

---

**БІОФАРМАЦЕВТИЧНА КЛАСИФІКАЦІЙНА  
СИСТЕМА – НАУКОВА ОСНОВА СТВОРЕННЯ  
ЕФЕКТИВНИХ ТА БЕЗПЕЧНИХ  
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

---

**Головенко М. Я., Ларіонов В. Б., Валіводзь І. П.**  
DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-466-5-12>

**ВСТУП**

За останні роки у біофармацевтичних дослідженнях накопичено значну кількість нових знань, які сьогодні успішно застосовуються у різних напрямках фармацевтичної науки і практики. Вони послужили поштовхом до розвитку індустрії сучасних допоміжних речовин, нових поколінь лікарських форм, нових вимог до лікарських препаратів і методам їх оцінки. Про важливість принципів біофармації свідчить той факт, що вона є актуальною і основоположною у таких важливих документах як ICH Q8 (R2) Pharmaceutical Development, у яких відображені етапи, наповнення, логіку і вимоги до фармацевтичної розробки. Вони окреслюють такі основні біофармацевтичні властивості активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ), як розчинність, оптична ізомерія, поліморфізм, кристалічність, розміри часток, стабільність, що мають значення для створення ефективних та безпечних лікарських засобів (ЛЗ). Усіх їх для кожної окремої субстанції слід розглядати у взаємозв'язку, однак, визнаними лідерами по силі впливу на біодоступність (БД) є розчинність та проникність крізь біологічні мембрани кишечника і саме вони закладені в основу біофармацевтичної системи класифікації (БСК), яка була запропонована Амідоном та співавторами у 1995 р.<sup>1</sup> і прийнята FDA в 2001 р. як рекомендацію для промисловості по розробці тесту «Розчинення»<sup>2</sup>. Роком пізніше, майже в незмінному вигляді, концепцію було схвалено і в Європейському

---

<sup>1</sup> Amidon G.L., Lennernäs H., Shah V.P., Crison J.R.: A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res.* 12, P. 413.

<sup>2</sup> BIO's editors' and reporters' guide to biotechnology – a new link to hope /LM Baron & A Massey, Eds/ 2004. – Washington, DC, Biotechnology Industry Organization. – 138 p. A.1. (May 1976).

Союзи<sup>3</sup>. Державний експертний центр МОЗ України також одним із пріоритетних напрямків у своїй діяльності вважає введення в країні принципів БСК<sup>4,5</sup>, що дозволяє використовувати в регуляторній практиці принцип біоєвейверу<sup>6</sup>, та припускає відмову від досліджень біоеквівалентності (БЕ) *in vivo*. Знання приналежності АФІ до того або іншого класу БСК робить цю класифікацію важливим інструментом в процедурі обґрунтування складу, дизайну і технології лікарської форми з бажаними біофармацевтичними характеристиками. Оскільки біоєвейвер можна використати тільки для ЛЗ, АФІ яких відносять до I та III класів, це відіграє ключову роль в комплексній оцінці еквівалентності *in vitro*. Отже, визначення біодоступності (БД) та оцінка біоеквівалентності (БЕ) препарату є важливими елементами при його розробці та державній реєстрації та є «фільтром», що перешкоджає надходженню в медичну практику неякісних ліків.

### 1. Теоретичне обґрунтування БСК

БД є ключовим фармакокінетичним параметром, який представляє собою швидкість і ступінь надходження (всмоктування) АФІ з відповідної лікарської форми і місця введення в системний кровообіг, внаслідок чого він стає доступним в біофазі. Таке визначення відзеркалює відносний характер поняття БД, а також інтегральний (ступінь всмоктування) і кінетичний (швидкість всмоктування) в її кількісній оцінці. Вони в значній мірі визначаються такими біофармацевтичними чинниками, як розчинність, стабільність люмінальної поверхні (хімічна і / або ферментативна), час проходження через кишечник і кишкова проникність АФІ. Для досягнення досить високої системної БД більшості ЛЗ необхідна фармацевтична розробка, що дозволяє отримати належний профіль концентрації в плазмі на протязі необхідного для лікування часу.

При вивченні БД найбільш важливими є наступні фармакокінетичні параметри: максимум (пік) концентрації препарату в крові ( $C_{max}$ ); час

---

<sup>3</sup> Council Directive 75/318/EEC of 20 May on the approximation of the laws of Member States relating to analytical, pharmacotoxicological and clinical standards and protocols in respect of the testing of medicinal products part 3, section II.

<sup>4</sup> Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.2:2018 «Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності», наказ МОЗ України від 02 листопада 2018 року № 2014.

<sup>5</sup> Наказ Міністерства охорони здоров'я України (із змінами) від 23.07.05 № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення».

<sup>6</sup> Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry. FDA, 2017.

досягнення максимальної концентрації ( $T_{max}$ ); площа під кривою залежності концентрації ЛЗ в крові від часу ( $AUC$ ).

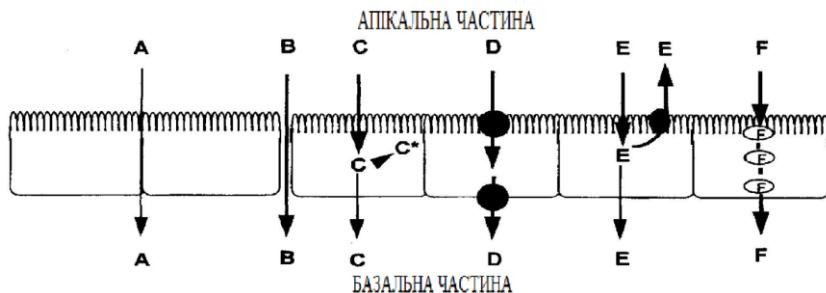
У фармакокінетичних дослідженнях дуже часто ототожнюють поняття всмоктування з БД. У більшості випадках це правомірно, проте в деяких необхідно враховувати їх відмінності. В основному, БД залежить від інтестинального і печінкового кліренсу АФІ. У тому випадку, коли швидкість кліренсу лінійно залежить від концентрації сполуки в крові, всмоктування і БД тотожні. Проте якщо процес кліренсу здійснюється за допомогою активної секреції або метаболічним шляхом і він стає насиченим, то фармакокінетична залежність стає нелінійною. В цьому випадку зміна всмоктування не супроводжується пропорційною зміною БД.

Коли ЛЗ, що діє системно, вводиться в твердій дозованій формі, такій як таблетка або капсула, всмоктування його в системний кровообіг, взагалі, може бути описано наступними послідовними кроками: 1) розпад таблетки та вивільнення твердих частинок ЛЗ; 2) розчинення частинок ЛЗ в рідкому середовищі ШКТ; 3) проникнення молекул ЛЗ з кишкової рідини крізь нерухомий водний шар на прилеглу слизову поверхню; 4) виділення молекул ЛЗ з рідкого середовища в слизову; 5) проникнення ЛЗ крізь слизову і надходження його в системний кровообіг.

## **2. Механізми транспорту лікарських засобів в кишечнику та їх проникність крізь біологічні мембрани**

З фізіологічної точки зору процес всмоктування речовини розглядається як її переніс з навколишнього середовища організму в його внутрішню частину. Відповідно це порожнина (просвіт) травного каналу та клітини слизової оболонки кишок, міжклітинний простір, лімфа і кров. Щодо ЛЗ, то для їх оральних твердих форм порожнина кишечника є місцем, що забезпечує БД. Всмоктування поживних речовин та ЛЗ проходить головним чином у тонких кишках, які морфологічно та функціонально пристосовані до цього.

Всмоктування препаратів в ШКТ включає наступні основні шляхи перенесення речовини (Рис. 1): а) міжклітинний (парацелюлярний), та б) крізьклітинний (трансцелюлярний). Вони відбуваються шляхом простої дифузії, а крізьклітинний і за допомогою переносників. Окрім того, деякі ЛЗ є субстратами для Р-глікопротеїнів (Р-gp), що висмокують їх з відповідних тканин, інші приймають участь у трансцитозі.



**Рис. 1. Шляхи кишкового всмоктування: (А) – парацелюлярна дифузія; (В) – парацелюлярна дифузія покращена модулятором сильних зв'язків; (С) – трансцелюлярна пасивна дифузія (С\*, інтрацелюлярний метаболізм); (D) – трансцелюлярний транспорт, пов'язаний з переносниками; (Е) – трансцелюлярна дифузія, модифікована апікально поляризованим механізмом витоку; (F) – трансцелюлярний васкулярний транцитоз**

Більшість (90%) ЛЗ всмоктуються в ШКТ за рахунок пасивної дифузії крізьклітинним шляхом<sup>7</sup> [11]. Фундаментальне рівняння, що описує пасивний транспорт лікарських засобів через слизову оболонку, ґрунтується на формі першого закону Фіка:

$$J = P \cdot C_{Aq} \quad (1)$$

де  $J$  – потік АФІ крізь слизову оболонку (маса/площа/час),  $P$  – коефіцієнт проникнення АФІ крізь ліпофільну слизову та  $C_{Aq}$  – концентрація АФІ в рідинному середовищі (ВЕШ). Коефіцієнт проникнення визначається наступним рівнянням:

$$P = \frac{D \cdot K}{h} \quad (2)$$

де  $D$  – коефіцієнт дифузії АФІ усередині мембрани,  $K$  – коефіцієнт надходження АФІ з рідинного шару в слизову оболонку,  $h$  – ефективна товщина слизової мембрани.

Отже, для успішного проникнення молекули ЛЗ крізь слизову вона повинна володіти достатньою розчинністю ( $C_s$ ), яка дозволяє ефективну доставку препарату до слизової поверхні (в результаті чого досягається високий показник  $C_{Aq}$ ).

Масова швидкість розчинення ЛЗ описується рівнянням Нойнеса-Уїтні:

<sup>7</sup> Versantvoort C.H.M., Rempelberg C.J.M., Sips A.J.A.M. Methodologies to Study Human Intestinal Absorption. A Review RIVM report 630030 001,2000. P. 1-55.

$$\frac{dM}{dt} = \frac{D \cdot S}{h_D} (C_s - C) \quad (3)$$

де  $M$  – маса ЛЗ, розчиненого протягом часу  $t$ ,  $D$  – коефіцієнт дифузії ЛЗ через рідинний дифузійний шар (нерухомий шар на поверхні частинки),  $S$  – загальна площа поверхні твердих частинок препарату,  $h_D$  – товщина дифузійного шару на поверхні частинок,  $C_s$  – загальна розчинність АФІ в рідинному середовищі,  $C$  – концентрація АФІ в розчині протягом часу  $t$ .

Швидкість розчинення пропорційна  $S$  і  $C_s$ , а  $C_s$  залежить від складу рідинного середовища, в тому числі і  $pH$ . Таким чином, розчинність і швидкість розчинення є не постійними величинами в окремих ділянках ШКТ. В той же час ЛЗ повинен мати достатню ліпофільність для переходу з рідинного середовища в ліпофільну частину слизової мембрани (в результаті чого досягається високий показник  $K$ ). Низькомолекулярні ЛЗ з малим радіусом молекули, проникають крізь слизову ефективніше, ніж високомолекулярні. Транспорт крізь слизову, ефект первинного проходження (метаболізм), а також крізьклітинний транспорт малих гідрофільних молекул роблять теоретичні міркування дещо умовними, але в загалі, представлені рівняння застосовуються для біофармацевтичної характеристики ЛЗ. Тому, вони забезпечують належну базу для різних розрахункових підходів, що використовуються для визначення біодоступності ЛЗ.

### 3. Фармакокінетичні дослідження на людях

Враховуючи той факт, що більшість ЛЗ відносяться до твердих оральних форм значна увага при їх впровадженні в медичну практику приділяється їх всмоктуванню в ШКТ. Основними чинниками, що впливають на процеси всмоктування ЛЗ в ШКТ є: 1) фізико-хімічні властивості АФІ (ліпофільність, розчинність, молекулярна маса, конформація,  $pKa$ , іонізація, хімічна та ензиматична стабільність); 2) фармацевтичні (кристалічна форма, солі, розмір частинок, допоміжні речовини, швидкість вивільнення з таблетки, швидкість розчинення, форма препарату); 3) фізіологічні (швидкість шлункової евакуації, транзит вздовж ШКТ, кишковий  $pH$ , жовчна та панкреатична секреція, протіноківий метаболізм, транспортні білки, дієта, вік, захворювання). В останній час значне місце в інтерпретації отриманих даних, що характеризують механізми всмоктування ЛЗ відводиться водостійному (нерухомому) епітеліальному шару (unstirred water layer) ШКТ, який поряд з іншими структурними елементами виконує бар'єрні функції, щодо поживних речовин та ЛЗ<sup>8</sup>.

При використанні даних БД у біофармацевтичних дослідженнях необхідно мати кількісну величину цього показника. Вона може мати

---

<sup>8</sup> J. H. Kou, D. Fleisher, and G. L. Amidon, Calculation of the aqueous diffusion layer resistance for absorption in a tube: application to intestinal membrane permeability determination. Pharm. Res., 1991. 8, P. 298–305.

розмір 0–100%, а в деяких випадках її розраховують від 0 до 1. Для отримання та оцінки зазначених показників необхідно виконати відповідні дослідження. Найбільш інформативними та придатними є дослідження *in vivo* на людях, де у доступних для аналізу біологічних середовищах (плазма, кров, сироватка, сеча) визначається зміст АФІ або одного, або більше його метаболітів.

Якщо достовірно визначити профіль «концентрація – час» в плазмі вихідної сполуки або/та її метаболітів неможливо, то для визначення величини експозиції в якості заміни концентрації в плазмі допустимо використання даних про екскрецію з сечею (дослідження масобалансу, з використанням немічених, стабільних ізотопів або мічених радіоактивними ізотопами). Однак необхідно чітко обґрунтувати використання даних сечі при визначенні максимальної експозиції. При цьому, заявник зобов'язаний подати всі наявні відомості, які підтверджують, що екскреція АФІ з сечею відображає його експозицію в плазмі.

Коли дослідження масобалансу використовуються для підтвердження високої проникності, необхідні додаткові дані, які засвідчують стабільність ЛЗ в ШКТ, окрім випадку, коли  $\geq 85\%$  прийнятої дози ЛЗ виводиться незміненою формою (див. розділ 4).

У деяких випадках, для визначення оральної БД у людини, необхідно використовувати аналогічні показники, отримані при внутрішньовенній уведеній дозі. В залежності від варіабельності досліджень необхідно включити достатню кількість суб'єктів для забезпечення достовірної оцінки абсорбції.

#### 4. Методи *in vitro* та *in silico*

Вивчення біодоступності ЛЗ до цього часу залишається найбільш складним і дорогим тестом. У кожному конкретному випадку це унікальний метод, який повинен забезпечити виборче, точне і відтворне стеження за концентрацією препарату в певному біологічному матеріалі при вибраних умовах фармакокінетичного дослідження, зокрема, його тривалості. У разі оцінки БЕ кінетичні дослідження проводяться в незалежних від фірм виробників сертифікованих біоаналітичних лабораторіях. Якщо врахувати той факт, що в більшості випадків при оцінюванні БД в експерименті на тваринах використовують АФІ мічені радіоактивними ізотопами, а при визначенні біоеквівалентності в клініці – добровольці і метод ВЕРХ-МС, то стають очевидними ті труднощі, з якими зустрічаються дослідники.

Отже, спрощення відмічених процедур може бути досягнуте за наявності надійного нескладного методу та моделі, що дають можливість визначити відповідні показники БД АФІ. Виходячи з того, що БД охоплює такі процеси як проникність біологічних мембран ентероцитів на шляху від порожнини кишечника до системного

кровообігу та елімінацію засобу з крові існує низка методів, що забезпечують їх вивчення.

Початкові знання про проникність біологічних мембран стали можливими завдяки наявності штучних моделей<sup>9</sup>: у системі октанол/вода ( $\log P_{o/w}$ ), на фосфоліпідних везикулах і бішарових ліпідних мембранах (ліпосомах), на штучних мембранах (IAM), за допомогою хроматографії на ліпосомах (ILC), насичених (просочених) мембранах, а також паралельних штучних мембранах (PAMPA) і спеціальних фільтрах (IAM), за допомогою електрокінетичної хроматографії (МЕКС), біосенсорів SPR, фільтрів з гексадекан-полікарбонатним покриттям, біорозподільній хроматографії (BMC). Ці дослідження послужили основою розробки так званих високопродуктивних скринінгових технологій. Відомості, отримані в дослідженнях на штучних мембранах відображають специфіку трансмембранного переносу речовин, що володіють різною швидкістю проникнення. Також слід відзначити, що ці моделі особливо ефективні в поєднанні декількох методів.

Щодо моделей залежності «структура-біодоступність» то чисельні розробки мають незначну прогнозуєчу можливість. Найбільш вдалим є підхід, який полягає в тому, що завдання QSPR вирішуються послідовно через вдосконалення моделей, які описують молекулярну структуру. При цьому, на кожному наступному ступеню ієрархічної системи задача QSAR вирішується не «з нуля», а використовується інформація, яка була отримана на попередньому етапі. Фактично, мова ідеться про систему уточнюючих рішень<sup>10</sup>.

Усі зазначені моделі є важливими для інтерпретації механізмів проникності сполук крізь біомембрани, але вони не придатні у біофармацевтичних дослідженнях, задля БСК.

Для дослідження механізмів всмоктування у тварин використовують відповідні органотипові методи *in vitro*, *in situ* і *in vivo*. Всі вони мають певні переваги і обмеження, тому вибір моделі визначається в

---

<sup>9</sup> Ho N.F., Higuchi W.I., Turi J. Theoretical model studies of drug absorption and transport in the gastrointestinal tract. J. Pharm. Sci. 1972. 61. P. 192–197.

<sup>10</sup> Golovenko N. Ya, Borisyuk I. Yu., Kulinskiy M. A., Polishchuk P. G., Muratov E. N., Kuzmin V. E. Quantitative structure-property relationship analysis of drugs' pharmacokinetics within the framework of biopharmaceutics classification system using simplex representation of molecular structure. In: Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine. 2014. Series: Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics. Springer Netherlands. P. 461–499.

залежності від питання, на яке треба відповісти щодо тієї чи іншої сполуки<sup>11 12 13</sup>.

В експериментах *in vitro* використовуються системи з жорстко детермінованими характеристиками. До таких органотипових моделей належать: гомогенізована маса слизової тонкої кишки, ізольовані мембрани щіткової облямівки і ізольовані клітини, розпластані відрізки кишки, акумулюючий препарат слизової та канюльований вивернутий мішок тонкої кишки.

Особливо розвитку у біофармацевтичній галузі досягли роботи по створенні та використанні культури моношарів епіткліальних клітин. В якості моделі найбільш часто використовується культура клітин колоноректальної аденокарциноми людини Caco-2, яка з хорошою відтворюваністю проявляє багато властивостей і характеристики диференційованих епітеліальних клітин кишечника<sup>14</sup> і є золотим стандартом вивчення БЕ *in vitro*. Моделі клітинної культури для абсорбції ЛЗ засновані на припущенні, що проходження препарату через кишковий епітелій (моношар клітин) є головним бар'єром для ЛЗ на його шляху проникнення в систему кровообігу. Достовірність *in vitro* моделі залежить від ступеня відтворення ситуації, що має місце *in vivo*.

Стандартно клітини Caco-2 культивують на напівпроникному пористому фільтрі протягом 21 доби. Для виміру проникності, АФІ вводяться на апікальну поверхню моношару, і після фіксованого періоду часу концентрація тестованої речовини вимірюється у базолатеральній частині за допомогою методу ВЕРХ-МС. Оцінку цілісності епітеліального моношару здійснюють шляхом виміру трансепітеліального електричного опору (TEER) Кінцеві значення TEER, надають у вигляді питомого опору ( $\Omega \times \text{cm}^2$ ), які повинні бути вищими ніж  $150 \Omega \times \text{cm}^2$ . Для рутинного контролю цілісності клітинного моношару перед тестуванням досить одноразового виміру TEER на 20–21й день після початку культивування клітин.

Валідацію методу проникнення ЛЗ крізь клітини Caco-2 здійснюють шляхом виміру концентрації стандартних зразків у вибраному часовому інтервалі з наступним визначенням коефіцієнту проникності (Papp). Отримані величини порівнюють з літературними даними, на підставі чого робиться висновок про придатність тест-системи для дослідження проникності АФІ. Літературні дані проникності різних речовин в системі

---

<sup>11</sup> L Barthe, J Woodley, G Houin. Gastrointestinal absorption of drugs: methods and studies. Fundam. Clin. Pharmacol., 13: 154–168, 1999.

<sup>12</sup> Versantvoort C.H.M., Rompelberg C.J.M., Sips A.J.A.M. Methodologies to Study Human Intestinal Absorption. A Review RIVM report 630030 001,2000. P. 1–55.

<sup>13</sup> GA Kimmich. Preparation and characterization of isolated intestinal epithelial cells and their use in studying intestinal transport. Methods in Membrane Biology/Transport, 1975. 5: P. 51–115.

<sup>14</sup> Sambay Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco-2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture related factors on Caco-2 cell functional characteristics. Cell Biol Toxicol 2005; 21. P. 1–26.



клітин Caco-2 відрізняються великою варіабельною<sup>15</sup>, що обумовлено, передусім, відмінностями в експериментальних умовах виміру проникності. Оскільки такий моношар клітин є біологічною системою, така варіабельність є допустимою, а віднесення проникності до низької або високої носить відносний характер. Нормативні документи, присвячені процедурі біолейвер у фармацевтичній індустрії<sup>16 17 18 19 20</sup>, не регламентують деталей проведення аналізу в тест-системі Caco-2. Найбільш деталізовано інформацію у відповідному керівництві FDA<sup>21</sup> Для більшості речовин з високою проникністю в системі клітин Caco-2 спостерігається задовільна кореляція з високою мірою абсорбції цих речовин, що робить цей метод оцінки проникності в межах показників високі/низькі задовільними для дослідження БЕ ЛЗ за процедурою біолейвер.

Правила валідації аналітичних методів в загальному вигляді викладено в керівництві<sup>22</sup>, що визначає процедуру як обов'язкову частину досьє на фармацевтичний препарат, та подається для реєстрації в різних країнах. Список параметрів валідації для конкретного аналітичного методу визначається в індивідуальному порядку, виходячи із специфіки методу і поставлених завдань. Валідація ВЕРХ-МС методів, за допомогою яких визначаються концентрації стандартних зразків і аналітів проводиться за наступними параметрами: 1) нижня межа кількісного визначення (LLOQ); 2) калібрувальна крива (Calibration curve); 3) правильність (Accuracy); 4) прецизійність (Precision);

---

<sup>15</sup> O'Hagan S, Kell DB. The apparent permeabilities of Caco-2 cells to marketed drugs: magnitude, and independence from both biophysical properties and endogenite similarities. 2015. Peer J 3:e1405.

<sup>16</sup> BIO's editors' and reporters' guide to biotechnology – a new link to hope /LM Baron & A Massey, Eds/ 2004. – Washington, DC, Biotechnology Industry Organization. – 138 p. A. 1. (May 1976).

<sup>17</sup> Council Directive 75/318/EEC of 20 May on the approximation of the laws of Member States relating to analytical, pharmacotoxicological and clinical standards and protocols in respect of the testing of medicinal products part 3, section II.

<sup>18</sup> Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.2:2018 «Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності», наказ МОЗ України від 02 листопада 2018 року № 2014.

<sup>19</sup> Наказ Міністерства охорони здоров'я України (із змінами) від 23.07.05 № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення».

<sup>20</sup> Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry. FDA, 2017.

<sup>21</sup> Там само.

<sup>22</sup> Fujikawa M, Ano R, Nakao K, Shimizu R, Akamatsu M. Relationships between structure and high-throughput screening permeability of diverse drugs with artificial membranes: application to prediction of Caco-2 cell permeability. Bioorg Med Chem. 2005 Aug 1;13(15):4721-32.

5) стабільність зразка в автосамплері (autosampler stability of the processed sample).

Недоліком цих моделей є те, що культура клітин Caco-2 формується як мінімум 20 діб на пористій підложці, протягом яких утворюється диференційований моношар. Термін у 20 діб культивування необхідний для формування щільних контактів, поляризації клітин та високої експресії транспортних систем (Р-глікопротеїнів). Тим не менш, перевагою моделей клітинних культур є те, що за їх допомогою стає можливим оцінити транспорт ЛЗ крізь клітинну мембрану, замість взаємодії з подвійним шаром ліпиду. Більш того, вони дають змогу вивчити паралельні транспортні маршрути (пасивний, та активний). Проте, кількісні результати отримані в експериментах на клітинних культурах все ще не дають належної кореляції з рівнями активного транспорту ліків *in vivo*<sup>23 24</sup>.

### 5. Моделі *in situ*

Ця група моделей припускає використання фрагмента кишечника, в який вводиться розчин ЛЗ<sup>25</sup>. При цьому в гострому досліді анестезовану тварину піддають лапаротомії, виділяючи сегмент кишки (закриту або відкриту петлю).

У першому випадку в сегмент кишечника вводиться досліджувана речовина і експонується в ньому відповідний час, при цьому кінці сегменту пережимаються або лігуються для уникнення втрати досліджуваного розчину. Потім після закінчення часу експозиції розчин речовини відкачується з порожнини для аналізу.

У другому випадку сегмент кишечника ізольовується, залишаючись пов'язаним з твариною брижею, кровоносними судинами і нервами. Ізольований сегмент кишки перфузують розчином досліджуваної речовини, аналізуючи перфузат, що відтікає, і по спаду речовини в нім в порівнянні з його концентрацією на вході оцінюють швидкість його всмоктування в одиницю часу. Другий варіант є більш адекватним природним умовам, особливо якщо використовується фізіологічна швидкість перфузії (0,5–0,6 мл/хв). До переваги методу належать також збережений кровотік і іннервація сегменту. Крім того, ізоляція сегменту від травного каналу виключає попадання в нього кислого вмісту шлунку і, отже, не вплине на концентрацію ліків в сегменті і його концентрацію в плазмі.

Моделі *in situ* також мають ряд обмежень: 1. Вплив анестезії на показники функціональної активності кишки, які пов'язані з пониженням температури тіла та зміна ферментних і транспортних функцій кишки. 2. Вплив операційної травми (стрес, втрата крові тощо).

---

<sup>23</sup> van de Waterbeemd H. Drug bioavailability: estimation of solubility, permeability, absorption and bioavailability. Weinheim. – Wiley-VCH. – 2003. – 579 p.

<sup>24</sup> Versantvoort C.H.M., Rempelberg C.J.M., Sips A.J.A.M. Methodologies to Study Human Intestinal Absorption. A Review RIVM report 630030 001,2000. P. 1-55.

<sup>25</sup> Drug Absorption Studies. In Situ, In Vitro and In Silico Models. : Eds. Ehrhardt Carsten, Kim Kwang-Jin. 2008,710p.

3. Гострі досліди *in situ* дозволяють досліджувати характеристики транспорту тільки впродовж часу дії наркозу і не дають можливість вивчати відносно повільні процеси, у тому числі циркадні ритми. 4. У зазначених дослідах слід контролювати об'єм АФІ, що вводиться в кишку, з урахуванням абсорбції води з розчину або його розбавлення в результаті виділення води в порожнину кишки. Для цього необхідно використовувати відповідні сполуки-мітки, що слабо або зовсім не всмоктуються *in situ* (ПЭГ-4000, інулін, маніт) або маркери флуоресценції.

## 6. Моделі *in vivo* в експериментах на тваринах

Головною перевагою моделей *in vivo* є інтеграція крово- і лімфопостачання, іннервація кишки та гуморальна регуляція її функцій<sup>26 27 28</sup>. Найчастіше серед лабораторних тварин в моделях *in vivo* використовують щури, які разом з людиною і свинею відносяться до всеїдних організмів і мають однаковий спектр травних ферментів. Крім того, використання щурів як об'єкту дослідження в умовах *in vivo* дозволяє забезпечити генетичну однорідність матеріалу, відсутність видових відмінностей при зіставленні результатів з даними досліджень *in vitro*, що також часто проводяться на щурах. Проте існують дані про те, що оральні дослідження на щурах також мають обмеження так як часом приводять до хибнопозитивних результатів<sup>29</sup>. Такі методики, як «касетне дозування», можуть давати глобальну інформацію БД ліків при їх проходженні через кишковий бар'єр і вони є корисними при аналізі препаратів з високою БД і тоді, коли органотипічні моделі *in vitro* неприйнятні.

Серед моделей *in vivo* найбільш часто використовуються наступні методи: ізольована перфузована ділянка тонкої кишки щурів та функціонуюча перфузована ділянка тонкої кишки щурів<sup>30 31</sup>.

Як випливає з викладеного, фізіологічних моделей є достатня кількість, але тільки дослідження на людях дають підставу робити висновок про дійсну БД препаратів тобто єдиною реальною моделлю для людини є тільки людина<sup>32</sup>.

---

<sup>26</sup> L Barthe, J Woodley, G Houin. Gastrointestinal absorption of drugs: methods and studies. Fundam. Clin. Pharmacol., 13: 154-168, 1999

<sup>27</sup> van de Waterbeemd H. Drug bioavailability: estimation of solubility, permeability, absorption and bioavailability. Weinheim. - Wiley-VCH. – 2003. – 579 p.

<sup>28</sup> Drug Absorption Studies. In Situ, In Vitro and In Silico Models. : Eds. Ehrhardt Carsten, Kim Kwang-Jin. 2008,710p.

<sup>29</sup> Там само

<sup>30</sup> Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry. FDA, 2017.

<sup>31</sup> Drug Absorption Studies. In Situ, In Vitro and In Silico Models. : Eds. Ehrhardt Carsten, Kim Kwang-Jin. 2008,710 p.

<sup>32</sup> Sambay Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco-2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture related factors on Caco-2 cell functional characteristics. Cell Biol Toxicol 2005; 21. P. 1–26.

## 7. Наукові положення, на яких базується БСК

На протязі довгого часу дослідники вдавалися до спроби створити фізіологічні моделі, що описують процес всмоктування ЛЗ та використати їх у біофармацевтичних дослідженнях. Найбільш вдалою виявилась та, у якій було використано тільки основні показники (розчинність ЛЗ, їх розчинення та транзит уздовж ШКТ). В зв'язку з цим введено<sup>33</sup> поняття максимальної абсорбційної дози (MAD), що об'єднує процеси всмоктування і розчинення ЛС.

$$MAD = S \cdot k_a \cdot SIWV \cdot SITT$$

де  $S$  – розчинність при  $pH$  6,5 (мг/мл);  $k_a$  – константа швидкості транспорту ЛЗ крізь кишечник ( $хв^{-1}$ );  $SIWV$  – об'єм кишечника (250 мл);  $SITT$  – час проходження ЛЗ по кишечнику (270 хв).

Лобенберг і Амідон<sup>34</sup> підсумовували взаємозв'язок між дозою, характеристиками розчинності, утворення розчину ЛЗ і властивостями їх всмоктування. Ці стосунки описані таким чином:

1. Число всмоктування ( $A_n$ ) – відношення швидкості всмоктування до швидкості транзиту ЛЗ в ШКТ:

$$A_n = \frac{P_{eff} \cdot \pi \cdot R \cdot L}{Q}$$

де  $P_{eff}$  – ефективний коефіцієнт проникності (см/хв),  $R$ ,  $L$  – радіус і довжина кишечника (см),  $Q$  – швидкість пересування уздовж ШКТ ( $см^3/хв$ ).

У тому випадку, коли швидкість всмоктування повільніша, ніж транзит ( $A_n < 1$ ), ЛЗ пересуватиметься уздовж ШКТ, поки повністю не абсорбується. Константа швидкості всмоктування  $k$  ( $хв^{-1}$ ) співвідноситься до  $P_{eff}$ , як геометрична поверхня до об'єму кишечника:

$$P_{eff} = k \cdot SA / vol = k \cdot 2 / R$$

2. Число розчинності ( $D_n$ ) – відношення тривалості часу перебування (утримання) ЛЗ у ШКТ до часу його повного розчинення:

$$D_n = \frac{D \cdot C_s}{r_0} \cdot \frac{4\pi \cdot r^2}{3/4\pi \cdot r_0^3 \cdot \rho} \cdot t_{res} = t_{res} \cdot 3D \cdot C_s / \rho \cdot r_0^2 = t_{res} / t_{diss}$$

де  $t_{res} = \pi \cdot R^2 \cdot L / Q$  – середній час утримання,  $t_{diss} = \frac{r_0^2 \cdot \rho}{3D \cdot C_s}$  – час,

необхідний для повного розчинення часток ЛЗ.

<sup>33</sup> Johnson, K., Swindell, A. Guidance in the setting of drug particle size. Pharm. Res. 1996, 13, 1795–1798.

<sup>34</sup> Lobenberg R., Amidon G.L., Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Eur. J. Pharm. Biopharm., 2000, 50, 3–12.

Звідси:

$$t_{abs}^{-1} = k_{abs} = (S/V) \cdot P_{eff} = 2 \frac{P_{eff}}{R}$$
 – константа ефективної проникності,

де  $S$  – поверхня (площа) ЛЗ,  $V$  – об'єм,  $R$  – радіус кишечника,  $r_0$  – початковий радіус часток ЛЗ.

3. Дозове число ( $D_0$ ) – фракція дози, яка може знаходитись в середовищі для розчинення:

$$D_0 = \frac{M_0/V_0}{C_s}$$

де  $M_0$  – доза (мг),  $V_0$  – об'єм (мл),  $C_s$  – ступінь насичуваності при розчиненні (мг/мл).

Показники  $V_0$  і  $C_s$  можуть відрізнятися в експериментах, оскільки їх значення залежать від складу середовища і виду тварин. Якщо  $D_0$  збільшується від 0 до 1 «розчинувальне середовище» поступово насичується, а більше 1 – середовище насичується ЛЗ, що знаходиться на поверхні.

Всмоктувана частина ЛЗ тісно пов'язано з ефективною проникністю клітин слизової оболонки<sup>35</sup>. Якщо проникність біомембран для ЛЗ менш ніж  $2 \cdot 10^{-4}$  см/с, то всмоктування буде неповним. Для слабо розчинних препаратів критичними змінними є: об'єм рідин в кишечнику,  $pH$  у ШКТ та час транзиту через нього.

Виходячи з характеристик  $A_n$ ,  $D_n$  і  $D_0$  запропоновано розділити ЛЗ на 4 класи:

Клас 1 – висока розчинність	високий ступінь проникнення
Клас 2 – низька розчинність	високий ступінь проникнення
Клас 3 – висока розчинність	низький ступінь проникнення
Клас 4 – низька розчинність	низький ступінь проникнення

Таким чином, при комбінуванні розчинення ЛЗ (у лікарській формі з негайним вивільненням) з цими двома властивостями охоплено три головні чинники, які керують швидкістю і ступенем абсорбції АФІ. У відповідності до властивостей розчинення їх можна розділити на такі, які розчиняються «дуже швидко», «швидко» або «повільно».

В цілому лікарська форма формується з метою забезпечення і контролю необхідного вивільнення і розчинення діючої речовини. Абсорбції піддається розчинена речовина, в зв'язку з цим процес розчинення (кількість і швидкість переходу ЛЗ в розчин), є одним з найбільш значущих чинників у забезпеченні необхідної БД АФІ з готової лікарської форми<sup>36</sup>.

На основі розчинності і проникності АФІ, а також характеристик розчинення лікарської форми підхід БКС дає можливість відмовитись

---

<sup>35</sup> Lobenberg R., Amidon G.L., Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Eur. J. Pharm. Biopharm., 2000, 50, 3-12.

<sup>36</sup> Modern Pharmaceutics / ed. Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes. New York : Marcel Dekker, 2002. 825 p.

від тестування фармакокінетики біоеквівалентності *in vivo* для деяких категорій ЛЗ з негайним вивільненням

ЛЗ класу I (парацетамол, пироксикам, пропранолол, теофілін) є високопроникним сполуками і мають значення  $D_n > 1$ . Для цих агентів зростання  $A_n$  призводить до збільшення абсорбованої частини ЛЗ, і при 90% всмоктування (високопроникні речовини)  $A_n = 1,15$ .

Для ЛЗ класу II (карбамазепін, цинаризин, глібенкламід) із  $D_n > 1$ , залежність між  $D_0$  і  $D_n$  є критичним параметром для визначення всмоктуваної частини ЛЗ, а розчинність може стати етапом, що обмежує швидкість всмоктування. Етапом, що обмежує швидкість всмоктування ЛЗ, які демонструють високу розчинність і низьку БД, являється їх кишкова проникність. У БСК вони віднесені до III класу речовин (ацикловір, атенолол, ранітидин). При всмоктуванні, обмеженої процесом проникнення, швидкість розчинення звичай менш важлива, чим швидкість транзиту уздовж ШКТ. Тому лікарські форми речовин цього класу можуть демонструвати високі швидкості розчинення і вони є дуже чутливими до дій допоміжних речовин, що впливають на транзит через ШКТ, а звідси, і на проникність.

Клас IV – нерозчинні у воді ЛС (циклоспорин А, фуросемід), слабо проникаючі крізь біомембрани тому вони мають цілий ряд обмежень для перорального застосування.

Отже, аналізуючи взаємозв'язок між  $D_n$ ,  $D_0$  і  $A_n$  можна прогнозувати, чи буде біодоступність ЛЗ обмежена розчинністю, проникністю або швидкістю розчиноутворення.

## **8. Придатність методів, що відтворюють процеси абсорбції ЛЗ щодо процедури біоетвер**

Демонстрація придатності методів *in vivo*, *in situ*, *in vitro* або перфузії є одним із важливих кроків для визначення ступеня проникності ЛЗ, а звідси віднесення до відповідного класу БСК. Для демонстрації придатності методу проникності призначеного для визначення проникнення ЛЗ за БСК повинно бути встановлено належне співвідношення між експериментальними значеннями проникності за допомогою достатньої кількості модельних препаратів. Для дослідження кишкової перфузії *in vivo* на людях, рекомендується використовувати шість модельних препаратів. Для *in vivo* чи *in situ* кишкової перфузії на тваринах, чи *in vitro* на тканині чи моношарі клітин рекомендується використовувати наступні модельні сполуки:

Висока проникність ( $f_a \geq 85\%$ ): Антипірін, Кофеїн, Кетопрофен, Напроксен, Теофілін, Метопролол, Пропранолол, Карбамазепін, Фенітоїн, Дизопірамід, Міноксиділ.

Середня проникність ( $f_a = 50\text{--}84\%$ ): Хлорфенірамін, Креатинін, Тербуталін, Гідрохлортіазид, Еналаприл, Фуросемід, Метформін, Амліорид, Атенолол, Ранітидин.

Непроникні: ФІТЦ-Декстран ( $MM \geq 3000$ ), Поілетиленгліколь 4000, Інулін, Лактулоза.

Ефлюксні субстрати: Дигоксин, Паклітаксел, Квінідин, Вінбластин.

Представлені модельні речовини мають увесь діапазон абсорбції, тобто нульова, низька (< 50%), середня (50–84%) і висока (> 85). У літературі наведено наступні параметри для оцінки проникності в тест-системі Caco-2:  $P_{app} < 1 \times 10^{-6}$  см/сек вважається низькою проникністю,  $P_{app} > (10-20) \times 10^{-6}$  см/сек – високою, а проникність речовин, що потрапляють в діапазон між вказаними значеннями, оцінюється як середня. На практиці, розрахункові значення  $P_{app} < (1-2) \times 10^{-6}$  см/сек мають місце у випадках, коли вимірювані в акцепторній камері концентрації речовин знаходяться на межі чутливості ВЕРХ-МС методів. Варіабельність експериментальних даних є також важливим фактором, що впливає на вибір модельних речовин. На практиці, лабораторні допустимі межі (acceptance limits) для однієї модельної речовини можуть бути досить широкими навіть у контрактних комерційних лабораторій. Так, для Curotex's Caco-2 Permeability, допустимі межі  $P_{app}$  для атенололу – від 0,1 до  $3,0 \times 10^{-6}$  см/сек, а для пропранололу – від 17 до  $75 \times 10^{-6}$  см/сек<sup>3714</sup>.

Вибір внутрішніх стандартів має бути заснований на сумісності з випробувальною діючою речовиною (тобто вони не повинні проявляти ніякої значної фізичної, хімічної взаємодії та взаємодії, що впливає на проникнення). Коли неможливо слідувати цьому протоколу, проникність внутрішніх стандартів потрібно визначити на тих же суб'єктах, тваринах, тканинах, або моношарах, з наступною (або, якщо прийнятно, паралельною) оцінкою випробувальної діючої речовини. Значення проникності двох стандартів не повинні значно відрізнятись між дослідженнями, проведеними для демонстрації придатності методу випробування. Біоаналітична лабораторія може також встановити критерії прийнятності для значень проникності для їх високо, низько проникних та непроникних стандартних компонентів.

В залежності від варіабельності дослідження, необхідно використовувати достатню кількість суб'єктів, тварин, зразків вилучених тканин чи клітин моношару в дослідженні для забезпечення достовірної оцінки проникності препарату (наприклад, мінімум три на групу).

Наприкінці дослідження *in vitro*, повинна бути визначена кількість лікарського засобу в тканинах чи моношарі культури клітин, апікальних чи базолатеральних камерах, щоб допомогти в обчисленні масобалансу. Якщо відновлення з апікальної чи базолатеральної камер складає > 80%, немає необхідності вимірювати лікарський засіб в тканинах чи моношарі культури клітин.

Коли для демонстрації високого ступеня абсорбції застосовуються методи кишкової проникності, необхідні додаткові дані щодо стабільності ЛЗ у ШКТ так як деяким із них властива хімічна нестабільність, обумовлена кислотним або ферментним гідролізом, що

---

<sup>37</sup> Sambay Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco-2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture related factors on Caco-2 cell functional characteristics. Cell Biol Toxicol 2005; 21. P. 1–26.

сприяє їх перехід в розчинений стан в шлунку та приводить до зниження вмісту АФІ і зниження БД аж до втрати ефективності.

Визначення ступеня абсорбції у людини базується на дослідженнях масобалансу, використовуючи загальний радіоактивний матеріал у сечі, у якому не враховано кількісне співвідношення між вихідною молекулою та її метаболітами, що утворилися у ШКТ, тобто до проникнення крізь кишкову мембрану. Отже, у всіх експериментальних моделях необхідно підтвердження того факту, що зменшення концентрації лікарського засобу в ШКТ зумовлено проникненням АФІ через шлункову мембрану, а не є процесом розпаду. Стабільність сполуки у ШКТ може бути підтверджена методами з використанням штучних шлункових та кишкових рідин або інші придатні біологічні рідини, з відповідним обґрунтуванням їх придатності. Розчини ЛЗ в цих рідинах повинні бути інкубовані при 37°C впродовж часу, що буде відтворювати їх контакт з цими рідинами *in vivo*, наприклад, одну годину в шлунковій рідині та три години в кишковій. Тоді концентрація АФІ повинна бути визначена відповідним валідованим методом дослідження стабільності. Розпад ЛЗ у межах більше ніж 5% може свідчити про його потенційну нестабільність.

Дані біодоступності того чи іншого ЛЗ, які отримано в досліді *in vivo* на добровольцях та опубліковано в науковій літературі можуть бути аргументом на користь їх використання в умовах процедури біоєвейвер. При цьому такий матеріал повинен містити необхідних деталі тестування для прийняття рішення про якість результатів. Проникність може бути також оцінена валідованими та стандартизованими методами *in vitro* за допомогою клітин Сасо-2. Результати аналізів на проникність Сасо-2 повинні бути обговорені в контексті наявних даних про фармакокінетику ЛЗ у людини.

У випадку використанні дещо іншого набору допоміжних речовин ніж у референтному препараті слід оцінити можливість такої зміни у лікарській формі впливати на ступінь абсорбції *in vivo*. Для того, щоб мати право використання процедури біоєвейвер, заявник повинен обґрунтувати, чому запропоновані допоміжні речовини не вплинуть на профіль всмоктування ЛЗ, тобто на швидкість і ступінь абсорбції. Необхідно враховувати можливий вплив допоміжних речовин на такі аспекти всмоктування *in vivo*, як розчинність, шлунково-кишковий рухливість, час транзиту та кишкова проникність, включаючи механізми транспортування. В цілому, кількість допоміжних речовин, які можуть впливати на абсорбцію в тестовій та еталонній рецептурах, слід враховувати під час розробки продукту, таким чином, щоб зміни допоміжних речовин були зведені до мінімуму.

Критичні аспекти біофармацевтичних властивостей лікарських речовин, що вимагають в ряді випадків реалізації специфічних технологічних підходів з урахуванням біофармацевтичних факторів, відображені в БСК. Цілком очевидно, що найбільш складною для фармацевтичної і технологічної розробки представляється речовини другого і четвертого класу даної класифікації.



Особливу увагу необхідно звернути на дизайн дослідження, який, перш за все, необхідно скласти таким чином, щоб фармакокінетичні параметри ЛЗ не залежали від впливу інших факторів. У рідкісних випадках, коли недостатня чутливість аналітичного методу перешкоджає точному визначенню концентрації в біологічній рідині після прийому одноразової дози, а рівноважна концентрація досить висока для отримання точних значень, в якості альтернативи дослідженню з прийомом одноразової дози допустимо проведення дослідження з багаторазовим прийомом лікарського препарату. Однак, беручи до уваги, що дослідження з багаторазовим прийомом є менш чутливим для визначення  $C_{max}$ , їх проведення можливе лише в тому випадку, якщо заявник зможе однозначно довести, що чутливість аналітичного методу не може бути поліпшена і що після прийому одноразової дози ЛЗ точно виміряти концентрацію вихідної сполуки неможливо.

## ВИСНОВКИ

ВООЗ представила список<sup>38</sup> з більш ніж 200 ЛЗ, де вони розподілені у відповідні класи: 1 клас – 43%, 2 клас – 16%, 3 клас – 33% і 4 клас – 9%. Отже, близько 75% АФІ (класи 1 і 3), списку демонструють високу розчинність і є потенційними біоєвейверами. Якщо є необхідність уведення препарату до такого реєстру, що дає право заявити генерик біоєвейвером, необхідно провести відповідні дослідження по виявленні кореляційних залежностей між показниками розчинності *in vitro* і параметрами фармакокінетики ( $C_{max}$ , AUC, MRT) *in vivo*. Вивченню кореляційних співвідношень *in vitro*–*in vivo* присвячено досить велику кількість публікацій і нами вони представлені у оглядовій статті<sup>39</sup>. Зазначимо тільки, що у концепції, представленій спільно FDA і ЕМЕА наголошено наступне: «IVIVC – прогностична модель, що описує взаємозв'язок між ступенем вивільнення (розчинення) з лікарської форми певної дози субстанції *in vitro* і концентрації її в плазмі крові *in vivo*». В цьому випадку термінологія має на увазі більш складне взаємовідношення показників *in vitro* і *in vivo*, ніж у традиційних кореляційних залежностях.

## АНОТАЦІЯ

За останні роки у біофармацевтичних дослідженнях накопичено значну кількість нових знань, які сьогодні успішно застосовуються у різних напрямках фармацевтичної науки і практики. Знання приналежності АФІ до того або іншого класу БСК робить цю класифікацію важливим інструментом в процедурі обґрунтування

---

<sup>38</sup> (Сайт компанії Evotech) In Vitro Permeability & Drug Transporter Services Caco-2 Permeability Assay [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.cyprotech.com/admepk/in-vitro-permeability/caco-2-permeability>. -23.04.2024.

<sup>39</sup> Головенко М.Я., Борисюк І.Ю. Біофармацевтична класифікаційна система: критерії обґрунтування та принципи організації дослідження біоєвейверу // Клінічна фармація. – 2008.– т. 12, № 1.– С. 4-10.

складу, дизайну і технології лікарської форми з бажаними біофармацевтичними характеристиками. Отже, визначення біодоступності (БД) та оцінка біоеквівалентності (БЕ) препарату є важливими елементами при його розробці та державній реєстрації та є «фільтром», що перешкоджає надходженню в медичну практику неякісних ліків.

При вивченні БД найбільш важливими є наступні фармакокінетичні параметри: максимум (пік) концентрації препарату в крові ( $C_{max}$ ); час досягнення максимальної концентрації ( $T_{max}$ ); площа під кривою залежності концентрації ЛЗ в крові від часу (AUC). Враховуючи той факт, що більшість ЛЗ відносяться до твердих оральних форм значна увага при їх впровадженні в медичну практику приділяється їх всмоктуванню в ШКТ. При використанні даних БД у біофармацевтичних дослідженнях необхідно мати кількісну величину цього показника. Вона може мати розмір 0–100%, а в деяких випадках її розраховують від 0 до 1. Для дослідження механізмів всмоктування у тварин використовують відповідні органотипові методи *in vitro*, *in situ* і *in vivo*. Демонстрація придатності методів *in vivo*, *in situ*, *in vitro* або перфузії є одним із важливих кроків для визначення ступеня проникності ЛЗ, а звідси віднесення до відповідного класу БСК.

ВООЗ представила список з більш ніж 200 ЛЗ, де вони розподілені у відповідні класи: 1 клас – 43%, 2 клас – 16%, 3 клас – 33% і 4 клас – 9%. Якщо є необхідність уведення препарату до такого реєстру, що дає право заявити генерик біолейвером, необхідно провести відповідні дослідження по виявленні кореляційних залежностей між показниками розчинності *in vitro* і параметрами фармакокінетики ( $C_{max}$ , AUC, MRT) *in vivo*.

### Література

1. Amidon G.L., Lennernäs H., Shah V.P., Crison J.R.: A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm Res.* 1995. 12, P. 413.
2. BIO's editors' and reporters' guide to biotechnology – a new link to hope /LM Baron & A Massey, Eds/ 2004. – Washington, DC, Biotechnology Industry Organization. – 138 p. A.1. (May 1976).
3. Council Directive 75/318/EEC of 20 May on the approximation of the laws of Member States relating to analytical, pharmacotoxicological and clinical standarts and protocols in respect of the testing of medicinal products-part 3, section II.
4. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.2:2018 «Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності», наказ МОЗ України від 02 листопада 2018 року № 2014.
5. Наказ Міністерства охорони здоров'я України (із змінами) від 23.07.05 № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення». URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1069-05#Text>

6. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry. FDA, 2017.

7. J. H. Kou, D. Fleisher, and G. L. Amidon, Calculation of the aqueous diffusion layer resistance for absorption in a tube: application to intestinal membrane permeability determination. *Pharm. Res.*, 1991. 8, P. 298–305.

8. Ho N.F., Higuchi W.I., Turi J. Theoretical model studies of drug absorption and transport in the gastrointestinal tract. *J. Pharm. Sci.* 1972. 61. P. 192–197.

9. Golovenko N. Ya, Borisyuk I. Yu., Kulinskiy M. A., Polishchuk P. G., Muratov E. N., Kuzmin V. E. Quantitative structure-property relationship analysis of drugs' pharmacokinetics within the framework of biopharmaceutics classification system using simplex representation of molecular structure. In: *Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine*. 2014, Series: Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics. Springer Netherlands. P. 461–499.

10. L Barthe, J Woodley, G Houin. Gastrointestinal absorption of drugs: methods and studies. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 13: 154–168, 1999.

11. Versantvoort C.H.M., Rempelberg C.J.M., Sips A.J.A.M. Methodologies to Study Human Intestinal Absorption. A Review RIVM report 630030 001,2000. P. 1–55.

12. GA Kimmich. Preparation and characterization of isolated intestinal epithelial cells and their use in studying intestinal transport. *Methods in Membrane Biology/Transport*, 1975. 5: P. 51–115.

13. Sambay Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture related factors on Caco 2 cell functional characteristics. *Cell Biol Toxicol* 2005; 21. P. 1–26.

14. O'Hagan S, Kell DB. The apparent permeabilities of Caco-2 cells to marketed drugs: magnitude, and independence from both biophysical properties and endogenous similarities. 2015. *Peer J* 3:e1405.

15. Fujikawa M, Ano R, Nakao K, Shimizu R, Akamatsu M. Relationships between structure and high-throughput screening permeability of diverse drugs with artificial membranes: application to prediction of Caco-2 cell permeability. *Bioorg Med Chem.* 2005 Aug 1;13(15):4721-32.

16. van de Waterbeemd H. Drug bioavailability: estimation of solubility, permeability, absorption and bioavailability. Weinheim. – Wiley-VCH. – 2003. – 579 p.

17. Drug Absorption Studies. In Situ, In Vitro and In Silico Models. : Eds. Ehrhardt Carsten, Kim Kwang-Jin. 2008, 710 p.

18. Sambay Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture related factors on Caco2 cell functional characteristics. *Cell Biol Toxicol* 2005; 21. P. 1–26.

19. Johnson, K., Swindell, A. Guidance in the setting of drug particle size. *Pharm. Res.* 1996, 13, 1795–1798.

20. Lobenberg R., Amidon G.L., Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, 50, 3–12.

21. Modern Pharmaceutics / ed. Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes. New York : Marcel Dekker, 2002. 825 p.

22. (Сайт компанії Evotech) In Vitro Permeability & Drug Transporter Services Caco-2 Permeability Assay. URL: <http://www.cyprotex.com/admepk/in-vitro-permeability/caco-2-permeability>.

**Information about the authors:**

**Golovenko Mykola Yakovych,**

<https://orcid.org/0000-0003-1485-128X>

Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher,  
Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine,

Head of the Department of Biomedicine,

A. V. Bogatsky Physical-Chemical Institute  
of the National Academy of Sciences of Ukraine  
86, Liustdorfska doroha str., Odesa, 65080, Ukraine

**Larionov Vitalii Borysovych,**

<https://orcid.org/0000-0003-2678-4264>

Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher,  
Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology and Medicine,

A. V. Bogatsky Physical-Chemical Institute  
of the National Academy of Sciences of Ukraine  
86, Liustdorfska doroha str., Odesa, 65080, Ukraine

**Valivodz` Iryna Petrivna,**

<https://orcid.org/0000-0001-7465-7089>

Candidate of Biological Sciences,  
A. V. Bogatsky Physical-Chemical Institute  
of the National Academy of Sciences of Ukraine  
86, Liustdorfska doroha str., Odesa, 65080, Ukraine