические параметры: AUC_{0-t} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, K_{el} и $AUC_{0-\infty}$. Для каждого из перечисленных показателей приведены значения описательной статистики (таблица 2).

На рисунке 2 представлены усредненные фармакокинетические профили уридина после коррекции на его эндогенный уровень в плазме крови добровольцев после приема ПС и ТП. Графическое представление данных концентраций демонстрирует, что данные профили имеют совпадающие формы.

Ввиду того, что в исследовании был предусмотрен адаптивный дизайн с последовательным подходом по Potvin, тип С, на основании данных, получен-

ных от 41 субъекта, была проведена оценка биоэквивалентности при $\alpha = 0,05$ и стандартных 90%-х доверительных интервалах (ДИ), а также выполнен расчет мощности. Было показано, что значения рассчитанных 90%-х ДИ для отношений геометрических средних основных ФК параметров основного метаболита действующего вещества ИП укладываются в допустимые пределы 80,00–125,00 % (таблица 3).

Однако, при оценке статистической мощности исследования с учетом полученных коэффициентов внутрииндивидуальной вариации фармакокинетических параметров C_{max} ($CV_{intra} = 31,21\%$) и AUC_{0-t} ($CV_{intra} = 31,27\%$) было выявлено, что статистическая мощность исследования по фармакокинетическому параметру C_{max} составила 79,64 %, по фармакокинетическому параметру AUC_{0-t} – 79,51 % (менее 80 %). В связи с этим дальнейший анализ биоэквивалентности и оценку гипотезы проводили при уровне значимости $\alpha = 0,0294$ и значении ДИ 94,12 % для показателей AUC_{0-t} и $Stax$ уридина.

Было показано, что значения 94,12%-х ДИ при $\alpha = 0,0294$ для отношений геометрических средних основных ФК параметров основного метаболита действующего вещества ИП укладываются в допустимые пределы 80,00–125,00 % (таблица 3).

Таблица 2. Описательная статистика для фармакокинетических параметров исследуемых препаратов (N = 41)

Table 2. Descriptive statistics for pharmacokinetic parameters of study drugs (N = 41)

Параметр Parameter									
	C_{max} , нг/мл C_{max} , ng/mL	AUC_{0-t} , нг·ч/мл AUC_{0-t} , ng·h/mL	$AUC_{0-\infty}$, нг·ч/мл $AUC_{0-\infty}$, ng·h/mL	$\ln(C_{max})$	$\ln(AUC_{0-t})$	$\ln(AUC_{0-\infty})$	K_{el} , ч ⁻¹ K_{el} , h ⁻¹	t_{max} , ч t_{max} , h	$t_{1/2}$, ч $t_{1/2}$, h
Цераксон® Ceraxon®									
Mean	1198,78	6745,04	7950,27	6,99	8,68	8,83	0,347	2,41	3,63
Geom Mean	1088,77	5891,42	6844,79	6,98	8,66	8,81	0,259	2,14	2,68
Median	1194,02	6161,66	6856,96	7,09	8,73	8,83	0,241	2	2,88
SD	511,30	3278,29	4018,43	0,46	0,58	0,62	0,271	1,30	3,05
CV, %	42,65	48,60	50,54	6,61	6,65	7,03	78,04	53,86	84,23
Min	323,31	740,19	741,56	5,78	6,61	6,61	0,054	1	0,63
Max	2599,65	15026,56	19683,34	7,86	9,62	9,89	1,110	6	12,78
GP30121									
Mean	1198,78	6745,04	7950,27	6,99	8,68	8,83	0,347	2,41	3,63
Geom Mean	1088,77	5891,42	6844,79	6,98	8,66	8,81	0,259	2,14	2,68
Median	1194,02	6161,66	6856,96	7,09	8,73	8,83	0,241	2	2,88
SD	511,30	3278,29	4018,43	0,46	0,58	0,62	0,271	1,30	3,05
CV, %	42,65	48,60	50,54	6,61	6,65	7,03	78,04	53,86	84,23
Min	323,31	740,19	741,56	5,78	6,61	6,61	0,054	1	0,63
Max	2599,65	15026,56	19683,34	7,86	9,62	9,89	1,110	6	12,78

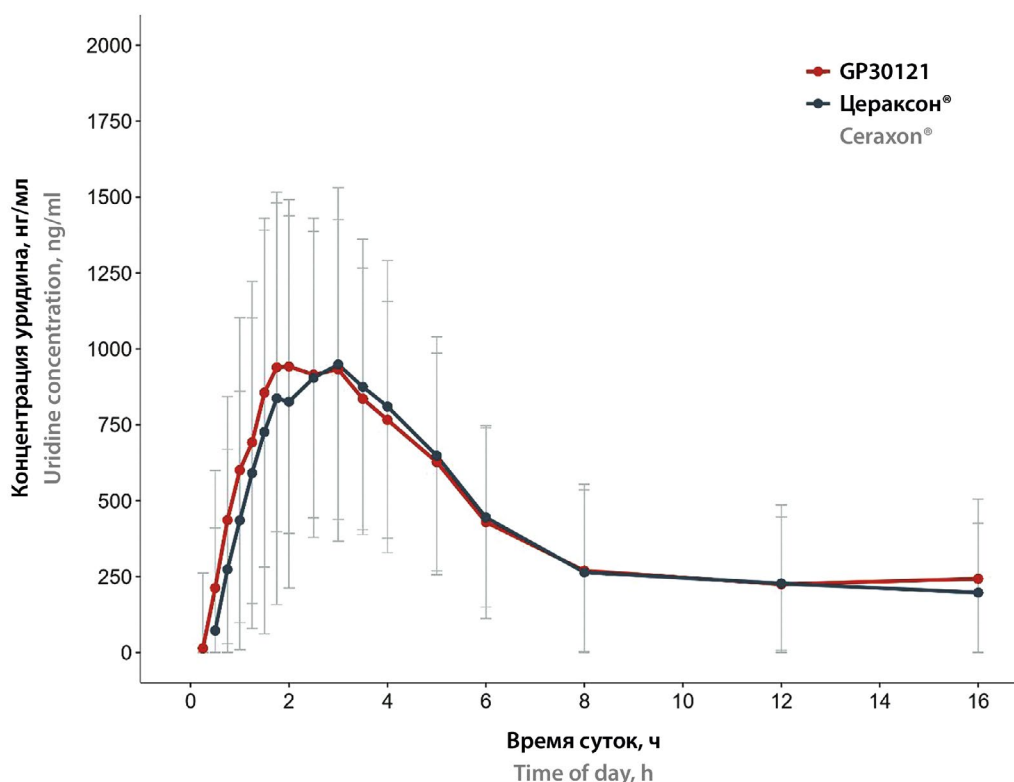


Рисунок 2. Усреднённые фармакокинетические профили уридина в плазме крови в линейных координатах, Mean ± SD (N = 41). По оси Y – концентрация уридина в плазме крови (нг/мл), по оси X – время после приема ИП. Синим цветом обозначен фармакокинетический профиль основного метаболита ПС Цераксон®, красным – фармакокинетический профиль основного метаболита ТП GP30121

Figure 2. Arithmetic mean pharmacokinetic profile on linear scale of uridine. Mean ± SD (N = 41). Y-axis – uridine plasma concentration (ng/mL), X-axis – time after administration of either GP30121 or Ceraxon®. Blue – PK profile of the main metabolite of Ceraxon®, red – PK profile of the main metabolite of GP30121

Таблица 3. Значения рассчитанных доверительных интервалов для показателей уридина AUC_{0-t} и C_{max}

Table 3. Calculated confidence intervals for uridine AUC_{0-t} and C_{max}

Параметр Parameter	Соотношение геометрических средних, % Ratio of geometric means, %	Нижняя граница, % Lower limit, %	Верхняя граница, % Upper limit, %	Допустимые значения, % Valid values, %
90 % доверительный интервал 90 % confidence interval				
AUC_{0-t}	105,41	94,08	118,10	80–125
C_{max}	106,83	95,37	119,67	80–125
94,12 % доверительный интервал 94,12 % confidence interval				
AUC_{0-t}	105,41	92,43	120,20	80–125
C_{max}	106,83	93,70	121,79	80–125

Следовательно, препараты GP30121, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг (ООО «ЕРО-ФАРМ», Россия), и Цераксон®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг (Ferrer Internacional S.A., Испания) являются биоэквивалентными.

Биологическая ценность цитиколина в основном связана с входящим в его состав холином, являющимся промежуточным продуктом синтеза структурных фосфолипидов клеточных мембран и ацетилхолина. Цитидин после превращения в уридин используется для синтеза ДНК, РНК и фосфолипидов. Поскольку при пероральном приеме цитиколин в организме человека быстро метаболизируется до холина и цитидина, с последующим стремительным дезаминированием последнего до уридина, особенностью проведения данного исследования стала необходимость установления биоэквивалентности для препаратов, основными метаболитами которых являются эндогенные соединения. Данное обстоятельство вносит определенные трудности в оценку фармакокинетики ИП, так как фоновое содержание как холина, так и уридина подвержено суточным колебаниям в соответствии с циркадным ритмом секреции вещества. Такие колебания могут вносить существенные искажения в результаты оценки концентрации препаратов с целью построения их фармакокинетических профилей и расчета основных фармакокинетических параметров.

На сегодняшний день используется несколько научно обоснованных подходов для разработки дизайна исследования биоэквивалентности и последующей оценки результатов в таких случаях [5].

В Российской Федерации строгие требования к исследованиям биоэквивалентности аналогов эндогенных соединений не закреплены, однако, основные рекомендации изложены в Руководстве по экспертизе лекарственных средств и соответствуют европейским рекомендациям. «Исследование концентраций аналогов эндогенных соединений рекомендует-

ся проводить с поправкой на фоновое содержание эндогенного анализа, чтобы исследуемые фармакокинетические параметры относились к дополнительным концентрациям, полученным вследствие приема препарата. В качестве поправки предпочтительно использовать стандартное вычитание: вычитается либо средняя концентрация эндогенного вещества, определенная до приема препарата, либо средняя AUC ». Изредка, когда концентрация эндогенного вещества после приема препарата существенно превышает фоновую, поправка на фоновое содержание эндогенного вещества не требуется [6].

Допускается использование супратерапевтических доз исследуемых препаратов, если это необходимо для достоверного измерения концентраций, превосходящих фоновые [6]. «Если ранее не было продемонстрировано различия в концентрации исследуемых анализов после приема различных доз, необходимо определить ее либо в пилотном исследовании с использованием различных доз, либо в рамках одного из этапов исследования биоэквивалентности».

В зарубежной практике рекомендуется определять эндогенную концентрацию исследуемого анализа в крови перед каждым этапом исследования и вычитать ее из общей концентрации измеряемого соединения. Если вычитание приводит к отрицательному значению, это значение необходимо принимать за 0 при расчете скорректированной AUC . Статистическую обработку полученных данных рекомендовано проводить как для скорректированных, так и не скорректированных на фоновое значение концентраций исследуемого соединения¹.

В литературе представлено множество исследований биоэквивалентности аналогов эндогенных соединений, подходы к дизайну и обработке результатов в которых разнятся. Как по мнению российских [5], так и зарубежных коллег [7], ни одно из исследований не может быть эталоном подхода к исследованиям эндогенных соединений с определенной фоновой концентрацией. Однако, можно допустить, что рекомендации по проведению исследований препаратов, подобных цитиколину, минимально должны включать следующие пункты:

- все добровольцы должны быть максимально стандартизированы по демографическим и антропометрическим показателям и диете;
- длительность и точки забора биобразцов для определения фоновых концентраций должны соответствовать таковым после приема ИП;
- необходимо использовать методы поправки на фоновую концентрацию соединений, если концентрация после приема препарата незначительно возрастает и несущественно превышает фоновую.

¹ Bioequivalence Studies With Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA Guidance for Industry, FDA, 2021. Available at: <https://www.fda.gov/media/87219/download>. Accessed: 10.2022.

Несмотря на то, что корректировка на базальный уровень ананта используется не во всех исследованиях биоэквивалентности цитиколина [4], в данном исследовании было решено использовать именно этот подход, так как он основан на российских и мировых рекомендациях, а также более обширном литературном опыте по исследованиям эндогенных соединений.

В литературе представлены данные исследования изменений концентраций холина и цитидина после приема 2000 мг цитиколина [8]. После приема препарата в данной дозе через 2 часа средняя концентрация холина увеличилась на 48 %, а цитидина, предшественника уридина, на 136 %. По данным другого исследования было показано, что при приеме 500, 2000 и 4000 мг цитиколина концентрация уридина составила 101, 136 и 134 % по сравнению с базальным уровнем, соответственно, а концентрация холина – 23, 32 и 43 %, соответственно [9]. Существуют прецеденты исследований биоэквивалентности, где в качестве ананта также был использован уридин¹ [4]. Эти аргументы обосновывают выбор уридина в качестве показательного метаболита для оценки фармакокинетики ИП.

Результаты, показанные в предыдущих исследованиях, также использованы при выборе дозы препарата. Максимальные концентрации уридина по сравнению с базальным уровнем определялись при приеме 2000 мг цитиколина [13]. На сегодняшний день 2000 мг цитиколина является максимальной терапевтической дозой. При этом в исследовании с похожим подходом при корректировке на базальный уровень уридина после приема препарата в дозе 500 мг максимальная концентрация уридина составила 600–800 нг/мл², что предполагает применение аналитической методики с LLOQ около 30 нг/мл (5 % от C_{max}). Принимая во внимание данные обстоятельства, для настоящего исследования была выбрана доза 1000 мг, так как данная доза позволила увеличить разницу между уровнем уридина после приема препарата и базальным уровнем, но в то же время избежать возможных нежелательных явлений препарата.

Однако, данные литературы по значениям вариации основных показателей (AUC и C_{max}), необходимые для расчета числа испытуемых, были представ-

лены только одним исследованием³. Недостаточное количество испытуемых, включенных в исследование, могло повлечь за собой реализацию β -ошибки, когда недостаточная мощность исследования оставляет вероятность неподтверждения биоэквивалентности в тех случаях, когда она есть. Проведение двух исследований, одно из которых может расцениваться в качестве пилотного, не является оптимальным выбором для исследований воспроизведенных препаратов, это приведет к увеличению времени выведения препарата на рынок, а также увеличению стоимости процесса его исследования. В связи с этим в данном исследовании был выбран адаптивный дизайн (Potvin C). В данном подходе в первый этап исследования включают когорту добровольцев, численность которой рассчитывают из имеющихся литературных данных, либо может быть принята гипотеза о низкой вариативности препарата (не более 30 %). После завершения первого этапа проводят промежуточный анализ, который позволяет определить необходимое дополнительное число добровольцев. Затем, после добора добровольцев, производят анализ объединенной выборки и делают вывод о биоэквивалентности. Такой подход относится к широкому спектру групповых последовательных методов с возможностью ранней остановки исследования, как по демонстрации эффективности, так и по бесполезности [10]. Этот спектр методов, по рекомендациям FDA, имеет преимущества с точки зрения этики и достижения эффективности за счет уменьшения ожидаемого размера выборки и продолжительности клинических испытаний, а также ускорения утверждения безопасных и эффективных новых методов лечения⁴.

Одним из недостатков подобного дизайна является возможность внесения статистической ошибки, связанной с недостаточным контролем заданного уровня ошибки первого рода. Так как нулевая гипотеза в данном случае будет протестирована дважды, более вероятно ее случайное опровержение. В одной из моделей преодоления последствий такого расчета используется подход S. Pocock, который выражается в сужении рамок отрицания нулевой гипотезы и уменьшения уровня α с 0.05 до 0.0294 [11]. Данная модель учитывается в различных алгоритмах дизайна по Potvin [2].

В настоящем исследовании использовали алгоритм Potvin C, который является оптимальным с той точки зрения, что учитывает как необходимость

¹ 6th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit, August 17-19, 2015 Chicago, USA. The bioequivalence of Citicoline 500 mg film tablet. Available at: <https://d2cax41o7ahm5l.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/onursal-saglam-novagenix-biyoanalitik-ilac-turkey.pdf>. Accessed: 05.2019.

² 6th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit, August 17-19, 2015 Chicago, USA. The bioequivalence of Citicoline 500 mg film tablet. Available at: <https://d2cax41o7ahm5l.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/onursal-saglam-novagenix-biyoanalitik-ilac-turkey.pdf>. Accessed: 05.2019.

³ 6th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit, August 17-19, 2015 Chicago, USA. The bioequivalence of Citicoline 500 mg film tablet. Available at: <https://d2cax41o7ahm5l.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/onursal-saglam-novagenix-biyoanalitik-ilac-turkey.pdf>. Accessed: 05.2019.

⁴ Adaptive Design Clinical Trials for Drugs and Biologicals. Food and Drug Administration, 2019. Available at: <https://www.fda.gov/media/78495/download>. Accessed: 10.2022.

уменьшения уровня α в случае недостижения мощности 80 %, так и предусматривает возможность тестирования гипотезы биоэквивалентности при использовании стандартных 90%-х ДИ в случае достижения заданной мощности в результате первого этапа исследования [2]. При этом существует риск завершения исследования при достижении мощности 80 % и выходе исследуемых соотношений за установленные пределы. В данном исследовании такой проблемы не возникло, вероятно, потому, что препарат характеризуется низкой вариабельностью (не более 30 %). Однако, в случае исследования препаратов, характеризующихся более высокой вариабельностью, необходимо предусмотреть больший объем выборки [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании был показан пример оценки биоэквивалентности препаратов, метаболиты которых синтезируются в организме человека эндогенно, при отсутствии широкого опыта проведения исследований в подобного рода подходе и достаточных литературных данных для планирования размера выборки исследования. В результате была доказана биоэквивалентность, что необходимо для последующей регистрации воспроизведенного препарата.

Таким образом, подобная стратегия проведения исследования биоэквивалентности позволила доказать сопоставимую биодоступность ИП в одобренном регуляторными органами дизайне, что может быть использовано при исследовании других препаратов-предшественников эндогенных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

- Feigin V. L., Forouzanfar M. H., Krishnamurthi R., Mensah G. A., Connor M., Bennett D. A., Moran A. E., Sacco R. L., Anderson L., Truelsen T., O'Donnell M., Venketasubramanian N., Barker-Collo S., Lawes C. M., Wang W., Shinohara Y., Witt E., Ezzati M., Naghavi M., Murray C. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2014;383(9913):245-254. DOI: 10.1016/s0140-6736(13)61953-4.
- Potvin D., DiLiberti C., Hauck W., Parr A., Schuirmann D., Smith R. A. Sequential design approaches for bioequivalence studies with crossover designs. *Pharmaceutical Statistics*. 2008;7(4):245-262. DOI: 10.1002/pst.294.
- Peters G. J. Re-evaluation of Brequinar sodium, a dihydroorotate dehydrogenase inhibitor. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 2018;37(12):666-678. DOI: 10.1080/15257770.2018.1508692.
- Chen K., Liu X., Wei C., Yuan G., Zhang R., Li R., Wang B., Guo R. Determination of Uridine in Human Plasma by HPLC and its Application in Citicoline Sodium Pharmacokinetics and Bioequivalence Studies. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 2011;3(4):072-076. DOI: 10.4172/JBB.1000062.
- Адонин В. К., Ромодановский Д. П., Ниязов Р. Р. Особенности проведения исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов -аналогов эндогенных соединений. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;3:3-7.
- Миронов А. Н. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том III. М.: ПОЛИГРАФ-ПЛИУС; 2014. 344 с.
- Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances ('endogenous drugs'): considerations to optimize study design. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2010;69(3):238-244. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2009.03585.x.
- Lopez G-Coviella I., Agut J., Von Borstel R., Wurtman R. J. Metabolism of cytidine (5') - diphosphocholine (cdp-choline) following oral and intravenous administration to the human and the rat. *Neurochemistry International*. 1987;11(3):293-297. DOI: 10.1016/0197-0186(87)90049-0.
- Wurtman R. J., Regan M., Ulus I., Yu L. Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochemical Pharmacology*. 2000;60(7):989-992. DOI: 10.1016/s0006-2952(00)00436-6.
- Бондарева И. Б. Адаптивный дизайн в клинических исследованиях: преимущества и риски. *Качественная клиническая практика*. 2017;3:23-34. DOI: 10.24411/2588-0519-2017-00018.
- Pocock S. Group sequential methods in the design and analysis of clinical trials. *Biometrika*. 1977;64(8):191-199. DOI: 10.2307/2335684.
- Талибов О. Б. Использование адаптивного дизайна в исследованиях биоэквивалентности (обзор). *Вестник Росздравнадзора*. 2015;2:31-34.

REFERENCES

- Feigin V. L., Forouzanfar M. H., Krishnamurthi R., Mensah G. A., Connor M., Bennett D. A., Moran A. E., Sacco R. L., Anderson L., Truelsen T., O'Donnell M., Venketasubramanian N., Barker-Collo S., Lawes C. M., Wang W., Shinohara Y., Witt E., Ezzati M., Naghavi M., Murray C. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2014;383(9913):245-254. DOI: 10.1016/s0140-6736(13)61953-4.
- Potvin D., DiLiberti C., Hauck W., Parr A., Schuirmann D., Smith R. A. Sequential design approaches for bioequivalence studies with crossover designs. *Pharmaceutical Statistics*. 2008;7(4):245-262. DOI: 10.1002/pst.294.
- Peters G. J. Re-evaluation of Brequinar sodium, a dihydroorotate dehydrogenase inhibitor. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 2018;37(12):666-678. DOI: 10.1080/15257770.2018.1508692.
- Chen K., Liu X., Wei C., Yuan G., Zhang R., Li R., Wang B., Guo R. Determination of Uridine in Human Plasma by HPLC and its Application in Citicoline Sodium Pharmacokinetics and Bioequivalence Studies. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 2011;3(4):072-076. DOI: 10.4172/JBB.1000062.
- Adonin V. K., Romodanovskiy D. P., Niyazov R. R. Specific features of the bioequivalence study of drugs - analogs of endogenous compounds. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2015;3:3-7. (In Russ.)
- Mironov A. N., Guidelines for the Medicinal Products Examination. Volume III. Moscow: POLIGRAF-PLYUS; 2014. 344 p. (In Russ.)
- Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances ('endogenous drugs'): considerations to optimize study design. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2010;69(3):238-244. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2009.03585.x.
- Lopez G-Coviella I., Agut J., Von Borstel R., Wurtman R. J. Metabolism of cytidine (5') - diphosphocholine (cdp-choline) following oral and intravenous administration to the human and the rat. *Neurochemistry International*. 1987;11(3):293-297. DOI: 10.1016/0197-0186(87)90049-0.
- Wurtman R. J., Regan M., Ulus I., Yu L. Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochemical Pharmacology*. 2000;60(7):989-992. DOI: 10.1016/s0006-2952(00)00436-6.
- Bondareva I. B. Adaptive designs in clinical trials: benefits and risks. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. 2017;3:23-34. (In Russ.) DOI: 10.24411/2588-0519-2017-00018.
- Pocock S. Group sequential methods in the design and analysis of clinical trials. *Biometrika*. 1977;64(8):191-199. DOI: 10.2307/2335684.
- Talibov O. B. Adaptive design in bioequivalence studies (a review). *Vestnik Roszdravnadzora*. 2015;2:31-34. (In Russ.)