

Для цитирования: Федулова, Л.В. Исследование биоэквивалентности ветеринарных препаратов на основе флураланера: ВЕПРИПАК® и БРАВЕКТО® / Л.В. Федулова, Е.В. Викторова, С.А. Платонова // Российский ветеринарный журнал. — 2025. — № 4 — С. 54–59. DOI 10.32416/2500-4379-2025-4-54-59
For citation: Fedulova L.V., Viktorova E.V., Platonova S.A., Bioequivalence of fluralaner-based veterinary medicinal products: VEPRIPAK® and BRAVECTO®, Russian veterinary journal (Rossijskij veterinarnyj zhurnal), 2025, No. 4, pp. 54–59. DOI 10.32416/2500-4379-2025-4-54-59

УДК 619: 615
DOI 10.32416/2500-4379-2025-4-54-59
RAR

Исследование биоэквивалентности ветеринарных препаратов на основе флураланера: ВЕПРИПАК® и БРАВЕКТО®

Л.В. Федулова¹, доктор технических наук, профессор РАН, заведующий Экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения;
Е.В. Викторова², кандидат биологических наук, научный руководитель (eviktorova@vetstem.ru);
С.А. Платонова², кандидат биологических наук, директор по развитию.

¹ ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (109316, Москва, ул. Талалихина, д. 26).

² ООО «Ветстем» (121205, г. Москва, тер. Сколково инновационного центра, Большой бульвар, д. 42, стр. 1).

Общие сведения: флураланер представляет собой эктопаразитицид системного действия, обеспечивающий долгосрочное уничтожение блох и клещей у собак после однократного перорального приема. На основе данного соединения компанией ООО «ВЕТСТЕМ» разработан новый ветеринарный ЛП «Вефрипак».

Цель исследования: изучить фармакокинетическую биоэквивалентность воспроизведенного ЛП «Вефрипак» и референтного ЛП «Бравекто» при применении собакам.

Результаты: ВЭЖХ-МС/МС-анализ установил фармацевтическую эквивалентность препаратов: время достижения пиковой концентрации (T_{max}) флураланера в сыворотке крови в среднем составило 48 ч для обоих препаратов; пиковые концентрации в плазме (C_{max}) составили 7958,6 нг/мл для исследуемого ЛП и 7987,0 нг/мл для референтного ЛП; 90%-е доверительные интервалы соотношений $C_{max}T/C_{max}R$ и AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} пимобендана находились в пределах диапазона 80...125 %.

Выводы: полученные результаты служат достаточным основанием для признания фармакокинетической эквивалентности воспроизведенного препарата референтному.

Ключевые слова: флураланер, Вефрипак®, Бравекто®, фармакокинетика, биоэквивалентность, собаки.

Bioequivalence of fluralaner-based veterinary medicinal products: VEPRIPAK® and BRAVECTO®

L.V. Fedulova¹, Grand PhD in Technical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin;

E.V. Viktorova², PhD in Biological Sciences, Scientific Director (eviktorova@vetstem.ru);

S.A. Platonova², PhD in Biological Sciences, Development Director.

¹ Gorbатов Federal Scientific Center of Food Systems, Russian Academy of Sciences (26, Talalikhina St., Moscow, 109316).

² Vetstem LLC (Bldg. 1, h. 42, Bolshoy Boulevard, Skolkovo Innovation Center, Moscow, 121205).

General information: fluralaner is a systemic ectoparasiticide that provides long-term control of fleas and ticks in dogs after a single oral administration. Based on this compound, VETSTEM LLC has developed a new veterinary medicinal product, VEPRIPAK®.

Objective: to evaluate the pharmacokinetic bioequivalence of the test generic product VEPRIPAK® and the reference product BRAVECTO® in dogs.

Results: analysis of serum fluralaner concentrations by HPLC–MS/MS demonstrated equivalence of key pharmacokinetic parameters: the mean time to maximum concentration (T_{max}) was 48 h for both products; peak serum (or plasma, if per protocol) concentrations (C_{max}) were 7,958.6 ng/mL for the test product and 7,987.0 ng/mL for the reference product. The 90% confidence intervals for the ratios $C_{max}T/C_{max}R$ and AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} were within the bioequivalence acceptance range of 80.00–125.00 %.

Conclusions: these data provide sufficient evidence to conclude that the test product is pharmacokinetically equivalent to the reference product in dogs.

Keywords: fluralaner, VEPRIPAK®, BRAVECTO®, pharmacokinetics, bioequivalence, dogs.

Сокращения: ВЭЖХ-МС/МС (HPLC–MS/MS) — высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией (high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry), ГАМК (GABA) — гамма-аминомасляная кислота (gamma-aminobutyric acid), ДВ (API) — действующее вещество (active pharmaceutical ingredient), ЛП (MP) — лекарственный/е препарат/ы (medicinal product), п/к (s.c.) — подкожно (subcutaneous).

Введение

Более 10 лет назад был разработан эктопаразитицид — флуранер, представляющий собой важное достижение в области контроля заражения эктопаразитами у собак. Флуранер принадлежит к новому классу соединений с противопаразитарным эффектом — изоксазолинам. Эти соединения действуют на ГАМК- и глутамат-зависимые хлоридные каналы и обладают значительной селективностью в отношении нейронов членистоногих в сравнении с нейронами млекопитающих, обеспечивая контроль инвазии блохами и клещами на протяжении 12 недель после однократной дачи внутрь. Столь существенная продолжительность действия обеспечивает более удобное лечение по сравнению с препаратами против блох и клещей, предназначенными для ежемесячного применения, что потенциально может способствовать повышению комплаентности.

Начиная с 2010 года проводятся исследования по изучению способа применения, всасываемости и эффективности флуранера на различных видах животных в которых показана высокая его эффективность [6...8]. Широко известным и зарекомендовавшим себя, в том числе на российском рынке, является препарат «Бравекто®».

С целью повышения доступности препаратов для владельцев животных компания ООО «Ветстем» разработала ветеринарный ЛП «Веприпак®», представляющий собой фармацевтический аналог оригинального препарата «Бравекто®».

Препараты «Бравекто®» и «Веприпак®» применяют для лечения и профилактики блошиной инвазии у собак; в комплексной терапии аллергического дерматита, вызванного блохами; акарозов, вызванных иксодовыми клещами; для лечения демодекоза, саркоптоза и отодектоза; для снижения риска возникновения бабезиоза.

Референтный и воспроизведенный препараты выпускают в форме таблеток. Препараты «Бравекто®» и «Веприпак®» в зависимости от массы таблетки содержат в качестве ДВ 112,5 мг, 250 мг, 500 мг, 1000 мг и 1400 мг флуранера.

Препарат «Веприпак®» также содержит вспомогательные вещества: ароматизатор из свиной печени, сахарозу, натрия лаурилсульфат, дина-

трия паноата моногидрат, магния стеарат, аспартам, глицерин, соевое масло (стабилизированное 0,1% бутилокситолуола), полиэтиленгликоль (Макрогол 3350), кукурузный крахмал.

Фармакокинетическую биоэквивалентность ЛП «Бравекто®» и «Веприпак®» изучали на целевой группе животных для данных ЛП (собаках).

Цель исследования

Сравнить биоэквивалентность двух препаратов на основе флуранера, предназначенных для ветеринарного применения: ЛП «Веприпак®» (производитель ООО «Ветстем», РФ) и ЛП «Бравекто®» (Intervet GmbH, Австрия) при однократном пероральном введении целевому виду животных — собакам.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 16 клинически здоровых собаках породы английский бигль, самцы (n=8) и самки (n=8), полученных из разведения, возрастом от 18 до 24 месяцев, массой 15,43±0,76 кг. В течение 90 суток до начала исследования животные не получали препаратов с ДВ флуранер; в течение не менее чем 30 суток до начала исследования им не применяли иных антигельминтных и антипаразитарных препаратов широкого спектра действия. Во время исследования соблюдали принципы гуманного отношения к экспериментальным животным [Директива 2010/63 EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях]. Был использован последовательный дизайн исследований, что соответствует требованиям законодательства в части исследования биоэквивалентности [Приказ Минсельхоза от 6 марта 2018 г. No 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения». <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/5823.htm>].

Препараты вводили собакам перорально, однократно, индивидуально незадолго до кормления, во время или вскоре после него, в терапевтической дозе 25...56 мг ДВ флуранера на 1 кг массы животного.

Пробы крови у каждого животного брали за 10 мин до введения препарата (0) и после введения через 2, 4 и 8 ч, затем через сутки и далее на 2-е, 3-е, 4-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е, 49-е, 56-е, 63-и, 70-е, 77-е и 84-е сутки.

Концентрацию ДВ флуранер в сыворотке крови собак определяли методом ВЭЖХ-МС/МС в двух повторах.

Исследование выполняли на системе для ВЭЖХ Agilent 1200 с трехквadrupольным масс-спектрометром Agilent 6410В с использованием хроматографической колонки Poroshell 120 EC-C18 4.6 мм × 50 мм, 2.7 мкм (p/n 699975-902) (Agilent Technologies, США): температура колонки — 30 °С; скорость потока подвижной фазы — 0,4 мл/мин; объем вводимой пробы — 10 мкл; время анализа — 5 мин. Разделение проводили в режиме градиентного элюирования (двухкомпонентная подвижная фаза). Использовали ионизацию электрораспылением и следующие оптимизированные параметры масс-спектрометрического детектирования: температура газа для десольватации 350 °С; расход газа для десольватации 12 л / мин; давление иглы распылителя 50 psi (345 кПа). Условия детектирования оптимизировали в ручном режиме. Напряжение на фрагменторе определяли, варьируя с шагом 10 В по максимальному отклику протонированного молекулярного иона, энергию диссоциации оптимизировали с шагом 2 В по максимальному отклику характерного иона-продукта, при этом, соотношение сигнал / шум иона-продукта должно быть не менее 1 : 10. Детектирование аналитов проводили методом «регистрации выбранных реакций».

Для вычисления концентраций ДВ флуранер использовали программное обеспечение MassHunter Workstation Software B.09.00, с помощью которого получали данные о количественном содержании в нг/мл в пробе без учета разведения и массы навески сыворотки крови, на основе полученного сигнала рассчитывали содержание ДВ флуранер [1...3].

Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью ПО Microsoft Excel 2013, IBM SPSS Statistics 10 (США). Обработка полученных индивидуальных данных включала в себя нахождение средних величин, относительных стандартных отклонений от средних ($\text{mean} \pm \text{SD}$), медианы (Me) и межквартильного размаха (P25 и P75). Все расчеты фармакокинетических показателей производили с использованием программы-надстройки PKSolver для Microsoft Excel, свободно доступной и написанной на Visual Basic для приложений (VBA) [4]. Для оценки статистической значимости различий использовали критерий Манна-Уитни, статистическая значимость (значение p) принята за 0,05.

Результаты

Дозирование проводили целыми таблетками с содержанием ДВ флуранер 500 мг, поэтому каждая собака получила дозу, приблизительно равную целевой: 25...56 мг ДВ флуранер на

1 кг массы животного (табл. 1). У животных после введения ЛП «Веприпак®» и «Бравекто®» на протяжении всего периода наблюдения, составившего 84 суток после введения, не отмечено никаких нарушений в физиологическом состоянии: собаки были подвижны и активны; мышцы в тонусе; тактильная реакция сохранена; шерсть гладкая, чистая, блестящая, плотно прилегающая к телу; кожный покров эластичный, без нарушения целостности; видимые слизистые оболочки бледно-розового цвета, без признаков воспалительных реакций; глаза яркие, блестящие; акты мочеиспускания и дефекации соответствовали физиологической норме. В течение эксперимента сохранность животных была полной. На основании полученных данных установлено, что ДВ флуранер обнаруживается в сыворотке крови собак уже через 2 ч после введения препаратов «Веприпак®» и «Бравекто®».

1. Доза препарата и содержание действующего вещества во введенной дозе

Dose of medication and the amount of active substance in the administered dose

№ собаки	Масса тела, кг	Доза препарата, мг	Количество ДВ флуранера, мг/кг
ЛП Веприпак®			
1	15,3	500	32,68
2	14,9	500	33,56
3	16,1	500	31,06
4	16,5	500	30,30
5	14,8	500	33,78
6	15,8	500	31,65
7	16,3	500	30,67
8	14,4	500	34,72
Me	15,55	500	32,30
P25...P75	[14,88...16,15]	-	[30,96...33,61]
ЛП Бравекто®			
9	15,4	500	32,47
10	14,2	500	35,21
11	16,4	500	30,49
12	15,5	500	32,26
13	14,3	500	34,97
14	15,4	500	32,47
15	16,3	500	30,67
16	15,3	500	32,68
Me	15,4	500	32,50
P25...P75	[15,05...15,70]	-	[31,86...33,25]

Для препарата «Веприпак®» пиковая концентрация Стах ДВ флуранер в сыворотке крови собак отмечалась между первыми и вторыми сутками

после приема и составляла 7676,56 [7568,89... 8388,99] нг/мл. Концентрация ДВ флуранер в сыворотке крови собак постепенно снижалась, однако не достигала нижнего предела количественного определения метода (10 нг/мл) даже через 84 сут. Подобная картина наблюдалась после приема референтного препарата «Бравекто®»: концентрация ДВ флуранер в сыворотке крови собак достигала максимума между первыми и вторыми сутками после приема, составляя 7853,46 [7586,98...8412,12] нг/мл. В дальнейшем его концентрация в сыворотке крови собак постепенно снижалась, однако не достигала нижнего предела количественного определения метода (10 нг/мл) даже через 84 сут. Изменение концентрации ДВ флуранер в сыворотке крови собак представлено в таблице 2 и на рисунке. Сравнительные фармакокинетические параметры ДВ флуранер при применении препаратов «Веприпак®» и «Бравекто®» приведены в таблице 3.

2. Результаты исследования ДВ флуранер в сыворотке крови собак при введении ЛП Веприпак® и Бравекто® (Mean±SD, нг/мл сыворотки крови)

Results of the study of the active substance fluralaner in the blood serum of dogs when administered Vepripak® and Bravecto® (Mean±SD, ng/ml of blood serum)

№ п/п пробы	Время взятия крови	Концентрация ДВ флуранер в сыворотке крови (Mean±SD, нг/мл сыворотки крови)	
		Веприпак®	Бравекто®
0	-0,10	<НПКО	<НПКО
1	2 ч	980,33±8,51	1205,56±14,29
2	4 ч	4102,55±28,3	4138,58±28,86

3	8 ч	4230,97±11,58	5135,02±29,88
4	1 сут	8800,16±49,59	7130,39±73,5
5	2 сут	8999,88±79,67	7332,43±23,93
6	3 сут	8965,84±30,85	7031,92±28,85
7	4 сут	7055,38±14,47	6637,52±56,4
8	7 сут	4873,93±30,22	4454,65±21,21
9	14 сут	3510,56±16,81	3616,7±14,66
10	21 сут	2153,01±5,6	2311,71±6,44
11	28 сут	1136,98±19,32	1236,05±28,84
12	35 сут	728,66±8,48	759,69±22,53
13	42 сут	674,12±6,69	695,88±11,71
14	49 сут	511,39±5,3	507,71±7,76
15	56 сут	490,12±5,06	418,47±5,23
16	63 сут	342,48±6,1	335,24±9,19
17	70 сут	230,68±7,39	214,22±3,72
18	77 сут	188,61±10,07	192,62±5,59
19	84 сут	70,6±3,08	76,04±0,63

Наличие/отсутствие биоэквивалентности между воспроизведенным ЛП «Веприпак®» и референтным препаратом «Бравекто®» оценивали в соответствии с Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза (Решение Евразийской экономической комиссии № 85). Исследуемые препараты считаются биоэквивалентными, если, 90%-й доверительный интервал для отношения среднего значения каждого из перечисленных фармакокинетических параметров, за исключением C_{max} , для исследуемого препарата к среднему значению для препарата сравнения находится в пределах 0,80...1,25. Для C_{max}

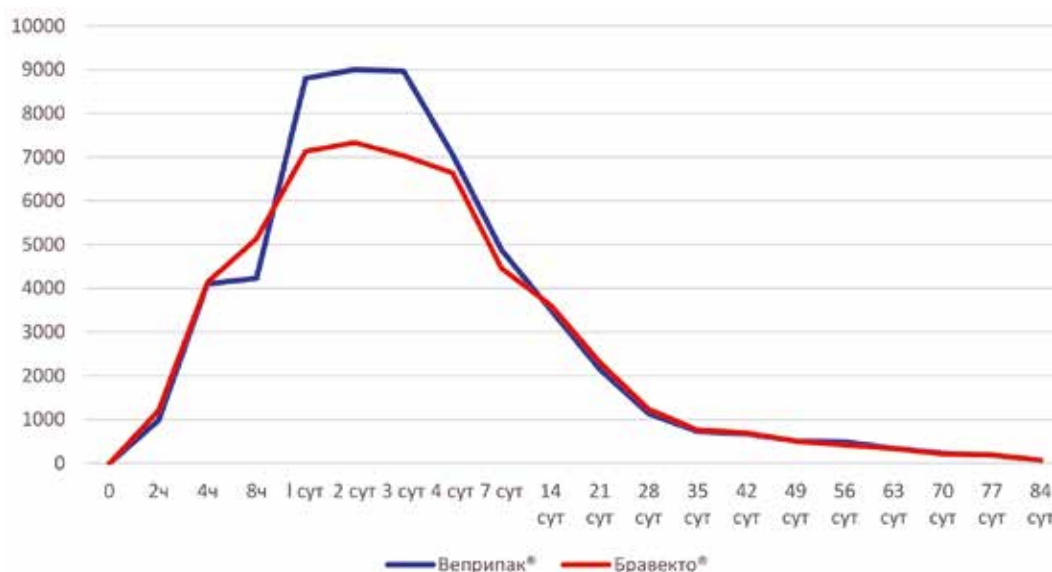


Рис. Концентрация ДВ флуранер в сыворотке крови
Concentration of the active substance fluralaner in the blood serum

3. Результаты определения фармакокинетических показателей ДВ флураланер ЛП Веприпак® и Бравекто®

Results of determining the pharmacokinetic parameters of the active substance fluralaner in the drugs Vepripak® and Bravecto®

Параметр	Ед. изм.	Веприпак®	Бравекто®
Lambda _z	1/h	0,002	0,002
T _{1/2}	h (day)	327,84 (13,66)	410,32 (17,09)
T _{max}	h (day)	48 (2)	48 (2)
C _{max}	ng/ml	7958,58	7986,96
Clast_obs/ C _{max}	-	0,010	0,0174
AUC 0-t	ng/ml*h	3098101,35	3138635,90
	ng/ml*da	129087,59	130776,50
AUC 0-∞	ng/mJ*h	3134932,90	3205330,24
	ng/ml*day	130622,20	133555,42
AUC 0-t/0-∞	-	0,988	0,979
MRT 0-inf obs	day	18,5	19,2
V _z /F obs	(mg)/(ng/ml)	0,075	0,092
Cl/F obs	(ng)/(ng/ml)/h	Не применимо	Не применимо

Примечание: Lambda_z — константа скорости элиминации; t_{1/2} — период полувыведения ДВ; C_{max} — максимальная (пиковая) концентрация ДВ в сыворотке крови после п/к введения; T_{max} — время достижения C_{max} исследуемого ДВ в сыворотке крови после п/к введения; Clast_obs/C_{max} — последняя наблюдаемая концентрация, поддающаяся количественному определению относительно C_{max}; AUC_{0-t} — площадь под кривой концентрация-время от 0 до последней временной точки; AUC_{0-∞} — площадь под кривой концентрация-время от 0 до бесконечности; MRT 0-inf_obs — среднее время сохранения ДВ в сыворотке крови; V_z/F_obs — видимый объем распределения; Cl/F_obs — кажущийся системный клиренс действующего вещества после введения.

соответствующие пределы составляют 0,70...1,43. Определение 90%-го доверительного интервала проводят при помощи параметрических методов анализа, после логарифмической трансформации значений фармакокинетического параметра.

Биоэквивалентность препаратов оценивали на основе предположения о логнормальном распределении измеренных параметров C_{max}, AUC(0-t), AUC(0-∞) и C_{max}/AUC(0-t).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что 90%-е доверительные интервалы для отношений C_{max} и AUC₀ «Веприпак®» и «Бравекто®» находятся в пределах диапазона 80–125, и, следовательно, гипотеза о биоэквивалентности препаратов «Веприпак®» и «Бравекто®» принимается.

Заключение

Результаты исследования сравнительной фармакокинетики воспроизведенного препарата

«Веприпак®» и референтного препарата «Бравекто®» на собаках продемонстрировали, что они фармацевтически эквивалентны:

- двусторонний доверительный интервал для соотношения C_{max} находится в диапазоне от 70,0 до 143,0 %;
- двусторонний доверительный интервал для соотношений AUC_{0-t} и AUC_{0-∞} находится в диапазоне 80,0...125,0%;
- двусторонний доверительный интервал для соотношений C_{max}/AUC_{0-t} находится в диапазоне 75...133%.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что биофармацевтические свойства препарата «Веприпак®» сопоставимы с аналогичными свойствами препарата «Бравекто®», ранее зарегистрированного в Российской Федерации на основании результатов доклинических и клинических исследований, подтвердивших его качество, эффективность и безопасность.

Полученные результаты исследований продемонстрировали наличие достаточных оснований для признания безопасности и эквивалентной терапевтической активности разработанного в РФ препарата «Веприпак®».

Конфликт интересов

Производителем препарата Веприпак® и спонсором данного исследования является ООО «Ветстем». Решение о публикации результатов научной работы принадлежит разработчику ООО «Ветстем».

Библиография

- Currie, G.M. Phannacology, Part 2: Introduction to Phannacokinetics / G.M. Currie // J Nucl Med Technol. — 2018. — Vol. 46. — No. 3. — pp. 221-230. doi: 10.2967/jnmt.117.199638.
- Белоусов, Ю.Б. Общая и частная клиническая фармакокинетика / Ю.Б. Белоусов, К.Г. Гуревич. — М.: Ремедиум, 2006. — 807 с.
- Горьков, В.А. Введение в фармакокинетика. Клиническая фармакокинетика / В.А. Горьков, Е.И. Карамышева // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2004. — №1. — С. 2-4.
- Zhang, Y. PKSolver: An add-in program for phamacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel / Y. Zhang, M. Huo, J. Zhou, S. Xie // Comput Methods Programs Biomed. — 2010. — Vol. 99. — No. 3. — pp. 306-14. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007.
- Соколов, А.В. Правила исследования биоэквивалентности / А.В. Соколов // Клиническая фармакокинетика. — 2004. — №1. — С. 5-13.
- Walther, F.M. The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs / F.M. Walther, M.J. Allan, R.K. Roepke, M.C. Nuernberger // Parasit Vectors. — 2014 Mar. — Vol. 5. — No. 7. — pp. 84. doi: 10.1186/1756-3305-7-84.
- Kilp, S. Comparative pharmacokinetics of fluralaner in dogs and cats following single topical or intravenous administration / S. Kilp, D. Ramirez, M.J. Allan, R.K. Roepke // Parasit Vectors. — 2016 May. — Vol. 31. — No. 9(1). — pp. 296. doi: 10.1186/s13071-016-1564-8.
- Berny, P.J. Fecal elimination of fluralaner in different carnivore species after oral administration / P.J. Berny, D. Belhadj, B. España, A. Lécu // Frontiers in Veterinary Science. — 2024 Aug. — Vol. 16. — No. 11. — pp. 1279844. DOI.10.3389/fvets.2024.1279844.