Bioraspoloživost i bioekvivalencija generičkih oftalmika

Škarijot, Jelena

Professional thesis / Završni specijalistički

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:226135

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Jelena Škarijot

BIORASPOLOŽIVOST I BIOEKVIVALENCIJA GENERIČKIH OFTALMIKA

Specijalistički rad

Zagreb, 2018.

Poslijediplomski specijalistički studij: Razvoj lijekova

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivan Pepić

Specijalistički rad obranjen je dana 19. listopada 2018. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred Povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Branka Zorc, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
2. doc. dr. sc. Ivan Pepić, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
3. dr. sc. Ivica Malnar, znanstveni suradnik, Agencija za lijekove i medicinske proizvode

Rad ima 83 listova.

PREDGOVOR

Ovaj specijalistički rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Ivana Pepića.

Zahvaljujem mentoru Ivanu Pepiću na stručnoj podršci pri izradi ovog specijalističkog rada.

Zahvaljujem poslodavcu Agenciji za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) koji me uputio na stručno usavršavanje. Veliko hvala kolegicama iz Odsjeka za validaciju zahtjeva na savjetima i pomoći tijekom studiranja i pisanja rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci tijekom studiranja.

SAŽETAK

Cilj istraživanja

Cilj ovog specijalističkog rada je pregledno opisati regulatorne smjernice Europske agencije za lijekove (EMA) za ispitivanje bioraspoloživosti i provjere bioekvivalencije u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkog oftalmika u promet na području Europske unije.

Materijali i metode

Literatura je pretraživana prema temi i predmetu istraživanja, autorima i časopisu, od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci relevantni za problematiku ovog specijalističkog rada. Ciljana pretraga provedena je putem baza ScienceDirect, PubMed, Agencije za lijekove i medicinske proizvode. Regulatorne smjernice detaljno su istražene pretraživanjem baze Europske agencije za lijekove.

Rezultati

Oftalmici se najčešće izrađuju u obliku kapi za oko s ciljem liječenja oboljenja prednjeg segmenta oka. Generičkim lijekovima mora biti utvrđena bioekvivalencija u odnosu na referentni lijek u svrhu dobivanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet na području Europske unije. Bioekvivalencija podrazumijeva odsutnost značajnih razlika u brzini i obimu raspoloživosti djelatne tvari iz farmaceutskog ekvivalenta na mjestu djelovanja. Za generičke oftalmike u obliku otopine koji imaju jednak kvalitativni i kvantitativni sastav kao referentni lijek moguće je zahtijevati izuzeće od provođenja studije bioekvivalencije. Drugim oftalmičkim oblicima koji su jednakog kvalitativnog i kvantitativnog sastava kao referentni lijek, potrebno je utvrditi bioekvivalenciju jer razlike u proizvodnji mogu utjecati na bioraspoloživost lijeka u oku. Prikladne metode utvrđivanja bioekvivalencije nedostaju za mnoge oftalmičke oblike. Trenutno nema smjernice izrađene specifično za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku.

U tijeku je izrada smjernice za kakvoću i ekvivalenciju topikalnih lijekova, kojom bi trebali biti opisani prikladni *in vitro* i *in vivo* modeli i metode za dokazivanje ekvivalencije. Navedena

smjernica bi trebala biti usmjerena na lijekove za dermalnu primjenu, ali i za lijekove drugih puteva primjene.

Zaključak

Sadašnji algoritmi za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku nakon topikalne oftalmičke primjene osnivaju se na određivanju karakterističnih sistemskih farmakokinetičkih parametara (T_{max}, C_{max}, AUC) lijeka, koji su preuzeti iz standardnih smjernica za određivanje bioraspoloživosti lijekova namijenjenih postizanju sistemskog učinka, ali oni služe samo kao privremeno rješenje do razvoja i implementiranja primjerenih smjernica izrađenih specifično za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku. Sistemski učinak topikalnih lijekova smatra se nepoželjnim te je sistemske farmakokinetičke parametre topikalnih oftalmika moguće određivati i razmatrati s ciljem ocjene sigurnosti primjene lijekova. U usporedbi s uzorkovanjem fizioloških tekućina (krv, urin) u svrhu ispitivanja bioraspoloživosti i utvrđivanja bioekvivalencije lijekova namijenjenih sistemskom učinku, uzorkovanje tekućina i tkiva oka u svrhu procjene bioraspoloživosti lijeka u oku je vrlo invazivno i složeno.

Postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet temelji se na članku 32. Zakona o lijekovima (što odgovara članku 10(3) Direktive 2001/83/EC) jer se ispitivanjem bioraspoloživosti ne može dokazati bioekvivalentnost te se stoga takvi zahtjevi nazivaju hibridnim generičkim aplikacijama. Izuzeće za dostavljanje podataka o ekvivalenciji može biti prihvatljivo ako se radi o otopinama kao što su kapi za oko te je za dokazivanje terapijske ekvivalencije potrebno dokazati farmaceutsku ekvivalenciju. Terapijska ekvivalencija može biti dokazana ako se dokaže da su sastav ispitivanog lijeka i dobiveni rezultati iz razvoja ispitivanog lijeka usporedivi s referentnim lijekom, uključujući fizičko-kemijska svojstva lijeka. Manje razlike u pomoćnim tvarima mogu biti zanemarive ukoliko je to na odgovarajući način opravdano.

SUMMARY

Objectives

The aim of this paper is to describe regulatory guidelines for bioavailability and bioequivalence studies in procedures for granting marketing authorisation for generic ophthalmic medicinal products in the European Union.

Materials and Methods

Literature search was done by topic and subject of research, authors and journals, from general to specialized articles and guidelines relevant to the issues of this paper. The targeted search was carried out via the on-line databases such as ScienceDirect, PubMed, medicinal products database of the Agency for Medicinal Products and Medical Devices of Croatia. The regulatory guidelines have been detailed searched through the European Medicines Agency database.

Results

Ophthalmic medicinal products are most often formulated as topical eye drops for the treatment of anterior ocular disorders. Bioequivalence of generic medicinal product with the reference medicinal product must be demonstrated by appropriate bioavailability studies. Bioequivalence implies an absence of significant differences in the rate and extent of the availability of active substance from the pharmaceutical equivalent at the site of action. For generic ophthalmic medicinal product in the form of a solution having the same qualitative and quantitative composition as a reference medicinal product, it may be required to exempt from the bioequivalence study. In other ophthalmic dosage forms of equal qualitative and quantitative compositions as a reference medicinal product, bioequivalence needs to be established because production differences may affect eye-related bioavailability. Appropriate methods for determininig bioequivalence are missing for many ophthalmic dosage forms. There are currently no guidelines specifically designed to evaluate the

bioavailability of the ophthalmic medicinal product. The development of a guideline on quality and equivalence of topical products is in process, which should include alternative *in vitro* and *in vivo* models and methods to predict therapeutic equivalence with reference medicinal products. The scope of that guidance should focus on product for cutaneous use, but also other routes.

Conclusion

The current algorithms for evaluating the bioavailability of the drug in the eye after topical ophthalmic administration are based on the determination of characteristic systemic pharmacokinetic parameters (T_{max}, C_{max}, AUC) taken from standard guidelines for determining the bioavailability of medicinal products intended to achieve systemic effect. They serve only as a temporary solution to the development and implementation of appropriate guidelines prepared specifically for the assessment of bioavailability of the drug in the eye. The systemic effect of topical medicinal products is considered undesirable and systemic pharmacokinetic parameters of topical ophthalmic medicinal products can be determined and considered only with a view to assessing the safety of medicinal product. Compared to the sampling of physiological fluids (blood, urine) for the purpose of bioavailability testing and determination of the bioequivalence, fluid and eye tissue sampling for the bioavailability of the medicinal products in the eye is highly invasive and complex.

The procedure for granting marketing authorization for generic ophthalmic products is based on Article 32 of the Medicines Act (which is in accordance with Article 10(3) of Directive 2001/83/EC) because bioavailability testing can not demonstrate bioequivalence. Therefore such applications are called hybrid generic applications. A waiver of the need to provide equivalence data may be acceptable in the case of the eye drops solutions and for demonstrating therapeutic equivalence is necessary to prove the pharmaceutical equivalence. Therapeutic equivalence can be established when it is proven that the composition of the test product and the results of study product development are comparable

to the reference product, including physical and chemical properties of the product. Minor differences in the excipient composition may be acceptable if appropriately justified.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA 1

1.1. Biofarmaceutske značajke prednjeg segmenta oka 1

1.1.1. Rožnica 1

1.1.2. Spojnica 4

1.1.3. Suzna tekućina i prekornealni suzni film 5

1.1.4. Razrjeđenje pripravaka u prekornealnom području 6

1.1.5. Uklanjanje pripravaka iz prekornealnog područja 6

1.2. Farmakokinetička zbivanja u oku nakon različitih puteva primjene lijeka 8

1.3. Neklinička ispitivanja bioraspoloživosti oftalmika koji se primjenju u prednji segment oka 9

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 14

3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI 16

3.1. Postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet u Republici Hrvatskoj 16

3.2. Smjernice za ocjenu nekliničke i kliničke dokumentacije u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet 24

3.2.1. Klinička ispitivanja lijekova koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno 24

3.2.2. Bioekvivalencija 28

3.2.3. Izuzeća od ispitivanja bioekvivalencije 33

3.2.4. *In vitro-in vivo* korelacija 36

3.2.5. Farmaceutska ekvivalencija topikalnih pripravaka 38

3.2.6. Smjernice za neklinička ispitivanja oftalmika 39

3.2.7. OECD smjernice za ispitivanje iritacije oka 42

3.2.8. Javno izvješće o ocjeni dokumentacije o lijeku – primjeri odobrene nekliničke i kliničke dokumentacije u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet 53

3.3. Farmakopejski zahtjevi za kakvoću ljekovitih pripravaka za oko 57

3.4. Sustavi za primjenu ljekovitih pripravaka u oko 60

3.5. Informacije o lijeku 62

3.5.1. Praćenje sigurnosti primjene lijeka nakon stavljanja lijeka u promet 64

4. RASPRAVA 67

5. ZAKLJUČAK 70

6. LITERATURA 71

7. ŽIVOTOPIS 82

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

S ciljem liječenja oboljenja prednjeg segmenta oka, kapi za oko u obliku otopina i suspenzija najviše su propisivani farmaceutski oblici u oftalmologiji. Nakon primjene oftalmika na površinu oka ili u donju konjuktivalnu vrećicu djelatna tvar treba se apsorbirati u površinska tkiva oka rožnicu i spojnicu u slučajevima liječenja konjunktivitisa, keratokonjunktivitisa ili keratitisa ili se treba apsorbirati kroz rožnicu u slučajevima liječenja intraokularnih oboljenja, primjerice glaukoma. Brzina i obim apsorpcije lijeka nakon primjene na površinu oka iznimno su složeni procesi koji ovise o brojnim čimbenicima: fizičko-kemijskim (npr. pK_a, topljivost u suznoj tekućini, lipofilnost, veličina molekule, naboj), fiziološkim (dinamika suzne tekućine, nazolakrimalna drenaža, vrijeme zadržavanja na površini oka, stabilnost u suznoj tekućini, mehanizmi apsorpcije), čimbenicima povezanim s oftalmičkim farmaceutskim oblikom lijeka (otopine, suspenzije, emulzije, masti, gelovi). Zbog izravne primjene oftalmika na barijeru preko koje se odvija apsorpcija djelatne tvari, potrebno je uvažavati sve navedene čimbenike pri predviđanju bioraspoloživosti djelatne tvari u oku nakon topikalne oftalmičke primjene.

1.1. Biofarmaceutske značajke prednjeg segmenta oka

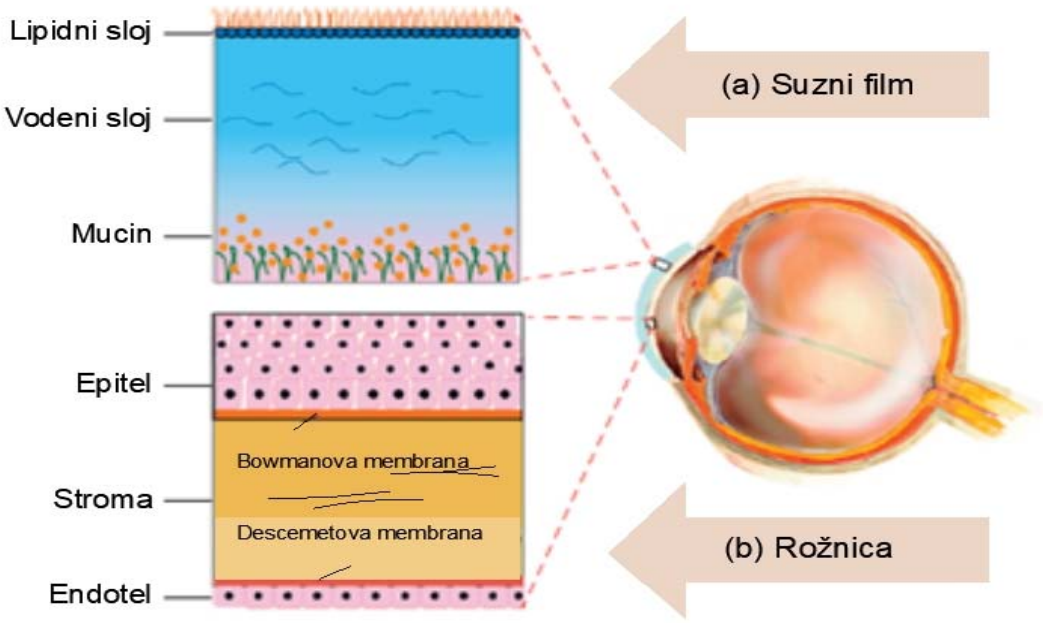
1.1.1. Rožnica

Rožnica razdvaja očnu vodicu od suzne tekućine i štiti osjetljive intraokularne strukture od vanjskih utjecaja. Rožnica je providno, avaskularno tkivo koje se opskrbljuje hranjivim tvarima i kisikom iz suzne tekućine i očne vodice. Površinske epitelne stanice rožnice ljušte se prosječnom dinamikom od 4 do 8 dana. Rožnica je vrlo inervirana senzornim živcima čime je osigurana njezina važna senzorna i refleksna funkcija. Rožnica nema krvnih žila, a krvožilni sustav bjeloočnice je ograničen na vrlo mali broj krvnih žila, čime je opskrba imunoglobulinima takvih tkiva relativno ograničena. Kao posljedica toga liječenje infekcija rožnice i bjeloočnice vrlo je složeno (1).

Izražena osjetljivost rožnice posljedica je njezine specifične inervacije. Rožnica je najgušće inervirano tkivo u ljudskom tijelu. Uz važnu senzornu funkciju, živci u rožnici važni su za održavanje funkcije površine oka kao što su produkcija suza i treptanje. Anatomija ljudske rožnice je vrlo složena te njezin detaljan opis prelazi okvire ovog rada. Prema novijim istraživanjima smatra se da glavni stromalni živčani završeci ulaze ravnomjerno iz svih smjerova u rožnicu putem kornealnog limbusa (rožničko-bjeloočna veza). Nakon ulaska u rožnicu stromalni završeci se granaju na različit broj manjih stromalnih živaca koji često anastomoziraju i tvore umjereno gustu stromalnu mrežu koja je gušća u perifernom dijelu rožnice nego u središnjem dijelu rožnice. Većina stromalnih živčanih vlakana u prednjem dijelu strome tvore gustu subepitelnu mrežu. Subepitelna mreža sastoji se od skromnog broja ravnih i zakrivljenih živaca koji većinom ulaze u Bowmanovu membranu i zatim u epitel rožnice te od vijugavih anastomozirajućih živaca koji ostaju u subepitelnom dijelu mreže. Nakon ulaska u epitel stromalni živci tvore grupu do dvadestak subbazalnih živčanih vlakana koja u središnjem dijelu rožnice anastomoziraju u gustu subbazalnu mrežu, dok u perifernom dijelu rožnice tvore manje spletove i manje su anatomski složeni. Subbazalna mreža formira nježne spiralne nakupine dugih zakrivljenih subbazalnih vlakana koji konvergiraju prema vrhu rožnice. Intraepitelni završeci nastaju grananjem subbazalnih živaca i završavaju u svim slojevima epitela (2).

Rožnica se sastoji od slojeva: lipofilni višeslojni epitel, Bowmanova membrana, hidrofilna stroma, Descemetova membrana i lipofilni endotel (prikazano na Slici 1.). Epitelne stanice rožnice povezane su čvrstim međustaničnim vezama (engl. *tight junctions*) zbog čega je ovaj sloj učinkovita barijera od prodora različitih mikroorganizama, ali jednako tako i apsorpciji djelatne tvari. Rožnica je složeni sustav slojevitih polupropusnih membrana male površine koje reguliraju prolaz molekula djelatne tvari, a istodobno je glavni put intraokularne apsorpcije djelatne tvari. S obzirom da se sastoji od lipofilnih (epitel i endotel rožnice) i hidrofilnih (stroma rožnice) struktura, selektivna je barijera apsorpciji hidrofilnim i lipofilnim djelatnim tvarima. Hidrofilnijim djelatnim tvarima epitel rožnice bit će limitirajući čimbenik

apsorpcije, dok će stroma i endotel rožnice samo djelomično usporavati njihovu apsorpciju. Lipofilnijim djelatnim tvarima stroma rožnice će pružati otpor tijekom apsorpcije. Pri primjeni djelatne tvari s visokim vrijednostima koeficijenta razdiobe slijedi brza apsorpcija u lipofilni epitelni sloj, dok se kroz stromu rožnice očekuje mali koncentracijski gradijent. Epitelni sloj rožnice je limitirajući čimbenik apsorpcije većine primijenjenih oftalmika. Djelatna tvar može penetrirati kroz epitel rožnice paracelularnim ili transcelularnim putem. Paracelularni put daje prednost hidrofilnim djelatnim tvarima i primarni je put pasivne ionske permeacije. S obzirom da je ukupna površina rožnice izložena suznoj tekućini bogatoj ionima koji kompetiraju za paracelularni put, pretpostavlja se da će većina djelatnih tvari penetrirati transcelularno. Lipofilne i neionizirane djelatne tvari permeiraju transcelularnim mehanizmima, dok ionizirane i hidrofilne molekule permeiraju paracelularnim mehanizmima. Veličina paracelularnih pora između epitelnih stanica rožnice približno je 6 nm. Lipofilni epitel rožnice sprječava permeaciju približno 90% doze hidrofilne djelatne tvari i samo 10% doze lipofilne djelatne tvari. Većina djelatnih tvari su soli slabih baza koje su potpuno disocirane pri niskim pH vrijednostima. Lipofilnost i ionizacija djelatne tvari određuje obim permeacije kroz rožnicu. Istodobno najnovija ispitivanja pokazuju prisutnost brojnih transportera na površini rožnice i spojnice za aminokiseline/peptide, nukleozide te organske, anionske i kationske tvari. Transporteri mogu značajno utjecati na obim apsorpcije djelatne tvari. Efluksne crpke na površini epitelnih barijera mogu značajno ograničiti permeaciju djelatne tvari u tkiva oka, a u slučajevima kada su djelatne tvari supstrati takvih aktivnih efluksnih transportera (1, 3-6).



Slika 1. Statične barijere pri permeaciji djelatne tvari u prednji segment oka: (a) suzni film; (b) rožnica (prilagođeno prema literaturnom navodu (7)).

1.1.2. Spojnica

Spojnica je tanka, prokrvljena i providna sluznica koja oblaže unutarnju površinu vjeđa i očne jabučice. Razlikuju se tri dijela spojnice: bulbarna spojnica koja oblaže bjeloočnicu, spojnica koja oblaže konjunktivalnu vrećicu i palpebralna spojnica koja oblaže unutarnju površinu vjeđa. Nasuprot maloj površini rožnice i relativnoj nepermeabilnosti, konjunktivalno područje je 17 puta veće površine i 2 do 30 puta permeabilnije za djelatne tvari. Kao posljedica toga, konjunktivalna apsorpcija može biti značajan čimbenik gubitka djelatne tvari iz prekornealnog područja u sustavnu cirkulaciju. Ipak se smatra da se oftalmici sustavno apsorbiraju većinom preko nazalne mukoze (velike površine i visoke permeabilnosti koja se nastavlja na konjunktivalnu većicu), a kao posljedica nazolakrimalne drenaže (1, 8).

1.1.3. Suzna tekućina i prekornealni suzni film

Suzne žlijezde izlučuju tekućinu koja se širi po površini oka i oblikuje prekornealni suzni film. Funkcije suzne tekućine su poboljšanje ili održavanje optičke kvalitete vida, podmazivanje očne jabučice, uklanjanje stranih čestica, opskrba hranjivim tvarima, zaštita od virusnih i bakterijskih infekcija i prijenos kisika do avaskularnog epitela rožnice. Izlučena suzna tekućina širi se treptanjem po površini oka i raspodjeljuje u konjunktivalnu vrećicu. Suzni film sastoji se od površinskog lipidnog sloja, središnjeg vodenog sloja i unutarnjeg sloja mucina (prikazano na Slici 1.). Meibomianove žlijezde izlučuju lipide, suzne žlijezde izlučuju vodeni sloj (95% voda, soli, glukoza, urea, proteini), a čašaste stanice spojnice izlučuju topljive mucine. Nije moguće postaviti jasnu granicu između vodenog sloja i sloja mucina jer je dio mucina otopljen u vodenom sloju. Lipidni sastav suznog filma unutar fizioloških granica održavaju androgeni. Smanjeno izlučivanje lipida u osoba starije životne dobi jedan je od razloga razvoja sindroma suhog oka (9-12). Održavanje cjelovitosti suznog filma vrlo je važno pri primjeni oftalmika. Površinski lipidi suznog filma sprječavaju isparavanje središnjeg sloja. Stabilnost suznog filma smanjuje se učinkom površinski aktivnih konzervansa (npr. benzalkonijevog klorida) koji solubiliziraju lipide suznog filma. Takvo smanjenje stabilnosti rezultira povećanom učestalošću treptanja (10, 13).

Mucin u suznom filmu ima višestruku funkciju (hidratizira, čisti, podmazuje i štiti od patogena), a ključan je u održavanju stabilnosti suznog filma i predstavlja barijeru permeaciji lipofilnim djelatnim tvarima (14). Reološke osobine suznog filma većinom su posljedica mucina. S obzirom da ljudsko oko prosječno načini 20 treptaja u minuti (ili 5-50 treptaja u minuti ovisno o interindividualnim razlikama), vjeđe moraju brzo prijeći preko oka i raspodijeliti izlučeni mucin, dok istodobno ne smiju oštetiti površinu oka. Sloj mucina ponaša se u skladu s ne-Newtonovim sustavima (pseudoplastičnim), odnosno pri treptaju opada viskoznost tog sloja zbog narušavanja trodimenzionalne strukture što omogućuje nesmetano kliženje vjeđa po očnoj površini. Oštećenje suznog filma rezultira suhim područjima na površini rožnice, a što podražuje živčane završetke rožnice, odnosno aktiviraju se mehanizmi

aktiviranja suza i refleks treptanja. Tijekom otvaranja vjeđa rasprostire se novi sloj suznog filma po površini oka (1, 15).

Vrijednost pH suzne tekućine je približno 7,4. Vrijednosti pH određuju bioraspoloživost djelatne tvari nakon primjene oftalmika na dva načina: (i) vrijednosti pH tekućih oftalmičkih pripravaka izvan raspona fizioloških pH vrijednosti suzne tekućine potiču suzenje i tako smanjuju zadržavanje pripravaka u prekornealnom području; (ii) vrijednosti pH tekućih oftalmičkih pripravaka značajno utječu na transkornealnu permeaciju djelatnih tvari. Tekući oftalmički pripravci u pravilu trebaju imati osmotski tlak jednak osmotskom tlaku suzne tekućine, odnosno vrijednostima otopine natrijevog klorida koncentracije 0,9% (m/m) (280 mosmol/l). U zdravih ispitanika vrijednosti osmolarnosti suzne tekućine su u rasponu od 290 do 310 mosmol/l i mijenjaju se ovisno o dobu dana. Osmolarnost suzne tekućine pacijenata sa sindromom suhog oka ili Sjörgenovim sindromom je povećana i iznosi 343 mosmol/l, a takvi pacijenti bolje podnose blago hipotonične tekuće oftalmičke pripravke (16-19).

1.1.4. Razrjeđenje pripravaka u prekornealnom području

Nakon lokalne primjene oftalmičkih pripravaka nastupa miješanje sa suznom tekućinom normalnog volumena 7 µl, što razrjeđuje pripravak. Donja konjunktivalna vrećica može podnijeti oko 30 µl pripravka, iako je u određenim slučajevima taj volumen smanjen na 20 µl ili manje. Normalni volumen izlučivanja suzne tekućine je 0,5-2,2 µl/min pa se suzna tekućina izmjenjuje približno 16%/min. Suzna tekućina odstranjuje se s površine oka prosječnom brzinom od 6 do 12 µl/h. Podnošljivost oftalmičkih pripravaka u uskoj je vezi s njihovim zadržavanjem na površini oka (1).

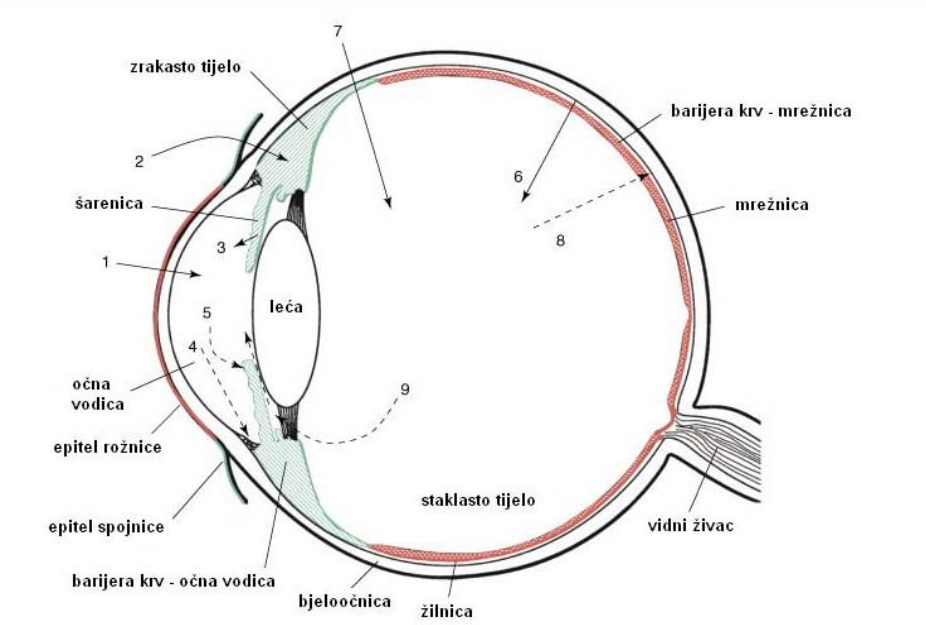
1.1.5. Uklanjanje pripravaka iz prekornealnog područja

Zbivanja u prekornealnom području oka kritični su čimbenici koji određuju udjel primijenjene doze koji će biti raspoloživ za farmakološki učinak. Prekornealno područje oka posjeduje fiziološke mehanizme koji fizički odstranjuju strane čestice s površine oka, ali jednako

učinkovito uklanjanju i primjenjene pripravke. Ti čimbenici uključuju dinamiku suzne tekućine (tok i isparavanje suza), vezanje djelatne tvari na proteine suzne tekućine i njegovu razgradnju. Brzina nazolakrimalne drenaže izravno je proporcionalna volumenu primijenjenog oftalmičkog tekućeg pripravka. Tekući oftalmički pripravci s visokim udjelom hidrofilnih djelatnih tvari brzo se uklanjaju iz prekornealnog područja procesom nazolakrimalne drenaže. Suzna tekućina s površine oka odlazi preko nazolakrimalnog kanala u nosnu šupljinu, a zajedno s njom i strane čestice ili pripravak. Drenirane djelatne tvari apsorbiraju se putem sluznice nosa u sistemsku cirkulaciju. U slučaju primjene preobilnog volumena pripravka dodatno se aktivira refleks suzenja i treptanja. Refleks treptanja potiče nazolakrimalnu drenažu. Što je obim sistemske apsorpcije djelatnih tvari veći, to su sistemske nuspojave više izražene. Primjena više od jedne kapi tekućeg oftalmičkog pripravka u oko u pravilu nema smisla. Primjena druge kapi ili jednokratna primjena kapi dvostrukog volumena rezultira gotovo trenutnim uklanjanjem pripravka s površine oka. Primjenom manjih volumena (1-10 µl) tekućih oftalmičkih pripravaka s visokim udjelom djelatnih tvari s ciljem smanjenja učinka razrijeđenja pripravka suznom tekućinom, opažen je znatan nadražaj površine oka. Takav nadražaj povećava suzenje i nazolakrimalnu drenažu, a što opet za posljedicu ima gubitak djelatne tvari iz prekornealnog područja. S ciljem smanjenja nadražaja površine oka potrebno je postaviti jasne granične vrijednosti površinske napetosti, osmolarnosti, pH vrijednosti i puferskog kapaciteta tekućih oftalmičkih pripravaka. Bioraspoloživost djelatnih tvari u tkivima i/ili tekućinama oka u pravilu je moguće povećati samo produljenjem zadržavanja pripravaka u konjunktivalnoj vrećici. Zatvaranjem izvodnih suznih kanala pritiskom prsta i zatvaranjem vjeđa u trajanju od približno tri minute, povećava se vrijeme zadržavanja pripravka nakon primjene i smanjuje se drenaža tekućeg oftalmičkog pripravka do sluznice nosa, odnosno posljedična sistemska apsorpcija djelatne tvari (1).

1.2. Farmakokinetička zbivanja u oku nakon različitih puteva primjene lijeka

Lijek se primjenjuje lokalno ili sistemski radi postizanja terapijske koncentracije u različitim tkivima i/ili tekućinama oka. Sudbina lijeka nakon lokalne ili sistemske primjene složena je pojava proizašla iz parametara ovisnih i neovisnih o pripravku. Slikom 2. prikazana su farmakokinetička zbivanja nakon topikalne ili sistemske primjene lijeka (20, 21).



Slika 2. Farmakokinetička zbivanja u oku; 1) transkornealna apsorpcija iz suzne tekućine u prednju očnu sobicu – glavni put apsorpcije klinički značajnih oftalmika; 2) nekornealna apsorpcija kroz spojnicu i bjeloočnicu do prednje očne sobice preko difuzije kroz zrakasto tijelo – makromolekulske i/ili hidrofilne djelatne tvari; 3) raspodjela djelatne tvari iz sistemske cirkulacije u prednju očnu sobicu difuzijom iz krvnih žila šarenice preko barijere krv-očna vodica – male molekule; 4) eliminacija djelatne tvari iz prednje očne sobice u sistemsku cirkulaciju izmjenom očne vodice kroz mrežu trabekula i Schlemmov kanal; 5) eliminacija djelatne tvari iz očne vodice u sistemsku cirkulaciju difuzijom kroz površinu šarenice do uveoskleralnog krvožilnog sustava; 6) raspodjela djelatne tvari iz sistemske cirkulacije u stražnji dio oka preko barijere krv-mrežnica (kroz pigmentni epitel mrežnice ili kroz endotel krvnih žila mrežnice); 7) intravitrealna primjena lijeka; 8) eliminacija djelatne tvari iz staklastog tijela u sistemsku cirkulaciju preko barijere krv-mrežnica; 9) eliminacija djelatne tvari iz staklastog tijela u sistemsku cirkulaciju difuzijom u prednju očnu sobicu (prilagođeno prema literaturnom navodu (21)).

1.3. Neklinička ispitivanja bioraspoloživosti oftalmika koji se primjenju u prednji segment oka

Bioraspoloživost topikalnih oftalmika, osim svojstvima djelatne tvari, uvelike je određena i formulacijskim parametrima, odnosno vrstom i udjelom pomoćnih tvari. S obzirom na izravnu primjenu topikalnih oftalmika na mjesto apsorpcije, ispitivanje permeabilnosti djelatne tvari preko bioloških barijera kritičan je korak za predviđanje njegove bioraspoloživosti.

Za nekliničko ispitivanje bioraspoloživosti lijeka u oku koriste se modeli:

(i) *in vitro* stanični modeli (različite kulture primarnih stanica i stanične linije epitelnih stanica rožnice različitog porijekla npr. kunić, štakor, hrčak, čovjek) koji su visokog kapaciteta s obzirom na broj ispitivanih uzoraka u jedinici vremena (engl. *high-throughput models*), ali ne omogućuju dobro predviđanje bioraspoloživosti lijeka u ljudi (engl. *less predictive models*) te su metoda izbora za primarna probirna ispitivanja permeabilnosti i/ili citotoksičnosti/citokompatibilnosti lijeka;

(ii) *ex vivo* tkivni modeli (svježe izolirana animalna i/ili humana tkiva oka) koji su niskog kapaciteta s obzirom na broj ispitivanih uzoraka u jedinici vremena (engl. *low-throughput models*), dok omogućuju dobro predviđanje intraokularne apsorpcije i bioraspoloživosti lijeka u ljudi (engl. *more predictive models*) te su prikladni za sekundarna probirna ispitivanja permeabilnosti lijeka;

(iii) *in vivo* ispitivanja farmakokinetike (opisana u Tablici 1.) ili iritacije oka (Draize test) na animalnom modelu (najčešće na kunićima) koja su etički i ekonomski neprihvatljiva (22).

Stanični modeli rožnice pretežno su razvijani za ispitivanja citotoksičnosti *in vitro* kao alternativa ispitivanjima toksičnosti na animalnim modelima *in vivo* (Draize test), a vrlo su korisni pri ispitivanjima transkornealne permeacije tvari. To su npr. HCE-kulture primarnih epitelnih stanica rožnice, HCEC-netransformirane stanice humanog epitela rožnice, SIRC-stanična linija epitela rožnice kunića, HCE-T-stanična linija humanog epitela rožnice

transformirana s pRSV-T, THCE-rekombinantnim SV40 adenovirusnim vektorom imortalizirana stanična linija humanog epitela rožnice. Postizanje primjerenih vrijednosti transepitelnog električnog otpora (TEER) pri uzgoju stanica važno je za ispitivanje permeabilnosti, a kao mjera integriteta barijere tijekom ispitivanja. Od svih modela za *in vitro* ispitivanja permeabilnosti djelatnih tvari, najbolje je opisana THCE stanična linija. Imortalizirane THCE stanice kontinuirano se dijele kroz više od 400 generacija, morfološki su slične normalnim epitelnim stanicama rožnice, stvaraju primjerenu *in vitro* barijeru (TEER 400-800 Ω cm^2), u kulturi stvaraju 5-8 slojeva stanica s čvrstim međustaničnim vezama, dezmosomima i mikrovilima. Polumjer pora paracelularnog puta je 0,7-1,6 nm, dok im je poroznost 1,3-2,8 × 10^{-7}. Takav stanični model koristi se za ispitivanje pasivne permeacije tvari. Ekvivalenti rožnice *in vitro* izrađuju se tehnikom slojevitog uzgoja stanica pri čemu se stvaraju slojevi epitela, strome i endotela. Tehnika slojevitog uzgoja stanica uključuje uzgoj endotelnih stanica rožnice na poroznim sintetskim membranama, prekrivanje endotelnih stanica disperzijom kolagena koja sadrži stanice strome rožnice i uzgoj epitelnih stanica rožnice na sloju kolagena. Uzgoj epitelnih stanica na površini otopina/zrak osigurava stvaranje čvrstih međustaničnih veza. Tržišno dostupni trodimenzionalni modeli epitela rožnice proizvedeni su korištenjem imortaliziranih humanih epitelnih stanica rožnice (HCE, SkinEthic Laboratories) ili normalnih humanih keratinocita (EpiOcular, MatTek Corporation), a služe za ispitivanja okularne toksičnosti (HCE, EpiOcular) i/ili transkornealne permeabilnosti (HCE) *in vitro* (5, 19, 22, 23).

Ispitivanja permeabilnosti *ex vivo* preko rožnice provode se u protočnim difuzijskim ćelijama (npr. horizontalne difuzijske ćelije, Franzova difuzijska ćelija) koje su sastavljene od donorskog i receptorskog odjeljka između kojih se smješta animalna rožnica. Donorski odjeljak predstavlja prekornealno područje, a receptorski odjeljak prednju očnu sobicu. Za ispitivanja permeabilnosti najčešće se koristi svježe izolirana rožnica svinje. Permeabilnost se ispituje najčešće 4-6 sati zbog ograničene vijabilnosti rožnice nakon izoliranja i relativno kratkog dodira pripravka s površinom oka u uvjetima *in vivo*. Rezultati ispitivanja

transkornealne permeabilnosti djelatne tvari predstavljaju raspoloživost u oku *ex vivo* ili apsorpcijski potencijal djelatne tvari. Primarnim i sekundarnim probirom smanjuje se broj životinja pri *in vivo* ispitivanjima te se ubrzava postupak i poboljšava ekonomičnost razvoja oftalmika (19, 22).

Tablica 1. Farmakokinetička ispitivanja *in vivo* u oku (prilagođeno prema literaturnom navodu (22)).

Ispitivanja farmakokinetike u oku	
➢ **analizom suzne tekućine**	• primjenjivo kod bolesti gdje je potrebno postići i održati terapijsku koncentraciju djelatne tvari u prekornealnom području npr. bakterijski konjunktivitis • ispitivani uzorak primjenjuje se na površinu oka • u određenim vremenskim intervalima uzimaju se uzorci suzne tekućine pomoću staklenih mikrokapilara ili umetanjem filter papira u donju konjunktivalnu vrećicu određeno vrijeme • na temelju izrađene krivulje ovisnosti koncentracije djelatne tvari u suznoj tekućini o vremenu izračunavaju se maksimalna koncentracija djelatne tvari u suznoj tekućini (C_{max}), vrijeme potrebno za postizanje C_{max} (T_{max}), površina ispod krivulje (AUC) ovisnosti koncentracije djelatne tvari u suznoj tekućini (C) o vremenu (t) • na svakoj se skupini kunića može ispitivati više različitih oblika nakon potpunog uklanjanja djelatne tvari iz organizma koje obično traje nekoliko dana
➢ **analizom očne vodice**	• ispitivani uzorak primjenjuje se na površinu oka • invazivni postupak (kunići se žrtvuju prije uzimanja uzorka); uzorak očne vodice uzima se uvođenjem igle u prednju očnu sobicu te se analitičkim metodama određuje koncentracija djelatne tvari; igla se najčešće

	uvodi kroz mjesto spajanja rožnice i spojnice • na temelju krivulje ovisnosti koncentracije djelatne tvari u očnoj vodici o vremenu izračunavaju se maksimalna koncentracija djelatne tvari u očnoj vodici (C_{max}), vrijeme potrebno za postizanje C_{max} (T_{max}), površina ispod krivulje (AUC) ovisnosti koncentracije djelatne tvari u očnoj vodici (C) o vremenu (t)
➢ **analizom tkiva oka**	• ispitivani uzorak primjenjuje se na površinu oka • u određenim vremenskim intervalima nakon primjene uzorka žrtvuju se određene skupine kunića i uzorkuju odabrana tkiva oka • nakon ekstrakcije prikladnim otapalom djelatne tvari iz tkiva oka određuje se koncentracija djelatne tvari različitim analitičkim metodama • rezultati ispitivanja prikazuju se krivuljom ovisnosti koncentracije djelatne tvari u tkivu (npr. rožnici, spojnici) prema vremenu na osnovu koje se određuju karakteristični farmakokinetički parametri
➢ **određivanjem učinka djelatne tvari**	• ispitivanje je neizravna mjera bioraspoloživosti lijeka, jer se ne mjeri izravno koncentracija djelatne tvari u tekućinama ili tkivima oka, nego se posredno preko farmakološkog učinka zaključuje o koncentraciji djelatne tvari na mjestu njezinog učinka • ispitivani uzorak primjenjuje se na površinu oka • određuje se farmakološki učinak djelatne tvari u određenim vremenskim intervalima, npr. promjene promjera zjenice nakon primjene miotika (npr. pilokarpin) ili midrijatika (npr. tropikamid), smanjenje intraokularnog tlaka (npr. timolol, acetazolamid) • određivanje promjera zjenice i mjerenje intraokularnog

	tlaka obavlja se rutinskim neinvazivnim postupcima za koje nije potrebno žrtvovati životinje • na temelju izrađene krivulje ovisnosti farmakološkog učinka o vremenu izračunavaju se karakteristični farmakokinetički parametri
➢ **određivanjem nuspojave djelatne tvari**	• određuje se nuspojava djelatne tvari, npr. povećanje intraokularnog tlaka primjenom kortikosteroida • neizravna mjera bioraspoloživosti lijeka • na temelju rezultata ispitivanja određuju se karakteristični farmakokinetički parametri, npr. na temelju povećanja intraokularnog tlaka (IOT) kao nuspojave deksametazona određuju se: vrijeme potrebno za postizanje maksimalnog povećanja IOT (T_{max}), trajanje povećanja IOT (T_{IOT}), odnosno vremenski interval potreban za uspostavljanje bazičnih vrijednosti IOT prije ispitivanja, površina ispod krivulje (AUC) ovisnosti povećanja IOT (IOT%) o vremenu (t) i prividna konstanta eliminacije ($k_{el,app}$) koja se izračunava iz nagiba pravca log[IOT%]/t
➢ **mjerenjem radioaktivnosti**	• nakon primjene djelatne tvari obilježene radioaktivnim izotopom na površinu oka mjerenjem radioaktivnosti mogu se odrediti konstante brzine apsorpcije (K_a) djelatne tvari u tkiva oka, obim apsorpcije djelatne tvari u sistemsku cirkulaciju, raspodjela djelatne tvari intraokularno (npr. rožnica, leća, šarenica, zrakasto tijelo) i periokularno (npr. suzne žlijezde), maksimalne koncentracije djelatne tvari (C_{max}) u tkivima oka (npr. spojnica, rožnica), vrijeme potrebno za postizanje C_{max} (T_{max})

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Apsorpcija topikalno primijenjenih lijekova značajno je ograničena i regulirana barijerama prednjeg segmenta oka poput nazolakrimalne drenaže, refleksa treptanja i suzenja, čvrste barijere rožnice, proteina i metaboličkih enzima suzne tekućine, koji učinkovito odstranjuju topikalno primijenjene oftalmičke pripravke rezultirajući niskom bioraspoloživosti u oku. Za većinu terapijski značajnih oftalmičkih djelatnih tvari (male lipofilne molekule) apsorpcija preko rožnice glavni je put apsorpcije, dok su tkivne barijere spojnice i bjeloočnice značajnije za apsorpciju velikih hidrofilnih molekula (proteinski i peptidni lijekovi te nukleinske kiseline). Brzina i obim apsorpcije djelatne tvari nakon primjene na površinu oka iznimno su složeni procesi koji ovise o brojnim čimbenicima: fizičko-kemijskim (npr. pK_a, topljivost u suznoj tekućini, lipofilnost, veličina molekule, naboj), fiziološkim (dinamika suzne tekućine, nazolakrimalna drenaža, vrijeme zadržavanja na površini oka, stabilnost u suznoj tekućini, mehanizmi apsorpcije), čimbenicima povezanim s farmaceutskim oblikom lijeka (otopine, suspenzije, emulzije, masti, gelovi).

Generički lijek mora sadržavati istu djelatnu tvar u istoj dozi i farmaceutskom obliku koja se primjenjuje istim načinom primjene kao i referentni lijek. Bioraspoloživosti generičkog i referentnog lijeka moraju biti slične, odnosno mora se osigurati sličan profil ovisnosti koncentracije djelatne tvari u krvi o vremenu čime se postiže jednaki terapijski učinak.

Tijekom postupka davanja odobrenja za stavljanje generičkog oftalmika u promet, zahtjevi se ocijenjuju unutar konvencionalnog regulatornog okvira koristeći utvrđena načela analize koristi i rizika. Trenutno je izazov razviti i ocijeniti generičke oftalmike, posebno oftalmike koji su izrađeni u obliku oftalmičkih suspenzija i emulzija, a namijenjeni su za primjenu na površinu oka ili u donju konjunkitvalnu vrećicu. Bilo koja izmjena u postupku proizvodnje može rezultirati generičkim lijekom različitih fizičko-kemijskih svojstava (npr. veličina i raspodjela veličine čestica djelatne tvari u slučaju kapi za oko u obliku suspenzija ili veličina i raspodjela veličine kapljica disperzne faze u slučaju kapi za oko u obliku emulzija, površinski naboj disperzne faze, osmolalnost, pH vrijednost, viskoznost, disperzibilnost i svojstva površinske napetosti pripravka), koja mogu rezultirati različitim biofarmaceutskim svojstvima

(npr. zadržavanje pripravka na površini oka i/ili donjoj konjunktivalnoj vrećici, značajke permeacije djelatne tvari preko barijera prednjeg segmenta oka, podražavanje senzornih živčanih završetaka na površini oka zbog čega će se uslijed potaknutog suzenja i treptanja pripravak brže uklanjati s površine oka) generičkog oftalmičkog pripravka, a što će na kraju utjecati na bioraspoloživost djelatne tvari u oku i biti uzrok nebioekvivalencije s referentnim lijekom, odnosno imati značajan utjecaj na sigurnost primjene i djelotvornost generičkog oftalmika.

Sadašnji algoritmi za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku nakon topikalne oftalmičke primjene osnivaju se na određivanju karakterističnih sistemskih farmakokinetičkih parametara lijeka (T_{max}, C_{max}, AUC), a što najčešće ne odražava farmakokinetičku sudbinu lijeka u oku. Takvi algoritmi za procjenu bioraspoloživosti topikalnih oftalmičkih pripravaka preuzeti su iz standardnih smjernica za određivanje bioraspoloživosti lijekova namjenjenih postizanju sistemskog učinka, ali oni služe samo kao privremeno rješenje do razvoja i implementiranja primjerenih smjernica izrađenih specifično za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku. Sistemske farmakokinetičke parametre topikalnih oftalmičkih lijekova moguće je i dalje određivati i razmatrati, ali samo s ciljem ocjene sigurnosti primjene topikalnih oftalmičkih pripravaka u smislu sistemske izloženosti lijeku i mogućih nuspojava lijeka nakon topikalne oftalmičke primjene. U usporedbi s uzorkovanjem fizioloških tekućina (krv, urin) u svrhu ispitivanja bioraspoloživosti i provjere bioekvivalencije lijekova namijenjenih sistemskom učinku, uzorkovanje tekućina i tkiva oka u svrhu procjene bioraspoloživosti lijeka u oku vrlo je invazivno i složeno.

Cilj ovog specijalističkog rada je analizirati regulatorne smjernice Europske agencije za lijekove vezane za ispitivanje bioraspoloživosti i provjere bioekvivalencije koje su relevantne u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkog oftalmika u promet na području Europske unije.

3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

3.1. Postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet u Republici Hrvatskoj

Odobrenje za stavljanje lijeka u promet u Republici Hrvatskoj daje:

(i) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) putem nacionalnog postupka (NP) i zajedničkih europskih postupka davanja odobrenja: postupak međusobnog priznavanja (engl. *Mutual Recognition Procedure*, MRP) i decentralizirani postupak (engl. *Decentralized Procedure*, DCP). Postupak davanja odobrenja koji vodi HALMED propisan je Zakonom o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) i Pravilnikom o davanju odobrenja za stavljanje lijeka u promet (Narodne novine, br. 83/13.) koji su usklađeni s Direktivom 2001/83/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 6. studenoga 2001. godine.

(ii) Europska komisija putem centraliziranog postupka (CP) na temelju stručno znanstvene ocjene provedene od strane Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) sukladno odredbama Uredbe (EZ) 726/2004 Europskog parlamenta i Vijeća od 31. ožujka 2004. godine.

Uz zahtjev za davanje odobrenja dostavlja se dokumentacija u obliku Zajedničkog tehničkog dokumenta (engl. *Common Technical Document*, CTD) koji se sastoji od dijelova:

(i) Modul 1 sadrži administrativne podatke i informacije o lijeku;

(ii) Modul 2 uključuje sažetke dokumentacije o kakvoći lijeka, nekliničkim i kliničkim podacima;

(iii) Modul 3 sadrži podatke o kakvoći lijeka;

(iv) Modul 4 sadrži podatke o nekliničkim ispitivanjima;

(v) Modul 5 sadrži podatke o kliničkim ispitivanjima.

Sadržaj dokumentacije koji se prilaže uz zahtjev ovisi o skupini kojoj lijek pripada i odabranoj zakonskoj osnovi za davanje odobrenja (24).

Zahtjev za davanje odobrenja za stavljanje generičkih lijekova u promet podnosi se sukladno članku 29. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10(1) Direktive 2001/83/EZ, prema kojemu podnositelj zahtjeva nije obvezan priložiti rezultate nekliničkih (Modul 4) i kliničkih ispitivanja (Modul 5) nego je potrebno dokazati bioekvivalentnost s referentnim lijekom odgovarajućim ispitivanjima biološke raspoloživosti.

S obzirom na način primjene, postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet temelji se na zakonskoj osnovi prema članku 32. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10(3) Direktive 2001/83/EZ („hibrid“) koja zahtjeva dostavljanje rezultata odgovarajućih nekliničkih ili kliničkih ispitivanja (25, 26). Takvi zahtjevi oslanjaju se dijelom na rezultate nekliničkih i kliničkih ispitivanja referentnog lijeka, a dijelom na nove podatke. Opseg dodatnih ispitivanja ovisi o izmjenama u odnosu na referentni lijek (npr. nova jačina, novi način primjene, nova indikacija) te o stručno znanstvenoj procjeni nadležnog regulatornog tijela.

Dodatni neklinički i klinički podaci za hibridne generičke lijekove potrebni su u slučajevima:

(i) ako lijek ne odgovara u potpunosti definiciji generičkog lijeka;

(ii) kada se ispitivanjem bioraspoloživosti ne može dokazati bioekvivalentnost (npr. kada je novi lijek suprabioraspoloživ ili za lijekove koji se lokalno primjenjuju i djeluju lokalno);

(iii) u slučaju kada postoji razlika u djelatnoj tvari, terapijskim indikacijama, jačini, farmaceutskom obliku ili načinu primjene generičkog lijeka u odnosu na referentni lijek.

Generički lijek definiran je člankom 10(2)(b) Direktive 2001/83/EZ kao lijek:

(i) koji ima isti kvalitativni i kvantitativni sastav djelatnih tvari kao referentni lijek. Različite soli, esteri, eteri, izomeri, mješavine izomera, kompleksi ili derivati djelatne tvari smatraju se istom djelatnom tvari, osim ako se značajno razlikuju u sigurnosti primjene i/ili djelotvornosti što zahtjeva dostavljanje dodatnih podataka odnosno dokaza o sigurnosti primjene/djelotvornosti djelatne tvari. Ukoliko se takvim podacima

ne može utvrditi odsutnost značajnih razlika u sigurnosti primjene ili djelotovornosti potrebno je dostaviti dodatne rezultate nekliničkih i kliničkih ispitivanja sukladno članku 10(3) Direktive 2001/83/EZ (lijekovi „hibridi“).

(ii) koji ima isti farmaceutski oblik kao referentni lijek. Različiti oralni farmaceutski oblici s trenutnim oslobađanjem smatraju se istim farmaceutskim oblikom. Ispitivanja bioraspoloživosti ne moraju se provesti ukoliko se može dokazati da generički lijek zadovoljava zahtjeve prema smjernici za ispitivanje bioekvivalencije.

(iii) čija je bioekvivalentnost s referentnim lijekom dokazana odgovarajućim ispitivanjima bioraspoloživosti sukladno propisanoj smjernici za ispitivanje bioekvivalencije (26).

Tablica 2. Prikaz slučaja kada je potrebno dostaviti dodatnu nekliničku/kliničku dokumentaciju za zahtjeve podnesene prema članku 10 Direktive 2001/83/EZ ili proširenje odobrenja sukladno uputi o regulatornim postupcima za podnositelje zahtjeva izdan od strane Europske komisije (prilagođeno prema literaturnom navodu (26))

Razlike u odnosu na referentni lijek	**Dodatni neklinički/klinički podaci**
➢ različita sol/ester kompleksi/derivati djelatne tvari (s istim terapijskim svojstvima)	• dokaz da nema razlike u farmakokinetičkim svojstvima, farmakodinamici i/ili toksičnosti koje bi značajno utjecale na sigurnost primjene/djelotvornost (inače se djelatna tvar smatra novom djelatnom tvari)
➢ različit put primjene/farmaceutski oblik	• klinički podaci (sigurnost/djelotvornost), farmakokinetika, neklinička ispitivanja (npr. lokalna toksikološka ispitivanja), ukoliko je opravdano
➢ različita jačina, isti put primjene/farmaceutski oblik i doziranje	• ispitivanje bioraspoloživosti
➢ suprabioraspoloživi lijekovi	• ispitivanje bioraspoloživosti može biti dovoljno

➢ različit razmjer/doziranje djelatnih tvari ili ako je jedna ili više djelatnih tvari namijenjena za prilagođeno oslobađanje	• klinička ispitivanja s usporedbom postojećeg/novog razmjera/doziranja, uključujući ispitivanja bioraspoloživosti

Lijek odobren na temelju potpune dokumentacije o kakvoći, djelotvornosti i sigurnosti primjene lijeka, koji je odobren ili je bio odobren u državi članici Europske unije u skladu s Direktivom 2001/83/EZ (čl. 8(3), 10a, 10b ili 10c) ili sukladno odredbama Uredbe (EZ) broj 726/2004, može biti referentni lijek generičkom lijeku. Znači referentni lijek može biti odobren prema:

(i) članku 26. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) na temelju cjelovite dokumentacije što odgovara članku 8(3) Direktive 2001/83/EZ („full dossier“) (25, 26). Primjer: lijek Xalatan 50 mikrograma/ml kapi za oko, otopina (27).

(ii) članku 34. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10a Direktive 2001/83/EZ („well established use“), lijekovi provjerene medicinske uporabe za čije odobrenje nisu potrebna neklinička i klinička ispitivanja ako se može dokazati da djelatne tvari lijeka imaju provjerenu medicinsku uporabu u Europskoj uniji najmanje 10 godina, poznatu djelotvornost i prihvatljivu sigurnost primjene na temelju iscrpnih znanstvenih podataka iz literature (25, 26). Primjer: lijek Chloramphenicol Pharmathen 5 mg/ml kapi za oko, otopina odobren u DCP postupku UK/H/6007/001 (RH nije uključena u postupak) (28).

(iii) članku 35. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10b Direktive 2001/83/EZ („fixed combination“) kada lijek sadrži novu kombinaciju djelatnih tvari koje ranije u toj kombinaciji nisu bile korištene u terapijske svrhe, a pojedinačno su odobrene u sastavu lijekova odobrenih u Europskoj uniji (25, 26). Primjer: lijek Mydrane 0,2 mg/ml+3,1 mg/ml+10 mg/ml otopina za injekciju koji sadrži djelatne tvari tropikamid, fenilefrinklorid i lidokainklorid (29).

(iv) članku 36. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10c Direktive 2001/83/EZ („informed consent“) kada nositelj odobrenja može

drugom podnositelju zahtjeva dozvoliti korištenje farmaceutske, nekliničke i kliničke dokumentacije o lijeku na temelju koje mu je dano odobrenje za stavljanje lijeka u promet u svrhu podnošenja novih zahtjeva za davanje odobrenja za druge lijekove istoga kvalitativnog i kvantitativnog sastava djelatnih tvari i istoga farmaceutskog oblika (25, 26). Tako je odobren lijek Moxifloxacin Hexal 5 mg/ml kapi za oko, otopina u DCP postupku DE/H/3817/001/DC (RH nije uključena u postupak) gdje je nositelj odobrenja Alcon Pharma GmbH, Njemačka dozvolio podnositelju zahtjeva Hexal AG, Njemačka korištenje dokumentacije o lijeku za lijek Moxifloxacin Alcon 5 mg/ml kapi za oko, otopina (Vigamox) koji je odobren u DCP postupku DE/H/1588/001/DC (30).

Prilikom podnošenja zahtjeva za davanje odobrenja za generički/hibridni lijek u obrascu prijave za davanje odobrenja (Modul 1.2) potrebno je navesti sljedeće podatke o referentnom lijeku:

(i) Referentni lijek koji je odobren ili je bio odobren u Europskom gospodarskom prostoru (engl. *European Economic Area*, EEA) kojim se dokazuje da je isteklo vrijeme zaštite podataka. Takav referentni lijek može se razlikovati u jačini, farmaceutskom obliku, putu primjene, vrsti i veličini pakiranja u odnosu na generički/hibridni lijek.

(ii) Informacije o lijeku referentnog lijeka koji se koristi za izradu informacija o lijeku generičkog/hibridnog lijeka. Može se razlikovati u nazivu lijeka i može biti odobren različitim postupkom za davanje odobrenja od referentnog lijeka koji se koristi za računanje perioda zaštite podataka.

(iii) Referentni lijek koji se koristio za ispitivanje bioekvivalencije, ako je primjenjivo.

Referentni lijek mora biti iz istog globalnog odobrenja, koje uključuje inicijalno odobrenje lijeka i sve izmjene i proširenja odobrenja, svaku dodatnu jačinu, farmaceutski oblik, puteve primjene, vrste i veličine pakiranja koji mogu biti odobreni odvojenim postupcima i imati različiti naziv lijeka, a koji su dani nositelju odobrenja iz inicijalnog postupka. Period zaštite podataka računa se od vremena davanja prvog odobrenja u skladu s pravnom stečevinom Europske unije (31).

Nositelj odobrenja ne smije staviti u promet generički lijek deset godina od datuma prvog odobrenja za stavljanje referentnog lijeka u promet. Razdoblje od deset godina može se produžiti na najviše jedanaest godina ako je u prvih osam godina desetogodišnjeg razdoblja zaštite nositelju odobrenja referentnog lijeka odobrena jedna ili više novih terapijskih indikacija, a za koje je znanstveno ocijenjeno da će iste ostvariti značajnu kliničku korist u usporedbi s postojećom primjenom lijeka (25).

Tablica 3. Generički lijekovi za liječenje bolesti oka („hibridi“) odobreni u Republici Hrvatskoj (prilagođeno prema literaturnom navodu (32))

Djelatna tvar	Naziv lijeka	Proizvođač	ATK oznaka	Referentni lijek*
azelastinklorid (azelastinum)	Azelamed 0,5 mg/ml kapi za oko, otopina	mibe GmbH Arzneimittel, Njemačka	S01GX07 Dekongestivi i antialergici; ostali antialergici	Allergodil 0,5 mg/ml kapi za oko, otopina (Meda Pharma)
bimatoprost, timololmaleat (bimatoprostum, timololum)	Bimatoprost/Timolol Mylan 0,3 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	S.C. Rompharm Company S.R.L., Rumunjska	S01ED51 Antiglaukomski pripravci i miotici; beta-blokatori	Ganfort 0,3 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina (Allergan)
brimonidintartarat (brimonidinum)	Bimanox 2 mg/ml kapi za oko, otopina	Jadran-galenski laboratorij d.d., Hrvatska	S01EA05 Antiglaukomski pripravci i miotici; simpatomimetici za liječenje glaukoma	Alphagan 2 mg/ml kapi za oko, otopina (Allergan)
	Luxfen 2 mg/ml kapi za oko, otopina	Pharma Stulln GmbH, Njemačka; Sanitas AB, Litva		
dorzolamid (dorzolamidum)	Dorvis 20 mg/ml kapi za oko, otopina	Rafarm SA, Grčka	S01EC03 Antiglaukomski pripravci i miotici; inhibitori karboanhidraze	Trusopt 20 mg/ml kapi za oko, otopina (Merck Sharp & Dohme)
	Dorzol 20 mg/ml kapi za oko, otopina	Jadran-galenski laboratorij d.d., Hrvatska		
	Oftidor 20 mg/ml kapi za oko,	S.C. Rompharm Company S.R.L.,		

	otopina	Rumunjska		
dorzolamid, timololmaleat (dorzolamidum, timololum)	Dorvis plus 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Rafarm S.A., Grčka	S01ED51 Antiglaukomski pripravci i miotici; beta-blokatori	Cosopt 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina (Merck Sharp & Dohme)
	Glaumax 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Jadran-galenski laboratorij d.d., Hrvatska		
	Oftidorix 20 mg/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina	Famar S.A., Grčka; Pharmathen S.A., Grčka		
	Oftidorix PF 20 mg/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina	Excelvision, Francuska; Pharmathen S.A., Grčka		
latanoprost (latanoprostum)	Lapovis 50 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	Bruschettini s.r.l., Italija	S01EE01 Antiglaukomski pripravci i miotici; analozi prostaglandina	Xalatan 50 mikrograma/ml, kapi za oko, otopina (Pfizer)
	Latanox 50 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	Jadran-galenski laboratorij d.d., Hrvatska		
	Latapres 50 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	S.C. Rompharm Company S.R.L., Rumunjska		
	Unilat 50 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	Unimed Pharma spol. s.r.o., Slovačka		
latanoprost, timololmaleat (latanoprostum, timololum)	Lapovis plus 50 mikrograma/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Rafarm S.A., Grčka	S01ED51 Antiglaukomski pripravci i miotici; beta-blokatori	Xalacom 50 mikrograma/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina (Pfizer)
	Timlatan 50 mikrograma/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	S.C. Rompharm Company S.R.L., Rumunjska		
moksifloksacinklorid (moxifloxacinum)	Moksacin 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Jadran-galenski laboratorij d.d., Hrvatska	S01AX22 Antiinfektivi; ostali antiinfektivi	Vigamox 5 mg/ml kapi za oko, otopina (Alcon)

natrijev deksametazonfosfat (dexamethasonum)	Dexafluid 1,315 mg/ml kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	mibe GmbH Arzneimittel, Njemačka	S01BA01 Protuupalni pripravci; kortikosteroidi, čisti	Dexa-Sine SE 1,315 mg/ml kapi za oko, otopina (Alcon)
	Dexagel 0,985 mg/g gel za oko	Dr. Gerhard Mann, Chem.-pharm. Fabrik GmbH, Njemačka		Dexagel 0,985 mg/g kapi za oko (Dr. Gerhard Mann)
natrijev hidrokortizonfosfat (hydrocortisone sodium phosphate)	Softacort 3,35 mg/ml kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	Laboratoire Unither, Francuska; Laboratoires Thea, Francuska	S01BA02 Protuupalni pripravci; kortikosteroidi, čisti	Idracemi 0,335% kapi za oko, otopina (Laborathories Thea)
natrijev kromoglikat (sodium cromoglycate)	Alleofta 20 mg/ml kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	Laboratoire Unither, Francuska	S01GX01 Dekongestivi i antialergici; ostali antialergici	Opticrom Allergy 2,0% w/v kapi za oko, otopina (Aventis Pharma)
ofloksacin (ofloxacinum)	Uniflox 3 mg/ml kapi za oko, otopina	Unimed Pharma spol s.r.o., Slovačka	S01AE01 Antiinfektivi; fluorokinoloni	Exocin 0,3% w/v kapi za oko, otopina (Allergan)
timololmaleat (timololum)	Vizioblok 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Excelvision, Francuska; Pharmathen S.A., Grčka	S01ED01 Antiglaukomski pripravci i miotici; beta-blokatori	Timoptol Unit Dose 0,5% w/v kapi za oko, otopina (Merck Sharp & Dohme)
travoprost (travoprostum)	Bondulc 40 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	Balkanpharma-Razgrad AD, Bugarska; Pharmathen S.A., Grčka	S01EE04 Antiglaukomski pripravci i miotici; analozi prostaglandina	Travatan mikrograma/ml kapi za oko, otopina (Alcon)
	Travoprost Pliva 40 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	S.C. Rompharm Company S.R.L., Rumunjska; Merckle GmbH, Njemačka		

	Protravis 40 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	Rafarm S.A., Grčka		
travoprost, timololmaleat (travoprostum, timololum)	Travoprost/Timolol Mylan 40 mikrograma/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Balkanpharma-Razgrad AD, Bugarska; Pharmathen S.A., Grčka	S01ED51 Antiglaukomski pripravci i miotici; beta-blokatori	DuoTrav 40 mikrograma/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina (Alcon)

*Može biti iz bilo koje države članice Europske unije gdje je odobren ili je bio odobren.

3.2. Smjernice za ocjenu nekliničke i kliničke dokumentacije u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet

Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) je decentralizirana agencija Europske unije (EU), osnovana 1995. godine, koja je odgovorna za znanstvenu procjenu, nadzor i praćenje sigurnosti lijekova koje razvijaju farmaceutske tvrtke za uporabu u EU-u. EMA-ini znanstveni odbori pružaju nezavisne preporuke o lijekovima za humanu uporabu i veterinarsko-medicinskim proizvodima na temelju sveobuhvatne znanstvene procjene podataka. EMA podupire istraživanja i inovacije u farmaceutskom sektoru, ima ključnu ulogu u razvoju lijekova za potrebe bolesnika, daje znanstvene savjete, objavljuje jasne i nepristrane informacije o lijekovima, konstantno prati i nadzire sigurnost lijekova koji su odobreni u EU kako bi se osigurala veća korist lijeka od rizika. Povjerenstvo za humane lijekove (engl. *Committee for Medicinal Products for Human Use*, CHMP) pri EMA-i priprema znanstvene smjernice u suradnji s regulatornim tijelima u EU koje pomažu podnositeljima zahtjeva u pripremi zahtjeva za davanje, obnovu i izmjene odobrenja za stavljanje lijeka u promet, kako bi se osigurala kakvoća, sigurnost i djelotvornost lijeka (33).

3.2.1. Klinička ispitivanja lijekova koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno

Smjernica *Note for guidance on the clinical requirements for locally applied, locally acting products containing known constituents,* CPMP/EWP/239/95 (finalna verzija od studenog

1995. godine) definira zahtjeve za klinička ispitivanja za lijekove koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno, a imaju poznatu djelatnu tvar. Lijekovi koji djeluju lokalno su lijekovi koji se primjenjuju lokalno i pretpostavlja se da djeluju na mjestu primjene te se sistemska apsorpcija, ukoliko je ima, smatra neželjenim učinkom. To su npr. dermatološki lijekovi (kreme, masti), inhalacijski lijekovi kao što su prašci ili aerosoli za inhalaciju, kapi za oko, kapi za uho, lijekovi za nazalnu primjenu, ali također i lijekovi za oralnu, vaginalnu i rektalnu primjenu koji djeluju lokalno. Kod ovih lijekova razlike u formulaciji ili doziranju mogu utjecati na djelotvornost i/ili sigurnost primjene lijeka. Razlike se mogu pojaviti u slučaju promjene fizičko-kemijskih svojstava lijeka ili promjene u pomoćnim tvarima što može uzrokovati produljenu penetraciju djelatne tvari.

Lijekovi za lokalnu primjenu ne mogu se smatrati esencijalno sličnima. Međutim, obično nije potrebno dostaviti potpune toksikološke i kliničke podatke. Stoga se skraćeni zahtjevi za davanje odobrenja za lijekove koji djeluju lokalno smatraju hibridnim zahtjevima. Izostavljanje podataka mora biti obrazloženo u odgovarajućim dijelovima dokumentacije (Modul 1.5 Obrazloženje zahtjeva za davanje odobrenja u skladu sa zakonskom osnovom i Modul 2.5 Izvješće stručnjaka o kliničkoj dokumentaciji). Također u slučaju izmjene tipa II u dokumentaciji o lijeku mora biti dokazana terapijska ekvivalencija s referentnim lijekom.

Kao i u slučaju kod lijekova koji se sistemski apsorbiraju, i kod lijekova koji djeluju lokalno potrebno je dokazati da je ispitivani lijek terapijski ekvivalentan referentnom lijeku, odnosno da su lijekovi ekvivalentni u smislu djelotvornosti i sigurnosti. Da bi se dokazala terapijska ekvivalencija s referentnim lijekom potrebno je provesti klinička ispitivanja, odnosno ispitivanja s kliničkim ishodom (djelotvornost) uz evaluaciju sigurnosti. Umjesto kliničkih ispitivanja moguće je koristiti druga adekvatno validirana ispitivanja. To mogu biti humana farmakodinamička ispitivanja, ispitivanja lokalne raspoloživosti, ispitivanja na životinjama ili *in vitro* ispitivanja.

Za lijekove koji se primjenjuju lokalno ispitivanja bioekvivalencije mjerenjem koncentracija u plazmi nisu primjenjiva te se ispitivanjem bioekvivalencije ne može dokazati terapijska ekvivalentnost, ali se podaci mogu koristiti kod ocjene sigurnosti primjene. Općenito

sigurnost primjene i lokalna tolerancija mogu biti zajamčeni poznatim svojstvima djelatne tvari i izborom poznatih pomoćnih tvari, iako je za neke kombinacije poznatih djelatnih i pomoćnih tvari ipak potrebno provesti određena dodatna ispitivanja na životinjama i ljudima. U slučaju da je količina djelatne tvari ispitivanog lijeka koja dolazi do mjesta djelovanja i/ili u sistemsku cirkulaciju veća od količine djelatne tvari referentnog lijeka potrebno je dostaviti odgovarajuće podatke o toksikološkim ispitivanjima i podatke o ispitivanju sigurnosti primjene na ljudima. Moguće je izostaviti takve podatke uz odgovarajuće obrazloženje. Ukoliko se pomoćne tvari prvi put koriste u formulaciji, trebaju se dostaviti odgovarajući toksikološki podaci, farmakološki podaci i podaci o sigurnosti primjene u ljudi, da bi se dokazalo da pomoćna tvar nema djelovanja, da je sigurna i ne ulazi u interakcije s djelatnom tvari. U slučaju da se radi o izmjeni u formulaciji koja ne zahtjeva podnošenje novog zahtjeva za davanje odobrenja za stavljanje lijeka u promet, već se podnosi zahtjev za izmjenu tipa II, također je potrebno dokazati terapijsku ekvivalenciju uključujući ispitivanja lokalne tolerancije. U slučaju manjih izmjena potrebno je dostaviti obrazloženje o nedostavljanju takvih podataka. Ako se radi o poznatoj djelatnoj tvari koja se ranije nije primjenjivala lokalno potrebno je dostaviti cjelovitu dokumentaciju, odnosno odgovarajuća vezna ispitivanja (34).

Tablica 4. Klinička dokumentacija koju je potrebno dostaviti za lijekove koji se lokalno primjenjuju i lokalno djeluju u slučaju podnošenja hibridnog generičkog zahtjeva (prilagođeno prema literaturnom navodu (34)).

➢ Različita indikacija	• Potrebno je dostaviti odgovarajuća klinička ispitivanja. • Moguće se pozvati na dokumentaciju referentnog lijeka, ali određena ispitivanja moraju biti provedena.
➢ Razlika u režimu doziranja	
➢ Različita jačina, a režim doziranja je isti	• Ako je moguće potrebno je dostaviti farmakodinamička ispitivanja ili ispitivanja lokalne raspoloživosti; moguća *in vitro* ispitivanja (npr. kapi za
➢ Generički lijek	

	oko) ili obrazloženje o nedostavljanju podataka u slučaju manjih razlika. Inače je potrebno dostaviti klinička ispitivanja. • Svako sigurnosno pitanje mora biti odgovarajuće riješeno.
➢ Razlika u formulaciji (npr. krema vs. mast; aerosol vs. prašak za inhalaciju)	• Potrebno je dostaviti klinička ispitivanja koja dokazuju djelotvornost/sigurnost primjene i/ili ako je moguće farmakodinamička ispitivanja. • Ako je potrebno, dostaviti ispitivanja apsorpcije, penetracije i lokalne tolerancije. • Moguće se pozvati na dokumentaciju referentnog lijeka, ali određena ispitivanja moraju biti provedena.

Kao dopuna smjernici za klinička ispitivanja za lijekove koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno s poznatom djelatnom tvari, 23. ožujka 2017. godine objavljena je radna verzija smjernice za dokazivanje terapijske ekvivalentnosti lijekova koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno u probavnom sustavu *Guideline on equivalence studies for the demonstration of terapeutic equivalence for products that are locally applied, locally acting in the gastrointestinal tract as addendum to the guideline on the clinical requirements for locally applied, locally acting products containing known constituents,* CPMP/EWP/239/95 Rev. 1. Navedenom smjernicom definirani su zahtjevi za zamjenu provođenja kliničkih ispitivanja alternativnim metodama u dokazivanju terapijske ekvivalencije lijekova koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno u probavnom sustavu te su definirani zahtjevi za *in vivo* ispitivanja bioekvivalencije i *in vitro* ispitivanja ekvivalencije. S vremenom se pokazalo da alternativni modeli (uključujući *in vitro* i *in vivo* metode) imaju veću osjetljivost od tradicionalnih kliničkih i farmakodinamičkih parametara za detektiranje mogućih razlika među lijekovima s istom

djelatnom tvari. S nekim od njih, samostalno ili u kombinaciji, moguća je direktna ili indirektna usporedba koncentracija na mjestu djelovanja. Terapijska ekvivalencija lijekova koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno u probavnom sustavu može se dokazati uz korištenje takvih alternativnih modela, pod uvjetom da mogu točno pokazati *in vivo* oslobađanje djelatne tvari i njenu raspoloživost na mjestu terapijskog učinka. Stoga u takvim slučajevima *in vitro* ispitivanja ekvivalencije ili farmakokintetička ispitivanja mogu zamijeniti klinička ispitivanja (35).

3.2.2. Bioekvivalencija

Smjernicom *Guideline on the investigation of bioequivalence*, CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr** od 20. siječnja 2010. godine definirani su zahtjevi za ispitivanje bioekvivalencije za farmaceutske oblike lijekova s trenutnim oslobađanjem koji imaju sustavno djelovanje, ali također su postavljeni i kriteriji za slučajeve kada nije potrebno provesti ispitivanja bioraspoloživosti, kao za npr. za neke lijekove koji se primjenjuju lokalno i djeluju lokalno.

Bioekvivalencija postoji u slučajevima u kojima su dva lijeka farmaceutski ekvivalenti ili farmaceutske alternative i njihova bioraspoloživost (brzina i obim apsorpcije) nakon primjene u istom molarnom iznosu je slična do tog stupnja da će njihov učinak, uzimajući u obzir djelotvornost i neškodljivost biti isti. Bioraspoloživost, odnosno brzina i obim apsorpcije djelatne tvari iz farmaceutskog oblika, definirana je krivuljom odnosa koncentracije i vremena u sistemskoj cirkulaciji ili izlučivanjem u urinu.

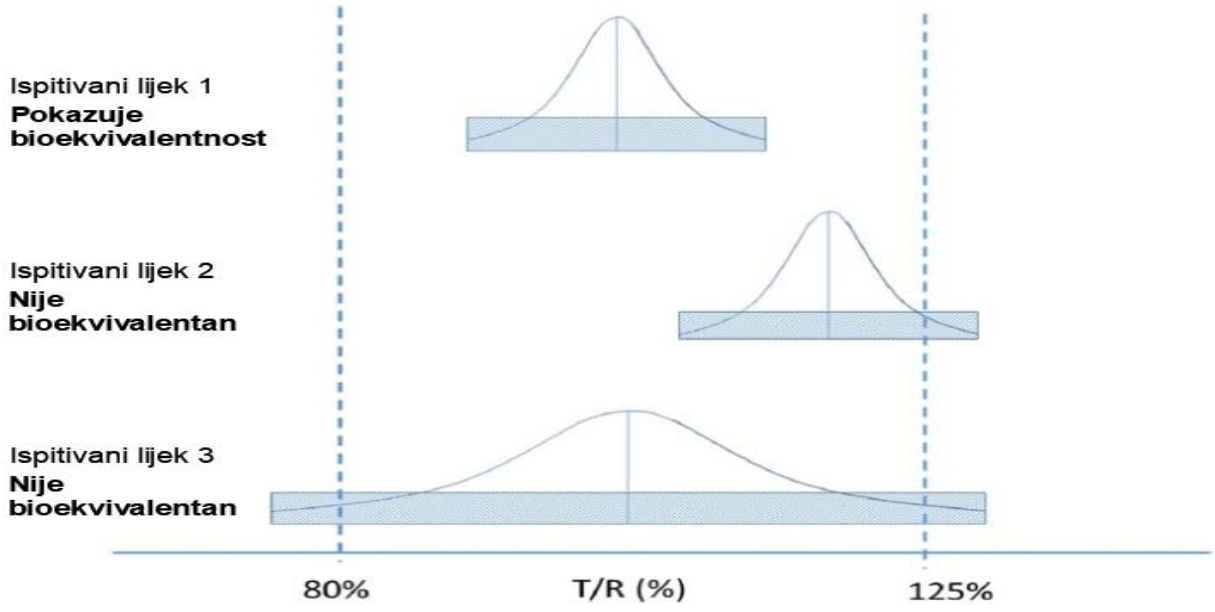
U ispitivanju bioekvivalencije određuju se karakteristični sistemski farmakokinetički parametri:

(i) površina ispod krivulje ovisnosti koncentracije lijeka u plazmi (AUC) kojom se izražava ukupna količina lijeka koja je s mjesta apsorpcije ušla u sistemsku cirkulaciju, odnosno obim apsorpcije lijeka;

(ii) vršna koncentracija lijeka u plazmi (C_{max}) na koju utječe brzina apsorpcije lijeka;

(iii) vrijeme postizanja vršne koncentracije lijeka u plazmi (t_{max}) koje može poslužiti kao približni pokazatelj brzine apsorpcije lijeka.

Bioekvivalentnost ispitivanog i referentnog lijeka je dokazana ako se raspon 90%-tnog intervala pouzdanosti omjera farmakokintetičkih parametara (AUC i C_{max}) ispitivanog i referentnog lijeka nalazi unutar intervala od 80.00-125.00%. Kod lijekova uske terapijske širine interval je sužen na 90.00-110.00%. Kod izrazito varijabilnih lijekova, ukoliko varijabilnost C_{max} nije klinički značajna, granice prihvatljivosti rezultata se proširuju za C_{max} na 69.84-143.19%, a za AUC ostaju unutar intervala 80.00-125.00% (36).



Slika 3. Primjer rezultata ispitivanja bioekvivalencije: 90%-tni interval pouzdanosti omjera farmakokintetičkih parametara AUC ili C_{max} ispitivanog i referentnog lijeka nalazi se unutar propisanih granica za dokazivanje bioekvivalencije samo za ispitivani lijek pod brojem 1 (prilagođeno prema literaturnom navodu (37)).

Broj potrebnih ispitivanja bioekvivalencije koje je potrebno provesti i dizajn ispitivanja ovise o fizičko-kemijskim svojstvima djelatne tvari, farmakokinetičkim svojstvima te omjeru djelatne tvari i pomoćnih tvari u sastavu lijeka. Sva relevantna ispitivanja trebaju biti sadržana u Modulu 2.7. Ispitivanje bioekvivalencije treba biti dizajnirano na način da se učinak formulacije može odijeliti od drugih učinaka (znači na zdravim dobrovoljcima). Standardno ispitivanje je ukriženi dizajn ispitivanja, gdje svaki ispitanik prima ispitivani lijek i referentni lijek. Ispitivanja su odijeljena periodom od najmanje 5 vremena poluеliminacije ($t_{1/2}$, vrijeme koje je potrebno da se koncentracija lijeka u plazmi smanji za 50%), koje je potrebno da se većina lijeka eliminira iz organizma. Alternativni dizajni ispitivanja provode se za npr. lijekove s dugim $t_{1/2}$ (paralelni dizajn) i jako varijabilnim farmakokinetičkim svojstvima (replikativni dizajn).

Izbor referentnog lijeka koji se koristi u ispitivanju bioekvivalencije ovisi o rezultatima određivanja sadržaja djelatne tvari i ispitivanja oslobađanja djelatne tvari iz lijeka. Sadržaj djelatne tvari ispitivanog lijeka ne bi se trebao razlikovati više od 5% od referentnog lijeka. Ispitivani lijek bi trebao biti proizveden iz serije lijeka koja je najmanje veličine 1/10 proizvodne serije lijeka ili 100 000 jedinica (npr. tableta), ovisno koja je serija veća. Potrebno je dodatne uzorke lijeka iz pilot i/ili proizvodne serije usporediti sa serijom lijeka iz provedenog ispitivanja bioekvivalencije te pokazati sličnost profila oslobađanja djelatne tvari iz lijeka. Usporedni profili oslobađanja djelatne tvari iz lijeka određuju se za prve tri proizvodne serije lijeka, kako bi se pokazala ujednačenost oslobađanja između pojedinih proizvodnih serija lijeka.

Profili oslobađanja uspoređuju se upotrebom faktora sličnosti (f_2). Ukoliko se 85% lijeka oslobodi u 15 minuta, profili oslobađanja smatraju se sličnima bez daljnje matematičke evaluacije. U slučaju da se više od 85% lijeka oslobodi u 30 minuta, uzimaju se tri točke: prva prije 15 minuta, druga kod 15 minuta i treća kad je količina oslobođenog lijeka blizu 85%. Kada je izračunata vrijednost f_2 između 50 i 100, profili oslobađanja smatraju se sličnima (36).

Kako bi se osigurala prikladnost ispitivanja oslobađanja djelatne tvari iz lijeka, EMA je objavila preporuku za zahtjev kakvoće i razvoj metode za ispitivanje oslobađanja djelatne tvari *Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action*, EMA/CHMP/CVMP/QWP/336031/2017, od 10. kolovoza 2017. godine (38).

Broj ispitanika uključenih u ispitivanje bioekvivalencije ne bi trebao biti manji od 12. Ispitivanja se provode uglavnom na zdravim dobrovoljcima, osim kad su u pitanju sigurnosni razlozi radi kojih se to smatra neetičnim, npr. u ispitivanju lijeka s djelatnom tvari za koju su poznate nuspojave. Podaci iz ovih ispitivanja mogu se ekstrapolirati i na populaciju ljudi za koju je referentni lijek odobren, npr. starija populacija, djeca, bolesnici s bubrežnim ili jetrenim oštećenjima. Kriteriji uključivanja/isključivanja ispitanika moraju biti točno naznačeni u protokolu. Trebaju se uzeti u obzir dob, spol i težina ispitanika. Ispitanici ne smiju biti mlađi od 18 godina, trebaju imati indeks tjelesne mase između 18.5 i 30 kg/m^2, treba se uzeti u obzir moguća trudnoća žena. Preferiraju se nepušači, ispitanici bez ovisnosti o alkoholu ili drogama u povijesti bolesti. Uvjeti ispitivanja moraju se standardizirati kako bi se minimizirala varijabilnost svih čimbenika osim onih ispitivanih. Stoga se preporučuje standardiziranje unosa hrane, tekućine i fizičke aktivnosti. U slučaju provođenja ispitivanja u stanju gladovanja, ispitanici ne smiju ništa jesti najmanje 8 sati prije primjene lijeka koji se uzima s najmanje 150 ml tekućine. Sat vremena nakon primjene lijeka može se popiti voda, a jesti se smije tek 4 sata nakon primjene lijeka. U slučaju provođenja ispitivanja u stanju sitosti, vrijeme primjene lijeka u odnosu na vrijeme unosa hrane određuje se prema odobrenim informacijama o lijeku referentnog lijeka (sažetak opisa svojstava lijeka). Ako takvi podaci nisu dostupni, preporučuje se unos hrane tijekom 30 minuta prije primjene lijeka. Potrebno je prikupiti dovoljan broj uzoraka krvi za dobivanje što preciznijeg profila ovisnosti koncentracije lijeka u plazmi o vremenu.

U dokazivanju bioekvivalencije koriste se računalne statističke analize podataka (ANOVA), koje su dio dokumentacije o lijeku i dostavljaju se regulatornom tijelu.

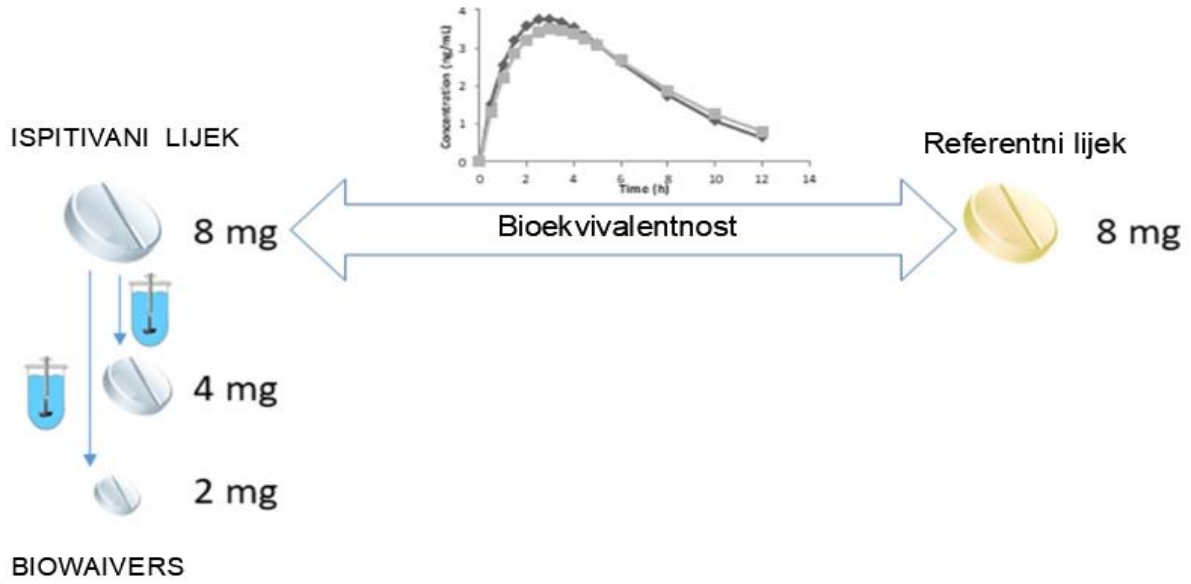
Dokumentacija koju je potrebno dostaviti regulatornom tijelu, odnosno Modul 5 treba sadržavati izvješće o provedenom ispitivanju bioekvivalencije koje treba uključivati protokol, provedbu i evaluaciju ispitivanja te certifikate analize referentnog i ispitivanog lijeka, izjavu da ispitivani lijek ima isti kvantitativni sastav i da je proizveden prema istom proizvodnom postupku koji je opisan u dokumentaciji o lijeku, očitovanje da li je serija ispitivanog lijeka uvećana za proizvodnju, usporedne profile oslobađanja djelatne tvari iz lijeka, izvješće o validaciji bioanalitičke metode (36).

Sažeci svih relevantnih podataka o biofarmaceutskim ispitivanjima i pripadajućim analitičkim metodama trebaju biti sadržani u Modulu 2.7. dokumentacije o lijeku. Kako bi se olakšala priprema takvih podataka, EMA je objavila Dodatak IV smjernice o bioekvivalenciji kao zaseban dokument koji sadrži predloške za izradu tablica koje su dio Modula 2.7.1.: *Appendix IV of the Guideline on the Investigation on Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1): Presentation of Biopharmaceutical and Bioanalytical Data in Module 2.7.1.*, EMA/CHMP/600958/2010/Corr.*, 17. studenoga 2011. godine (39).

EMA objavljuje smjernice za provođenje ispitivanja bioekvivalencije za pojedinačne lijekove s trenutnim oslobađanjem za oralnu primjenu na temelju ranije ocjene generičkih lijekova što pomaže podnositeljima zahtjeva u pripremi dokumentacije za postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih lijekova u promet u EU prema bilo kojem postupku CP, DCP, MRP ili NP (40).

3.2.3. Izuzeća od ispitivanja bioekvivalencije

U određenim uvjetima utvrđivanjem sličnosti uspoređenih profila oslobađanja djelatne tvari iz lijeka može se potvrditi bioekvivalencija bez provođenja *in vivo* ispitivanja, npr. kod drugih jačina istog lijeka (engl. *biowaiver of strenghts*) (36).



Slika 4. Primjer za *biowaiver* dodatnih jačina generičkog lijeka: ispitivanje bioekvivalencije provedeno je između generičkog lijeka jačine 8 mg i referentnog lijeka jačine 8 mg, dok je za dodatne jačine od 4 mg i 2 mg generičkog lijeka zatraženo izuzeće od provođenja ispitivanja bioekvivalencije sukladno smjernici o bioekvivalenciji (*biowaiver*) (prilagođeno prema literaturnom navodu (41)).

Izuzeće od provođenja ispitivanja bioekvivalencije *in vivo* moguće je za lijekove koji sadrže djelatne tvari razvrstane prema biofarmaceutskom sustavu klasifikacije djelatnih tvari (engl. *Biopharmaceutics Classification System,* BCS):

(i) BCS klase I, dobro topljive i dobro permeabilne djelatne tvari. 85% djelatne tvari iz lijeka oslobodi se unutar 15 ili 30 minuta. Lijek treba imati jednaku količinu i sastav pomoćnih tvari koje mogu utjecati na bioraspoloživost lijeka.

(ii) BCS klase III, dobro topljive i slabo permeabilne djelatne tvari. Izuzeće je moguće ako se više od 85% lijeka oslobodi unutar 15 minuta, ako lijek ima jednaku količinu i

sastav pomoćnih tvari koje mogu utjecati na bioraspoloživost lijeka te ostale pomoćne tvari moraju biti jednake, a njihove količine slične.

Izuzeće na temelju BCS klasifikacije (engl. *BCS-based biowaiver*) moguće je samo za lijekove s trenutnim oslobađanjem za oralnu primjenu koji imaju sistemski učinak. Koncept ovakvog izuzeća nije primjenjiv ako djelatna tvar ima različit ester, eter, izomer, mješavinu izomera, kompleks ili derivat radi mogućeg utjecaja na bioraspoloživost. Ako djelatna tvar ima različitu sol, izuzeće je prihvatljivo ukoliko se radi o djelatnoj tvari BCS klase I (36).

U svrhu harmonizacije trenutno važećih regionalnih smjernica za izuzeće temeljem BCS klasifikacije u tijeku je razvoj nove smjernice *M9: Guideline in development on Biopharmaceutics Classification System (BCS)-based Biowaivers* koji se provodi od strane Međunarodnog vijeća za harmonizaciju (engl. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, skraćeno *International Council for Harmonisation,* ICH) (42). ICH je projekt koji usklađuje regulatorna tijela Europe, Japana i Sjedinjenih Američkih Država (SAD) te predstavnike proizvođača lijekova tih regija u tumačenju i provedbi tehničkih smjernica i zahtjeva za stavljanje u promet lijekova u smislu smanjivanja ili uklanjanja potrebe za ponavljanjem testiranja provedenih tijekom istraživanja i razvoja novog lijeka (43).

U Dodatku II smjernice za bioekvivalenciju navedene su preporuke za izuzeće od provođenja ispitivanja bioekvivalencije za druge farmaceutske oblike. Izuzeće za dostavljanje podataka o ekvivalenciji može biti prihvatljivo ako se radi o otopinama kao što su kapi za oko, sprejevi za nos ili otopine za kožu, ako je ispitivani lijek ista vrsta otopine (vodena ili uljna) i sadržava istu djelatnu tvar u istoj koncentraciji kao i referentni lijek. Male razlike u sastavu pomoćnih tvari mogu biti prihvatljive, ako su farmaceutske osobine ispitivanog i referentnog lijeka iste ili esencijalno slične. Bilo koja kvalitativa ili kvantitativna razlika u pomoćnim tvarima mora biti zadovoljavajuće obrazložena u smislu utjecaja na terapijsku ekvivalenciju. Način primjene ispitivanog i referentnog lijeka također mora biti jednak, ukoliko nije drugačije opravdano. U

slučaju sistemske izloženosti lijeku i mogućih nuspojava lijeka nakon topikalne oftalmičke primjene, potrebno je dokazati da sistemska izloženost nije veća u odnosu na sistemsku izloženost referentnog lijeka, odnosno da gornja granica 90%-tnog intervala pouzdanosti nije veća od gornje granice prihvatljivosti 125.00.

Provjera bioekvivalencije nije potrebna i u sljedećim slučajevima:

(i) ako je ispitivani lijek vodena oralna otopina u vremenu primjene lijeka i sadrži istu koncentraciju djelatne tvari kao i referentni lijek. Pomoćne tvari ne smiju imati utjecaj na vrijeme zadržavanja u probavnom sustavu, asporpciju djelatne tvari, *in vivo* topljivost ili *in vivo* stabilnost djelatne tvari. U slučaju da je ispitivani lijek oralna otopina, a referentni lijek drugog oralnog farmaceutskog oblika s trenutnim oslobađanjem, potrebno je provesti ispitivanje bioekvivalencije.

(ii) ako je ispitivani lijek vodena otopina namjenjena za intravensku primjenu i sadrži istu djelatnu tvar kao referentni lijek. Pomoćne tvari ne smiju ulaziti u interakcije s djelatnom tvari (npr. tvoriti komplekse). Ako se iste pomoćne tvari razlikuju u količini, potrebno je dokazati da razlika ne utječe na farmakokintetička svojstva djelatne tvari.

(iii) u slučaju drugih lijekova za parenteralnu primjenu, npr. za intramuskularnu ili supkutanu primjenu, ako je lijek ista vrsta otopine (vodena ili uljna) i sadrži istu koncentraciju iste djelatne tvari i iste pomoćne tvari sličnih količina kao referentni lijek. Ispitivanje bioekvivalencije nije potrebno i u slučaju ako vodene parenteralne otopine sadrže usporedive pomoćne tvari u sličnim količinama ukoliko se može dokazati da pomoćne tvari ne utječu na viskoznost.

(iv) kod nekih lijekova u obliku emulzija za intravensku primjenu, zatim ako se radi o lipidima za parenteralnu prehranu i kod nekih micelarnih otopina za intravensku primjenu.

(v) ako se radi o medicinskom plinu za inhaliranje (36).

3.2.4. *In vitro-in vivo* korelacija

In vitro-in vivo korelacija (engl. *In Vitro-In Vivo Correlation*, IVIVC) je matematički model koji opisuje odnos između *in vitro* svojstva lijeka (brzina oslobađanja lijeka ili količina oslobođenog lijeka) i relevantnog *in vivo* učinka (koncentracija lijeka u plazmi ili količina apsorbiranog lijeka). Prema navedenom, očigledno je da takav odnos postoji kod formulacija s kontroliranim pojavljivanjem lijeka u plazmi. Prema smjernici *Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modifies release dosage forms,* EMA/CPMP/EWP/280/96 Corr1, od 20. studenoga 2014. godine, primjena IVIVC preporučuje se u razvoju lijekova s prilagođenim oslobađanjem: (i) za kvantificiranje oslobađanja lijeka *in vivo* i učinka formulacije na apsorpciju; (ii) za uspostavljanje *in vivo* relevantnosti ispitivanja *in vitro* i zahtjeva kakvoće za oslobađanje djelatne tvari iz lijeka; (iii) kao potpora izuzeću od provođenja ispitivanja bioekvivalencije (*biowaiver*) u kasnijim fazama kliničkog razvoja ili nakon postupka odobravanja ukoliko dođe do izmjena formulacije lijeka. IVIVC je kategorizirana po stupnjevima (A, B i C), od kojih je samo stupanj A preduvjet za bio*waiver* (44).

In vitro ispitivanje oslobađanja nije nužno samo kako bi se osigurala ujednačenost u kakvoći među proizvodnim serijama lijeka, nego je važno i za dokazivanje ujednačenosti unutar serije. Uspostavom korelacije između svojstava *in vitro* oslobađanja i *in vivo* parametara bioraspoloživosti, ispitivanje *in vitro* oslobađanja može poslužiti kao zamjena *in vivo* ispitivanja i time potvrditi odgovarajući terapijski učinak proizvodnih serija. Uspostava stupnja A IVIVC može smanjiti broj *in vivo* ispitivanja za vrijeme razvoja lijeka, korisna je u postavljanju zahtjeva kakvoće za lijek i olakšava donošenje određenih regulatornih odluka kao što su uvećanje mjerila proizvodnje (engl. *scale-up*) i izmjene odobrenja. Za *in vitro in vivo* usporedbu mogu se koristiti alternativni modeli kao što je fiziološki farmakokinetički model (engl. *physiologically based pharmacokinetic model*, PBPK). IVIVC ne može zamijeniti ispitivanje bioekvivalencije između lijekova različitih nositelja odobrenja samo na temelju *in vitro* ispitivanja (45).

Tablica 5. Primjena *in vitro-in vivo* korelacije (IVIVC) pomoću sustava biofarmaceutske klasifikacije lijekova (BCS) u razvoju ispitivanog lijeka (prilagođeno prema literaturnom navodu (46)).

BCS Klasa	IVIVC
➢ **I:** dobra topljivost, dobra permeabilnost	• može se primijeniti IVIVC jer nema ograničenja za apsorpciju lijeka • brzina pražnjenja želuca može biti ograničavajući čimbenik
➢ **II:** slaba topljivost, dobra permeabilnost	• IVIVC je očekivana • brzina oslobađanja je ograničavajući čimbenik apsorpcije lijeka
➢ **III:** dobra topljivost, slaba permeabilnost	• IVIVC je neočekivana, ali i moguća ovisno o brzini oslobađanja i apsorpciji kroz crijeva
➢ **IV:** slaba topljivost, slaba permeabilnost	• IVIVC je vrlo neočekivana

Prema literaturnom navodu Shen, 2015 (47) u slučaju lijekova koji se ne primjenjuju oralnim putem npr. transdermalni ili oftalmički lijekovi, *in vitro* svojstvo može biti permeacija lijeka kroz membranu, a *in vivo* svojstvo može biti *in vivo* permeacija lijeka. Primjena IVIVC u razvoju oftalmičkih lijekova predstavlja izazov s obzirom na specifičnu anatomiju i fiziologiju oka. Dodatno, različite bolesti oka često zahtjevaju različite načine primjene u oko, što dodatno otežava uspostavljanje IVIVC. Tako da je neophodno razviti prikladne *in vitro* metode oslobađanja lijeka i IVIVC za različite farmaceutske oblike ovisno o načinu primjene lijeka u oko, što je za sada jako novo područje istraživanja. U zadnje vrijeme razvijaju se *in vitro* metode za različite oftalmičke farmaceutske oblike kao što su intravitrealni implantati, topikalne oftalmičke emulzije, suspenzije i polučvrsti oblici. Uspostavu IVIVC otežava i manjak pouzdanih analitičkih postupaka za praćenje ponašanja lijeka *in vivo*. *In vivo* oslobađanje lijeka može se odrediti analizom sadržaja lijeka u plazmi ili krvnim tekućinama (npr. očna vodica), koje zahtjevaju često uzorkovanje, kompliciran postupak (ekstrakcija lijeka iz biološkog uzorka), visoku osjetljivost analitičkih instrumenata te opsežna ispitivanja

na životinjama i ljudima. Nova dostignuća u biomedicinskom inženjerstvu omogućuju relativno jednostavno i točnije praćenje ponašanja lijeka *in vivo*, npr. korištenje mikrodijalize u praćenju koncentracije lijeka u tkivu i tekućinama oka, što može olakšati razvoj IVIVC oftalmičkih lijekova (47).

3.2.5. Farmaceutska ekvivalencija topikalnih pripravaka

Farmaceutski ekvivalenti su lijekovi koji sadrže isti iznos iste djelatne tvari u istom farmaceutskom obliku koji odgovaraju istim ili usporedivim standardima. Farmaceutska ekvivalencija ne znači nužno bioekvivalenciju jer razlike u pomoćnim tvarima i/ili postupku proizvodnje mogu voditi bržem ili sporijem oslobađanju djelatne tvari odnosno bržoj ili sporijoj apsorpciji (36).

EMA je objavila 26. veljače 2015. godine preporuke za razvoj smjernice za kakvoću i ekvivalenciju topikalnih lijekova *Concept paper on the development of a guideline on quality and equivalence of topical products*, EMA/CHMP/QWP/558185/2014. Topikalnim lijekovima obično se smatraju lijekovi za kožu, iako su to lijekovi koji se primjenjuju na različitim vanjskim površinama tijela koje su fiziološka barijera apsorpciji lijeka, npr. oko i uho. Smjernica bi trebala biti usmjerena na lijekove za dermalnu primjenu, ali i za lijekove drugih puteva primjene. Koncept farmaceutske ekvivalencije topikalnih lijekova obuhvaća kvalitativnu i kvantitativnu ekvivalenciju formulacije uz alternativne *in vitro* i *in vivo* modele i metode za dokazivanje terapijske ekvivalencije s referentnim lijekom umjesto ispitivanja na pacijentima, fizička svojstva i mikrostrukturu, primjenu lijeka i *in vitro* oslobađanje lijeka.

Manja izmjena u formulaciji topikalnih lijekova, doziranja, načina primjene ili proizvodnog postupka može značajno utjecati na djelotvornost i/ili sigurnost te stoga na dokazivanje terapijske ekvivalencije. Za većinu topikalnih lijekova, dokazivanje farmaceutske ekvivalencije nije dovoljno da bi se dokazala terapijska ekvivalencija, osim u slučajevima otopina npr. kapi za oko, spreja za nos ili otopine za kožu. Za druge farmaceutske oblike

izuzeće je moguće u slučaju ispitivanja farmaceutske ekvivalencije uz dodatna ispitivanja ekvivalencije koje uključuju prikladne *in vitro* i *in vivo* modele i metode, a koje će biti opisane smjernicom za kakvoću i ekvivalenciju topikalnih lijekova (48).

3.2.6. Smjernice za neklinička ispitivanja oftalmika

Neklinička ispitivanja lokalne podnošljivosti potpora su inicijalnim ispitivanjima lijeka u kliničkom razvoju. Smjernicom za neklinička ispitivanja lokalne podnošljivosti lijekova *Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products*, EMA/CHMP/SWP/2145/2000 Rev. 1, Corr. 1*, od 22. listopada 2015. godine objavljene su preporuke za razvoj i evaluaciju lijekova koji dolaze u kontakt s različitim mjestima ljudskog tijela radi uobičajene kliničke uporabe lijeka ili bi mogli doći u kontakt nakon nenamjerne primjene lijeka. S ciljem smanjenja broja životinja uključenih u ispitivanja, ispitivanja lokalne podnošljivosti trebala bi biti dio drugih toksikoloških ispitivanja, odnosno ne preporučuju se samostalna ispitivanja (engl. *stand-alone*). Prije provođena nekliničkih ispitivanja preporučuje se pristup 3R ispitivanja (engl. *Replacement, Reduction and Refinement*) s ciljem da se zamijene ispitivanja na životinjama drugim odgovarajućim metodama.

Kada se koriste *in vitro* ispitivanja, trebaju se uzeti u obzir internacionalne validirane i regulatorno prihvaćene metode propisane od strane Organizacije za gospodarsku suradnju i razvoj (engl. *Organisation for Economic Co-operation and Development*, OECD), kao i internacionalne validirane metode koje još nisu uključene u OECD smjernice. Također se mogu uzeti u obzir i *in vitro* metode koje nisu internacionalno validirane, ako je to znanstveno opravdano što ovisi o slučaju. *In vitro* metode za ispitivanje iritacije oka (npr. OECD TG 438) ne mogu u potpunosti zamijeniti *in vivo* ispitivanja. Rezultatima dobivenim iz prikladne *in vitro* metode koja ukazuje na potencijal iritacije može se izbjeći daljnje ispitivanje u provođenju samostalnog *in vivo* ispitivanja lokalne podnošljivosti.

Smjernicom za neklinička ispitivanja lokalne podnošljivosti lijekova dane su smjernice za *in vivo* ispitivanja lokalne podnošljivosti u slučaju kada nisu dostupne validirane *in vitro* metode

ili rezultati *in vitro* ispitivanja nisu prihvatljivi i ispitivanja lokalne podnošljivosti ne mogu biti dijelom drugih toksikoloških ispitivanja. Ispitivanja se provode na različitim tkivima s kojima lijek dolazi u kontakt, na leći, staklastom tijelu i očnoj pozadini, zatim na kapcima, konjunktivi, rožnici i šarenici (49).

Smjernica *Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches*, EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/450091/2012 usvojena je u prosincu 2016. godine i daje preporuke za neklinička ispitivanja tijekom razvoja lijekova za humanu i veterinarsku uporabu i kod provjere kakvoće lijekova tijekom postupka proizvodnje humanih i veterinarskih lijekova (u procesnoj kontroli i/ili završnoj provjeri kakvoće lijeka).

Značenje pristupa 3R:

(i) Zamjena (*engl. Replacement*): pristup ispitivanju s ciljem izbjegavanja ili zamjene ispitivanja na živim životinjama koja bi se inače provodila. Žive životinje mogu se zamijeniti animalnim i humanim staničnim linijama, stanicama i tkivima ili matematičkim i kompjuterskim modelima ili fizičko-kemijskim metodama.

(ii) Smanjenje (engl. *Reduction*): pristup koji minimizira broj životinja uključenih u ispitivanja, tako da se pokušaju dobiti usporedivi podaci s manje životinja ili više podataka na istom broju životinja, npr. pomoću poboljšanog eksperimentalnog dizajna i statističke analize, kombinacije ispitivanja, upotrebom internacionalnih smjernica za ispitivanja kako bi se izbjegla dupla ispitivanja, uporabom tehnologije snimanja kako bi se omogućila istraživanja longitudinalnog tipa na istim životinjama.

(iii) Poboljšanje (engl. *Refinement*): pristup kojim se minimizira bol, patnja, uznemirenost ili trajna povreda životinja, npr. primjenom odgovarajućeg anestetika i analgetika.

Formalni validacijski postupci za 3R metode propisani su od strane Referentnog laboratorija Europske unije za alternative ispitivanju na životinjama (engl. *European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing*, EURL ECVAM) i Europskog ravnateljstva za

kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare*, EDQM) (50).

EURL ECVAM utemeljen je 2011. godine radi povećane potrebe za razvojem i validacijom novih metoda te promovira razvoj i upotrebu alternativnih metoda u zamjenu ispitivanjima na životinjama (51). Kriteriji za validaciju propisani od strane EURL ECVAM usporedivi su s kriterijima propisanima od strane Međuagencijskog koordinacijskog odbora za validaciju alternativnih metoda (engl. *Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods*, ICCVAM) SAD-a i OECD-a. Regulatorno su prihvatljive i 3R metode koje nisu službeno validirane, što ovisi o slučaju i kriterijima ocjene regulatornog tijela (50).

Internacionalni zahtjevi za neklinička ispitivanja sigurnosti primjene propisani su smjernicom *ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals*, EMA/CPMP/ICH/286/1995 (zadnja verzija na snazi od prosinca 2009. godine) s ciljem daljnje harmonizacije nekliničkih ispitivanja kao potpora kliničkom razvoju u regijama EU, Japana i SAD-a. Neklinička ispitivanja sigurnosti primjene koja se provode u svrhu ishođenja odobrenja za stavljanje lijeka u promet obično uključuju farmakološka ispitivanja, opća toksikološka ispitivanja, toksikokinetička i neklinička farmakokinetička ispitivanja, reprodukcijska toksikološka ispitivanja, genotoksična ispitivanja; za lijekove koji su namijenjeni dugotrajnoj uporabi ispituje se karcinogenični potencijal, a druga neklinička ispitivanja npr. fototoksičnost, imunotoksičnost provode se ovisno o slučaju. Neklinička ispitivanja sigurnosti trebaju biti prikladna za karakterizaciju potencijalnih štetnih učinaka koji se mogu pojaviti u kliničkim ispitivanjima. Farmakološka i farmakodinamička ispitivanja sigurnosti primjene definirana su smjernicom ICH S7A *Safety pharmacology studies for Human Pharmaceuticals*. Cilj sigurnosnih farmakoloških ispitivanja uključuje procjenu učinka na kardiovaskularni, središnji živčani i respiracijski sustav i trebala bi biti provedena prije ispitivanja na ljudima. Primarna farmakodinamička ispitivanja (*in vivo* i/ili *in vitro*) namijenjena su istraživanju načina djelovanja i/ili učinaka djelatne tvari u odnosu na željeni terapijski cilj, provode se u ranoj fazi farmaceutskog razvoja i imaju ulogu pri odabiru

doze u nekliničkim i kliničkim ispitivanjima. Svi relevantni neklinički podaci uključujući farmakološki odgovor na dozu, farmakološko/toksikološki profil i farmakokinetiku trebaju se uzeti u obzir pri određivanju preporučene početne doze u ljudi (52).

3.2.7. OECD smjernice za ispitivanje iritacije oka

Smjernice za ispitivanje (engl. *Test Guidelines*, TG) kemijskih tvari Organizacije za gospodarsku suradnju i razvoj (engl. *Organisation for Economic Co-operation and Development*, OECD) periodički se preispituju kako bi se osiguralo održavanje najbolje razine dostupne znanstvene spoznaje. U prethodnim preispitivanjima smjernica posebna je pozornost posvećena mogućim poboljšanjima u smislu procjenjivanja svih postojećih informacija o ispitivanoj kemikaliji kako bi se izbjeglo nepotrebno ispitivanje na životinjama i time pridonijelo njihovoj dobrobiti.

Draizeovo ispitivanje na oku kunića je *in vivo* regulatorno prihvaćena metoda koja je prvi put usvojena od strane OECD-a 1981. godine (OECD TG 405) nakon čega je nekoliko puta ažurirana. Zadnje ažuriranje uključilo je uporabu lokalnih anestetika i sustavnih analgetika kako bi se izbjegla bol i patnja životinja bez utjecaja na ishod ispitivanja. U uravnoteženu preventivnu kontrolu boli trebalo bi uključiti: (i) rutinsko davanje lokalnog anestetika npr. tetrakaina i sustavnog analgetika npr. buprenorfina prije tretiranja; (ii) rutinski program tretiranja sustavnim analgetikom npr. buprenorfinom i meloksikamom nakon tretiranja; (iii) program promatranja, praćenja i bilježenja kliničkih znakova boli i/ili patnje kod životinja; (iv) program promatranja, praćenja i bilježenja vrste, težine i napredovanja svih ozljeda očiju. Nakon primjene ispitivane kemikalije ne bi se smjeli davati nikakvi dodatni lokalni anestetici ili analgetici kako ne bi utjecali na ispitivanje. Analgetike s protuupalnim djelovanjem (npr. meloksikam) ne bi trebalo primjenjivati lokalno, a doze koje se primjenjuju sustavno ne bi smjele utjecati na učinke na oči. Preporuka navedene smjernice je da se prije provođenja opisanog *in vivo* ispitivanja akutnog nagrizajućeg/nadražujućeg djelovanja tvari na oko

provede analiza snage dokaza na temelju postojećih relevantnih podataka. Ako nema dovoljno raspoloživih podataka, preporučuje se njihovo prikupljanje primjenom sekvencijskog ispitivanja. Strategija ispitivanja uključuje provođenje validiranih i prihvaćenih ispitivanja *in vitro* te bi se ispitivanje na životinjama trebalo provoditi samo ako se utvrdi da je ono potrebno nakon razmatranja dostupnih alternativnih metoda i primjene onih za koje se utvrdi da su primjerene.

Draizeovim ispitivanjem mogu se procijeniti učinci na tkiva rožnice, šarenice i konjunktive i trajanje tih učinaka. Ispitivana doza tvari primjenjuje se u donju konjunktivalnu vrećicu jednog oka svake životinje, a drugo oko koje se ne tretira služi za kontrolu. Učinci na rožnicu (zamućenost), šarenicu (upala) i konjunktivu (crvenilo i oteklina) bilježe se sat vremena nakon primjene ispitivanog uzorka, dnevno tijekom 3 dana, zatim na dane 7, 14 i 21 (stupnjevanje očnih lezija opisano u Tablici 6.). Da bi se utvrdila reverzibilnost učinaka, životinje se promatraju 21 dan od primjene ispitivane kemikalije. Ako se reverzibilnost uoči prije isteka 21 dana, ispitivanje treba prekinuti. Vrijednosti nadražaja oka ocjenjuju se ovisno o vrsti i stupnju lezija te o njihovoj reverzibilnosti ili ireverzibilnosti. Pojedinačne vrijednosti ne predstavljaju apsolutni standard za nadražujuća svojstva kemikalije jer se ocjenjuju i drugi učinci ispitivane kemikalije. Pri tumačenju rezultata treba uzeti u obzir da su u mnogim slučajevima albino kunići osjetljiviji od ljudi na tvari koje nadražuju ili nagrizaju oči te je ekstrapolacija rezultata ispitivanja nadraživanja oka kod laboratorijskih životinja na ljude valjana samo do određene granice (53, 54).

Tablica 6. Stupnjevanje očne lezije prema smjernici OECD TG 405 (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

Rožnica	Stupanj
Zamućenost: stupanj neprozirnosti (treba očitati vrijednosti za najneprozirniji dio rožnice)*	
Nema ulceracije ni zamućenosti	0
Razbacana ili difuzna područja zamućenosti (osim blagog zamućenja normalnog sjaja); detalji šarenice jasno vidljivi	1

Jasno vidljiva prozirna područja; detalji šarenice lagano zasjenjeni	2
Sedefasta područja; nisu vidljivi detalji šarenice; veličina zjenice jedva vidljiva	3
Zamućena rožnica: šarenica se ne razaznaje zbog zamućenosti	4
Najviši mogući stupanj: 4	
Šarenica	
Normalno	0
Izrazito produbljeni nabori, kongestija, oteklina, umjerena hiperemija oko rožnice; ili injekcija; šarenica reagira na svjetlo (usporena reakcija smatra se učinkom ispitivane tvari)	1
Krvarenje, veliko oštećenje, ili nema reakcije na svjetlo	2
Najviši mogući stupanj: 2	
Očna spojnica (konjunktiva)	
Crvenilo (odnosi se na palpebralnu i bulbarnu konjunktivu; isključujući rožnicu i šarenicu)	
Normalno	0
Neke krvne žile hiperemične (ubrizgano)	1
Difuzna, skarletno crvena boja; pojedinačne žile ne mogu se jasno razaznati	2
Difuzno tamno crvenilo (boje mesa)	3
Najviši mogući stupanj: 3	
Kemoza	
Oteklina (odnosi se na kapak i/ili treći kapak)	
Normalno	0
Oteklina nešto iznad uobičajenog stanja	1
Očita oteklina, s djelomičnim iskretanjem kapka prema van (everzija)	2
Oteklina, kapak napola zatvoren	3
Oteklina, kapak više od napola zatvoren	4
Najviši mogući stupanj: 4	

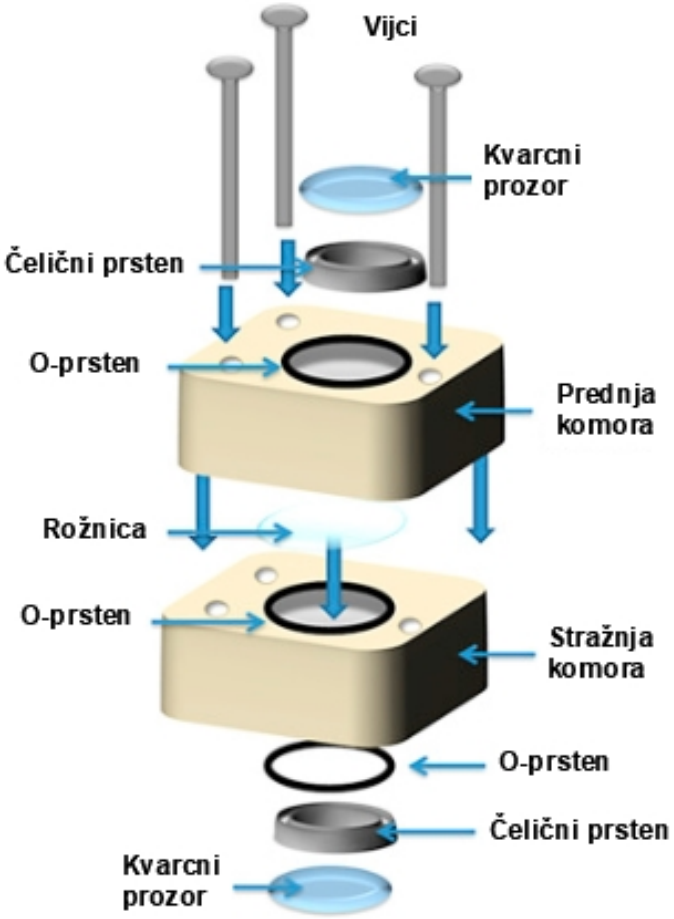
*Područje zamućenosti rožnice treba zabilježiti.

Metode *in vitro* ispitivanja teške ozljede oka i nadražaja (iritacije) oka usvojene od strane OECD-a su sljedeće:

(i) OECD TG 437: Metoda ispitivanja zamućenja i propusnosti goveđe rožnice (engl. *Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method*, BCOP) za utvrđivanje kemikalija (tvari i mješavina) koje uzrokuju teške ozljede oka i kemikalija koje nije potrebno razvrstati s obzirom na nadražaj (iritaciju) oka ili tešku ozljedu oka. Teškom ozljedom oka smatraju se oštećenja koja traju 21 dan nakon primjene tvari na prednju površinu oka i takve tvari razvrstane su u kategoriju 1. sustava prema Globalnom harmoniziranom sustavu klasifikacije i označavanja kemikalija (engl. *United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals,* UN GHS). Kemikalije koje ne uzrokuju iritaciju oka ili teške ozljede oka klasificirane su kao UN GHS bez kategorije (engl. *no category*). Tvari koje uzrokuju nadražaj (iritaciju) oka razvrstane su u kategoriju 2. sustava UN GHS i za takve tvari BCOP metoda se ne preporučuje (trenutno nema *in vitro* metode usvojene od strane OECD-a pomoću koje bi se kemikalije razvrstale u kategoriju 2. sustava UN GHS). Smatra se da u doglednoj budućnosti pojedinačno *in vitro* ispitivanje neće moći zamijeniti *in vivo* Draizeovo ispitivanje na oku za predviđanje punog raspona nadražaja za različite kemijske razrede, jedino bi strateška kombinacija nekoliko *in vitro* ispitivanja mogla zamijeniti *in vivo* ispitivanje. Ispitivanja prema pristupu „odozgo prema dolje“ (engl. *Top-Down*) započinju *in vitro* metodama kojima se točno mogu odrediti kemikalije koje uzrokuju teške ozljede oka/ireverzibilni učinak na oko (kategorija 1. sustava UN GHS). Ispitivanja prema pristupu „odozdo prema gore“ (engl. *Bottom-Up*) započinju *in vitro* metodama kojima se mogu identificirati kemikalije koje nije potrebno razvrstati s obzirom na nadražaj (iritaciju) oka ili tešku ozljedu oka odnosno u ovom slučaju UN GHS bez kategorije.

Svrha OECD TG 437 je opisati postupke koji se primjenjuju za ocjenjivanje potencijala opasnosti ispitivane kemikalije za oko mjerenog sposobnošću te tvari da izazove zamućenje i povećanu propusnost izolirane goveđe rožnice. Toksični učinci

na rožnicu mjere se smanjenim prijenosom svjetla (zamućenje) i povećanim prijenosom (propusnošću) natrijevog fluoresceina. Ocjenom zamućenja i propusnosti rožnice nakon izlaganja ispitivanoj tvari dobiva se *in vitro* vrijednost nadražaja (engl. *In Vitro Irritancy Score*, IVIS), koja se koristi za razvrstavanje ispitivane tvari prema razini nadražujućeg djelovanja. Tvari s rezultatom IVIS>55 razvrstane su u kategoriju 1. sustava UN GHS, a tvari s rezultatom IVIS≤3 u UN GHS bez kategorije. U odnosu na *in vivo* ispitivanja na oku kunića, BCOP metoda je manje precizna, ima visoku stopu lažno pozitivnih rezultata za alkohole i ketone te visoku stopu lažno negativnih rezultata za krute tvari. BCOP metoda je organotipski *ex vivo* model koji kratkoročno osigurava održavanje normalne fiziološke i biokemijske funkcije goveđe rožnice *in vitro*. U BCOP metodi koriste se svježe izolirane rožnice goveda. Zamućenje rožnice mjeri se kvantitativno kao količina prijenosa svjetla kroz rožnicu. Propusnost se mjeri kvantitativno pomoću spektrofotometra vidljivog svjetla kao količina boje natrijevog fluoresceina koja prolazi punom debljinom rožnice, kako je detektirana u sredini stražnje komore. Ispitivane tvari nanose se na epitelnu površinu rožnice u prednjoj komori držača rožnice (55).



Slika 5. Primjer komore za ispitivanje koja se koristi u BCOP metodi ispitivanja (prilagođeno prema literaturnom navodu (56)).

(ii) OECD TG 438: Metoda ispitivanja na izoliranom oku pilića (engl. *Isolated Chicken Eye Test Method*, ICE) za utvrđivanje kemikalija (tvari i mješavina) koje uzrokuju teške ozljede oka i kemikalija koje nije potrebno razvrstati s obzirom na nadražaj (iritaciju) oka ili tešku ozljedu oka. ICE metoda je organotipski *ex vivo* model koji kratkoročno osigurava održavanje pilećeg oka *in vitro*. Svrha ove metode je opisati postupke koji se primjenjuju za ocjenjivanje potencijala opasnosti ispitivane kemikalije za oko mjerenog sposobnošću te tvari izazivanja ili neizazivanja toksičnosti u izoliranom pilećem oku. Toksični učinci na rožnicu mjere se: (i) kvalitativnom ocjenom zamućenja, (ii) kvalitativnom ocjenom oštećenja epitela uslijed primjene fluoresceina

na oko (retencija fluoresceina), (iii) kvantitativnim mjerenjem povećane debljine (oticanje) i (iv) kvalitativnom evaluacijom makroskopskog morfološkog oštećenja površine. Zamućenje rožnice, oticanje i oštećenja nakon izlaganja ispitivanoj tvari procjenjuju se pojedinačno, a zatim se ocjene kombiniraju radi utvrđivanja UN GHS klasifikacije. ICE metodom mogu se razvrstati tvari u kategoriju 1. sustava UN GHS. Mogući su lažno pozitivni rezultati za alkohole i lažno negativni rezultati za krute tvari i surfaktante. Ako se ICE metodom pokaže da je tvar UN GHS ne klasificirana, potrebno je provesti dodatna ispitivanja (57).

(iii) OECD TG 460: Metoda ispitivanja propuštanja fluoresceina za identifikaciju nagrizajućih i jako nadražujućih tvari (engl. *Flourescein Leakage Test Method*, FL). Svrha ove metode je opisati postupke koji se primjenjuju za ocjenjivanje potencijalno nagrizajućeg ili jako nadražujućeg djelovanja ispitivane kemikalije na oko s obzirom na njezinu sposobnost uzrokovanja oštećenja nepropusnog konfluentnog epitelnog monosloja. Povećana propusnost epitela rožnice povezana je s upalom i površinskim oštećenjima. Toksični učinak nakon kratkog izlaganja ispitivanoj kemikaliji mjeri se povećanjem propusnosti natrijevog fluoresceina kroz monosloj MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) stanične linije uzgojene na propusnim umetcima. Količina propuštenog fluoresceina razmjerna je kemijski uzrokovanom oštećenju međustaničnih spojeva, dezmosoma i staničnih membrana te se na temelju nje može procijeniti potencijalna okularna toksičnost ispitivane kemikalije. FL metodom mogu se identificirati tvari razvrstane u kategoriju 1. sustava UN GHS bez dodatnih *in vitro* ispitivanja, dok je za ostale tvari potrebno dodatno ispitivanje (58).

Tablica 7. Usporedni prikaz rezulata ispitivanja iritacije oka metodom ispitivanja propuštanja fluoresceina (FL), OECD TG 460 i metodom ispitivanja na izoliranom oku pilića (ICE), OECD TG 438 u odnosu na referentnu *in vivo* metodu OECD TG 405 (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

Kemikalija	**Kemijski razred**	**Oblik**	***In vivo* klasifikacija**	***In vitro* klasifikacija**	
			OECD TG 405	**OECD TG 460**	**OECD TG 438**
benzalkonijev klorid (5 %)	onijev spoj	tekućina	kategorija 1	kategorija 1	kategorija 1
amonijev nitrat	anorganska sol	kruta tvar	kategorija 2A	bez kategorije	ne može se predvidjeti
etil-2-metilacetoacetat	keton, ester	tekućina	kategorija 2B	bez kategorije	ne može se predvidjeti
glicerol	alkohol	tekućina	bez kategorije	bez kategorije	bez kategorije (granična vrijednost)

(iv) OECD TG 491: Metoda ispitivanja *in vitro* u kratkom vremenu izloženosti (engl. *Short Time Exposure*, STE) za identifikaciju kemikalija (tvari i mješavina) koje uzrokuju teške ozljede oka i kemikalija koje nije potrebno razvrstati s obzirom na nadražaj (iritaciju) oka ili tešku ozljedu oka. Svrha ove metode je opisati postupke koji se primjenjuju za ocjenjivanje potencijala opasnosti ispitivane kemikalije za oko mjerenog sposobnošću te tvari da izazove citotoksičnost koja se kvantitativno mjeri kao relativna vijabilnost SIRC (*Statens Seruminstitut Rabbit Cornea*) stanične linije pomoću MTT testa kojim se procjenjuje metabolička aktivnost stanica. Smanjena stanična vijabilnost koristi se za predviđanje potencijalnih štetnih učinaka koji dovode do oštećenja oka. Istraženo je da se 80% otopine koja se ukapa u oko kunića izlučuje u konjunktivalnu vrećicu kroz tri do četiri minute, dok se više od 80% otopine koja se ukapa u ljudsko oko izluči kroz jednu do dvije minute. STE metodom se pokušavaju približiti navedena vremena izloženosti stoga je izloženost ispitivanoj kemikaliji pet minuta (59).

(v) OECD TG 492: Metoda s rekonstruiranim humanim epitelom nalik rožnici (engl. *Reconstructed human Cornea-like Epithelium*, RhCE) za identifikaciju kemikalija koje nije potrebno razvrstati s obzirom na nadražaj (iritaciju) oka ili tešku ozljedu oka. Svrha ove metode je opisati postupke koji se primjenjuju za ocjenjivanje potencijala opasnosti ispitivane kemikalije za oko mjerenog sposobnošću te tvari da izazove citotoksičnost u RhCE tkivu te se mjeri vijabilnost stanica pomoću MTT testa. RhCE tkivo rekonstruirano je iz stanične linije primarnih humanih keratinocita (EpiOcular™ OCL-200) ili imortalizirane stanične linije humanog epitela rožnice (SkinEthic™ HCE/S). Ispitivane tvari koje ne smanjuju vijabilnost stanica ispod definiranog praga razvrstane su u UN GHS bez kategorije (60).

OECD je objavio 20. srpnja 2017. godine smjernicu za integrirani pristup ispitivanju teške ozljede i nadražaja oka *Guidance Document on an Integrated Approach on Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation* No. 263 koja uz detaljno opisane validirane metode usvojene od strane OECD-a, sadrži podatke o drugim alternativnim metodama koje nisu usvojene od strane OECD-a, s ciljem minimizacije provođenja ispitivanja na životinjama (61).

Tablica 8. Regulatorna klasifikacija, primjenjivost, ograničenja i rezultati OEDC usvojenih *in vitro* ispitivanja za identifikaciju oštećenja oka: metoda ispitivanja zamućenja i propusnosti goveđe rožnice (engl. *Bovine Corneal Opacity and Permeability*, BCOP), metoda ispitivanja na izoliranom oku pilića (engl. *Isolated Chicken Eye*, ICE), metoda ispitivanja *in vitro* u kratkom vremenu izloženosti (engl. *Short Time Exposure*, STE), metoda ispitivanja s rekonstruiranim humanim epitelom nalik rožnici (engl. *Reconstructed human Cornea-like Epithelium*, RhCE), metoda ispitivanja propuštanja fluoresceina (engl. *Fluorescein Leakage*, FL) (prilagođeno prema literaturnom navodu (61)).

	BCOP (OECD TG 437)	**ICE (OECD TG 438)**	**STE (OECD TG 491)**	**RhCE (OECD TG 492)**	**FL (OECD TG 460)**
Kategorija 1. sustava UN GHS					
Primjenjivost	Tvari i mješavine	Tvari i mješavine	Tvari, višekomponentne tvari i mješavine koje su otopljene ili ravnomjerno suspendirane najmanje 5 minuta	Nije primjenjivo	Tvari topljive u vodi i mješavine
Ograničenja	Alkoholi i ketoni	Alkoholi	Nema drugih specifičnih ograničenja	Nije primjenjivo	Jake kiseline i baze, lako hlapljive tvari, obojenje i viskozne tvari, čvrste tvari suspendirane u tekućini koje se talože
Preciznost*	79% (150/191)	86% (120/140)	83% (104/125)	Nije primjenjivo	77% (117/151)
Lažno pozitivni rezultat* (1-specifičnost)	25% (32/126)	6% (7/113)	1% (1/86)	Nije primjenjivo	7% (7/103)

Lažno negativni rezultat* (1-osjetljivost)	14% (9/65)	48% (13/27)	51% (20/39)	Nije primjenjivo	56% (27/48)
UN GHS bez kategorije					
Primjenjivost	Tvari i mješavine	Tvari i mješavine	Tvari, višekomponentne tvari i mješavine koje su otopljene ili ravnomjerno suspendirane najmanje 5 minuta	Tvari i mješavine Interferirajuće tvari zahtjevaju odgovarajuću kontrolu ili HPLC-UPLC analizu ako je inkompatibilnost s MTT veća od 60%	Nije primjenjivo
Ograničenja	S obzirom na visoki postotak lažno pozitivnih rezultata, BCOP metoda se ne preporučuje kao inicijalni korak pristupa „Bottom-up“	Za neka organska otapala koja sadrže boje nije predvidljivo; za razvrstavanje krutih tvari u UN GHS ne klasificirano, potrebno je dodatno ispitivanje	Lako hlapljive tvari s tlakom para > 6 kPa (na 25ºC); mješavine koje sadrže tvari s tlakom para > 6 kPa	Drugih nema	Nije primjenjivo

Preciznost*	69% (135/196)	82% (125/152)	90% (92/102)	80% (n=112)	Nije primjenjivo
Lažno pozitivni rezultat* (1-specifičnost)	69% (61/89)	33% (26/79)	19% (9/48)	37% (n=55)	Nije primjenjivo
Lažno negativni rezultat* (1-osjetljivost)	0% (0/107)	1% (1/73)	2% (1/54)	4% (n=57)	Nije primjenjivo

*podaci objavljeni u Smjernicama za ispitivanje (engl. *Test Guidelines*, TG)

3.2.8. Javno izvješće o ocjeni dokumentacije o lijeku – primjeri odobrene nekliničke i kliničke dokumentacije u postupku davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet

Nakon davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet, osnovni podaci o odobrenom lijeku, uključujući odobreni sažetak opisa svojstava lijeka i uputu o lijeku te javno izvješće o ocjeni dokumentacije za lijekove za koje je zahtjev za davanje odobrenja zaprimljen nakon pristupanja Hrvatske Europskoj uniji 1. srpnja 2013. godine objavljuju se na mrežnoj stranici HALMED-a i dostupni su javnosti. Javno izvješće o ocjeni dokumentacije o lijeku je sažetak cjelovitih detaljnih izvješća o ocjeni dokumentacije o lijeku koje ne sadržava detalje koji se smatraju poslovnom tajnom. Neklinički i klinički podaci na temelju kojih je dokazana sigurnost i djelotvornost lijeka objavljuju se u dijelovima III. i IV. Javnog izvješća o ocjeni dokumentacije o lijeku (24).

Tablica 9. Primjeri nekliničkih i kliničkih podataka koji su dostavljeni uz zahtjev za davanje odobrenja hibridnih generičkih oftalmika odobrenih prema nacionalnom postupku (prilagođeno prema literaturnom navodu (32)).

Hibridni generički lijek	Neklinički podaci	Klinički podaci
Protravis 40 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	✓ Literaturni podaci (farmakodinamička, farmakokinetička i toksikološka svojstva djelatne tvari travoprost dobro su poznata) ✓ Priložena su dodatna neklinička ispitivanja s obzirom na razliku u kvalitativnom sastavu pomoćnih tvari (konzervans) u odnosu na referentni lijek Travatan	✓ Terapijska ekvivalencija dokazana na temelju potvrđene farmaceutske ekvivalencije (sastav i dobiveni rezultati iz razvoja prijavljenog lijeka usporedivi su s referentnim lijekom Travatan, uključujući fizičko-kemijska svojstva) ✓ Provedeno je multicentrično, prospektivno, randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje paralelnog dizajna kako bi se dodatno dokazala terapijska ekvivalencija ✓ Literaturni podaci
Lapovis plus 50 mikrograma/ml+5 mg/ml kapi za oko, otopina	✓ Literaturni podaci (farmakodinamička, farmakokinetička i toksikološka svojstva djelatnih tvari timolol i latanoprost dobro su poznata) ✓ Dodatno je provedeno neklinično komparativno ispitivanje akutne	✓ Na temelju dostavljenih usporednih rezultata ispitivanja fizičko-kemijskih svojstava ispitivanog lijeka Lapovis plus i referentnog lijeka Xalacom potvrđena je farmaceutska ekvivalencija te je zaključeno da su lijekovi i terapijski ekvivalentni ✓ Dostavljeno klinično izvješće

	iritacije oka na kunićima	i dostatne literaturne reference
Dorvis plus 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	✓ Literaturni podaci	✓ Na temelju utvrđene farmaceutske ekvivalencije zaključeno je da su ispitivani lijek Dorvis plus i referentni lijek Cosopt i terapijski ekvivalentni ✓ Dostavljeno kliničko izvješće i dostatne literaturne reference

Tablica 10. Primjeri nekliničkih i kliničkih podataka koji su dostavljeni uz zahtjev za davanje odobrenja hibridnih generičkih oftalmika odobrenih prema decentraliziranom postupku (DCP) (prilagođeno prema literaturnom navodu (32)).

Hibridni generički lijek	Broj DCP-a	Neklinički podaci	Klinički podaci
Vizioblok 5 mg/ml kapi za oko, otopina	DK/H/2468/002 (referentna država: Danska)	• Literaturni podaci (farmakodinamička, farmakokinetička i toksikološka svojstva djelatne tvari timolol dobro su poznata) • Nekliničko izvješće uključuje 51 literaturnu referencu	• Literaturni podaci • Kliničko izvješće sadrži 79 literaturnih referenci • Usporedni rezultati ispitivanja dostavljeni u Modulu 3 podupiru farmaceutsku ekvivalenciju; potvrđeno je da lijekovi imaju ista fizičko-kemijska svojstva uključujući profile onečišćenja, volumen

			kapi, pH, specifičnu težinu, površinsku napetost i osmolalnost
Bondulc 40 mikrograma/ml kapi za oko, otopina	DK/H/2237/001 (referentna država: Danska)	• Nekliničkim izvješćem opravdano je nedostavljanje dodatnih nekliničkih farmakoloških, farmakokinetičkih i tokisikoloških podataka	• Nije bilo potrebno dostaviti dodatna klinička ispitivanja (klinička farmakodinamika, farmakokinetika, djelotvornost i sigurnost lijeka travoprost kapi za oko dobro su poznati) • Ispitivanja fizičko-kemijskih svojstava ispitivanog i referentnog lijeka uključivala su određivanje površinske napetosti, broja kapi po spremniku, pH vrijednosti, osmolalnosti, specifične težine; dodatno su uspoređeni sadržaj i onečišćenja.

3.3. Farmakopejski zahtjevi za kakvoću ljekovitih pripravaka za oko

Europska farmakopeja (Ph. Eur.) nastala je 1964. godine Konvencijom o izradi Ph. Eur. pod okriljem Vijeća Europe (engl. *Council of Europe*). Objavljuje je Europsko ravnateljstvo za kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare*, EDQM) Vijeća Europe u Strasbourgu. Republika Hrvatska je od 1994. godine potpisnica Konvencije i Protokola o izradi Ph. Eur. čime je preuzeta obveza njene primjene u praksi. Kroz rad delegata u Komisiji Ph. Eur. i stručnjaka u radnim tijelima sudjeluje u izradi Ph. Eur. Intenzivan rad europskih stručnjaka rezultira objavom novog cjelovitog izdanja Ph. Eur. svake tri godine, a svake godine objavljuju se još tri Dodatka s novim, ispravljenim i revidiranim tekstovima. Svako izdanje Hrvatske farmakopeje koju izrađuje i izdaje HALMED provodi zahtjeve jednog izdanja Ph. Eur. (62).

Trenutno važeće izdanje Hrvatske farmakopeje 4.4 odgovara Ph. Eur. 9.4 koja je na snazi od 1. travnja 2018. godine. Prema definiciji koja se navodi u općoj monografiji Pripravci za oko u Hrvatskoj farmakopeji koja odgovara monografiji Ph. Eur. 01/2008:1163 *Eye preparations*, pripravci za oko su sterilni, tekući, polučvrsti ili čvrsti pripravci namijenjeni za primjenu na očnu jabučicu i/ili konjunktivu, ili za umetanje u konjunktivalnu vrećicu.

Razlikuje se nekoliko skupina pripravaka za oko: kapi za oko (vodene ili uljne otopine, emulzije ili suspenzije), losioni za oko (vodene otopine), prašci za kapi za oko ili prašci za losione za oko, polučvrsti pripravci za oko (masti, kreme ili gelovi) i umeci za oko (čvrsti ili polučvrsti pripravci). Općom monografijom propisani su opis, proizvodnja, ispitivanje, čuvanje i označivanje pripravaka za oko. Opisani su sljedeći zahtjevi u proizvodnji: (i) ukoliko pripravak sadrži konzervans, opravdanost i učinkovitost konzervansa mora biti objašnjena na način da zadovolji regulatorno tijelo te je prikladna metoda ispitivanja zajedno s kriterijima za procjenu svojstava konzervansa u pripravku opisana u Ph. Eur.; (ii) priprava uz uporabu materijala i metoda kojima se osigurava sterilnost i sprječava unošenje onečišćenja i rast mikroorganizama (sterilnost pripravka je jedan od kritičnih atributa kakvoće); (iii) potrebno je osigurati prikladnu i kontroliranu veličinu čestica ukoliko pripravak sadrži raspršene čestice

(npr. kapi za oko u obliku suspenzija); (iv) tijekom razvoja polučvrstih pripravaka za oko pakiranih u jednodozne spremnike mora se pokazati da se nazivni sadržaj može izvući iz spremnika. Od ispitivanja koja se provode propisano je: (i) sterilnost za pripravke za oko; (ii) veličina čestica za kapi za oko (suspenzije) i polučvrste pripravke za oko; (iii) ujednačenost doznih jedinica, ujednačenost sadržaja i ujednačenost mase za praške za kapi za oko ili losione za oko; (iv) ujednačenost doznih jedinica i ujednačenost sadržaja za umetke za oko.

Kapi za oko, otopine promatrane pri prikladnom osvjetljenju praktički su bistre i bez čestica, a suspenzije mogu imati talog koji se brzo raspršti nakon protresanja i pritom nastaje suspenzija dostatno stabilna da omogući ispravno doziranje. Na označivanju pakiranja navodi se naziv svakog dodanog konzervansa, a na označivanju kapi, losiona i polučvrstih pripravaka za oko u višedoznom spremniku navodi se vrijeme nakon otvaranja spremnika u kojem se mora upotrijebiti sadržaj. Ako nije drugačije opravdano i odobreno, to vrijeme iznosi najviše četiri tjedna. Na oznaci umetaka za oko navodi se ukupna količina djelatne tvari po umetku ili oslobođena količina djelatne tvari u jedinici vremena, ako je primjenjivo. Sustav spremnik-zatvarač mora osigurati sterilnost proizvoda tijekom cijelog roka valjanosti. Pomoćne tvari koje sadržavaju kapi za oko npr. za prilagodbu toničnosti ili viskoznosti pripravka, za prilagodbu ili održavanje pH vrijednosti, za povećanje topljivosti djelatne tvari ili za povećanje stabilnosti pripravka ne smiju nepovoljno utjecati na terapijski učinak ili izazvati lokalnu iritaciju (63). Izmjena pomoćnih tvari može imati značajan utjecaj na sigurnost primjene i djelotvornost oftalmika, npr. izmjena konzervansa ili koncentracije konzervansa u kapima za oko može utjecati na penetraciju djelatne tvari kroz rožnicu, izmjena pomoćnih tvari za prilagodbu toničnosti ili viskoznosti može utjecati na zadržavanje na rožnici te utjecati na apsorpciju djelatne tvari. Za razliku od otopina na oftalmičke suspenzije, gelove, emulzije i masti utječu postupci u proizvodnom procesu kao što je mljevenje, raspodjela veličine čestica i redoslijed u miješanju. Tako da na generičke oftalmičke lijekove u obliku suspenzija, emulzija, gelova i masti može značajno utjecati i promijenjeni proizvodni postupak iako su djelatna tvar i pomoćne tvari kvantitativno i kvalitativno iste (64).

Usklađivanje i normiranje za farmaceutske pripravke za sada se provodi putem izrade nacrta općih monografija farmaceutskih oblika čime se utvrđuju elementi zajednički svim pripravcima unutar područja primjene monografije kao i razvijanjem standardnih metoda ispitivanja gotovih proizvoda. Uvrštavanje ovih općih monografija i metoda u Ph. Eur. daje nadležnim tijelima i proizvođačima zajedničku osnovu u pripremi i ocjeni zahtjeva za dobivanje odobrenja za stavljanje lijeka u promet. Ipak je 2012. godine razmotrena politika rada i započela je pilot faza izrade pojedinačnih monografija pripravaka te je prva monografija gotovog lijeka s kemijski definiranom djelatnom tvari Sitagliptin tablete prihvaćena u ožujku 2015. godine i objavljena u dodatku 8.7 Ph. Eur. Prihvaćanjem navedene monografije širi se područje primjene Ph. Eur. na pojedinačne monografije gotovih lijekova (63). Više pojedinačnih monografija gotovih lijekova mogu se naći u Britanskoj farmakopeji (engl. *British Pharmacopoeia*, BP) i Američkoj farmakopeji (engl. *The United States Pharmacopeia*, USP). Opća monografija Pripravaka za oko Britanske farmakopeje osim što je usklađena s monografijom Ph. Eur. propisuje dodatne zahtjeve za kapi za oko i mast za oko, npr. za kapi za oko dodatno je navedeno ako je djelatna tvar podložna oksidacijskoj razgradnji, potreban je dodatni oprez pri izboru prikladnog antioksidansa kako bi se osigurala kompatibilnost između antioksidansa i konzervansa. Npr. u pojedinačnoj monografiji u BP za Dorzolamid kapi za oko propisano je sljedeće: opis, identifikacija (opisana metoda ispitivanja), ispitivanja (pH, srodne tvari – opisana metoda ispitivanja), sadržaj djelatne tvari (opisana metoda ispitivanja), označivanje (65).

U poglavlju <771> *Opthalmic products-quality tests* USP oftalmici su definirani kao sterilni pripravci koji se primjenjuju na bilo koji dio površine oka te se razlikuje više skupina pripravaka za oko uključujući otopine, suspenzije, masti, gelove, emulzije, trake, injekcije, umetke i implantate. Postupci i kriteriji prihvatljivosti za ispitivanje oftalmika podijeljeni su u dvije kategorije: (i) ispitivanja općih atributa kakvoće kao što su identifikacija, čistoća, sterilnost; (ii) in *vitro* ispitivanja kao što je oslobađanje ili otpuštanje djelatne tvari iz lijeka. Navedena ispitivanja osiguravaju identitet, jačinu, kakvoću, čistoću i djelotvornost lijeka. U

poglavlju <771> opisana su ispitivanja kakvoće podijeljena na opća i specifična ispitivanja i ne slijede u potpunosti ICH smjernicu *Q6A Specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemicals substances*. Opća ispitivanja uključuju opis, identifikaciju (najčešće su korištene kromatografske metode ispitivanja), određivanje sadržaja, onečišćenja, pH, osmolarnost, vidljive čestice (engl. *particulate and foreign matter*), sterilnost, konzervanse, bakterijske endotoksine (nije primjenjivo za topikalne oftalmike), ujednačenost doznih jedinica (za pripravke pakirane u jednodozne spremnike), sadržaj spremnika (volumen punjenja), otpuštene tvari (engl. *leachables*) i ekstrahirane tvari (engl. *extractables*), nepropusnost spremnika. Specifična ispitivanja uključuju viskoznost (povećanje viskoznosti produžuje vrijeme zadržavanja pripravka na površini oka), sadržaj antioksidansa, resuspendiranje/redisperzibilnost, veličinu čestica i raspodjelu veličine čestica, veličinu kapi (veličina kapi obično je u rasponu od 20 do 70 µL), dodatne pomoćne tvari (npr. za povećanje stabilnosti pripravka; dodavanje pomoćnih tvari isključivo radi boje i mirisa je zabranjeno) (66).

Zahtjev kakvoće generičkog oftalmika može biti postavljen u skladu s farmakopejama i važećim smjernicama, npr. prema podacima u Javnom izvješću o ocjeni dokumentacije o lijeku zahtjev kakoće lijeka Lapovis plus 50 mikrograma/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina postavljen je u skladu s Ph. Eur., BP, USP i važećim smjernicama (32).

3.4. Sustavi za primjenu ljekovitih pripravaka u oko

Oftalmička primjena lijekova jedno je od najizazovnijih područja za istraživanje u farmaceutskoj industriji. Većina bolesti oka liječe se topikalnim otopinama u obliku kapi za oko, koje su najzastupljeniji farmaceutski oblici na tržištu s obzirom na cijenu proizvoda, razvoj, proizvodnju i prihvatljivost od strane pacijenata. Primjena lijekova u obliku kapi za oko nepovoljna je iz više razloga. Lijekovi koji se primjenjuju topikalnim oftalmičkim putem imaju lošu bioraspoloživost radi ograničene propusnosti rožnice i brzog uklanjanja lijeka s mjesta apsorpcije uslijed treptanja oka (67).

Prepreke kao što su lakrimalna drenaža, treptanje, razrjeđivanje lijeka suzama, ograničena propusnost rožnice i brza eliminacija lijeka putem nazolakrimalnog sustava pokušavaju se riješiti sljedećim načinima: (i) povećanjem koncentracije djelatne tvari u lijeku kako bi se osigurala dostava prikladne doze za terapijski učinak u oko; (ii) upotrebom gelirajućih sustava ili mukoadhezivnih polimera kako bi se povećalo vrijeme dodira pripravka s površinom oka te povećala okularna penetracija (što omogućuje manju učestalost doziranja); (iii) prilagodbom pH vrijednosti pripravka prema pH vrijednosti suza kako bi se spriječilo peckanje u oku i lučenje suza; (iv) prilagodbom formulacije pripravka (npr. povećanje lipofilnosti) kako bi se povećala penetracija u rožnicu, konjunktivu i bjeloočnicu.

U razvoju formulacije oftalmičkih otopina trebaju se uzeti u obzir brojni kritični čimbenici: odgovarajući oblik soli djelatne tvari, topljivost, potrebna terapijska koncentracija, okularna toksičnost, pKa, utjecaj pH vrijednosti na stabilnost i topljivost, toničnost, puferski kapacitet, viskoznost, kompatibilnost djelatne tvari s pomoćnim tvarima i spremnikom, izbor konzervansa, udobnost pri primjeni u oko, lakoća proizvodnje. Vrijednost pH oftalmika mora biti unutar fizioloških granica kako bi se izbjegla iritacija oka te posljedično suzenje oka. Odgovarajući puferski kapacitet može pozitivno djelovati na bioraspoloživost kao i na udobnost pri primjeni lijeka.

Drugi oblik oftalmičkih pripravaka koji se često koriste su suspenzije. Suspenzije omogućuju okularnu primjenu hidrofobnih lijekova koji imaju ograničenu topljivost u vodi. Njihova proizvodnja je kompleksna te su nedostaci aglomeracija čestica, stvaranje neprotresivog taloga i agregata, termodinamička nestabilnost radi koje je važna temperatura pri skladištenju suspenzije.

S ciljem produljenog terapijskog učinka lijeka u oku, posebno tijekom spavanja, najčešće su se koristili oftalmički pripravci u obliku masti sve do nedavne primjene gelirajućih i mukoadhezivnih polimernih sustava. Glavni nedostatak masti za primjenu u oko je zamućen vid. Važni čimbenici u razvoju masti su uporaba pomoćnih tvari koje ne iritiraju oko, ujednačena konzistencija masti kako bi se nakon primjene masti u oko postigla ujednačena debljina sloja masti u oku te spriječilo prekomjerno zamućenje vida.

Mukoadhezivni polimeri su idealni sustavi za lokaliziranu dostavu djelatne tvari na specifično mjesto u tijelu, kao što je oko. Bioadhezivna svojstva polimera produljuju dodir lijeka s površinom oka i poboljšavaju bioraspoloživost djelatne tvari. Nekonvencionalni topikalni sustavi za primjenu lijeka u oko uključuju okularne umetke, prolijekove, mikrosfere i nanočestice. Ali i oni imaju nedostatke, npr. umetak s kontroliranim oslobađanjem pilokarpina mora biti tjedno umetnut i izvađen te ima više nuspojava od topikalnih kapi za oko. U usporedbi s konvencionalnim oftalmicima, proizvodnja sterilnih mikrosfera i nanočestica puno je složenija (68).

Nanotehnologija nudi mogućnost razvoja terapijskih sustava koji osiguravaju uspješno prevladavanje prepreka oftalmičke primjene lijeka. Od različitih sustava za dostavu lijeka, pogotovo za okularnu primjenu, nanosustavi su pokazali prednosti: povećanje permeabilnosti uklopljenog lijeka, produljeno zadržavanje lijeka na površini oka i poboljšanje bioraspoloživosti djelatne tvari. Bez obzira na brojne prednosti nanoemulzijskih sustava, još uvijek se raspravlja mogu li se topikalnim oblicima liječiti bolesti stražnjeg segmenta oka. Neka su istraživanja pokazala da nanosustavi u topikalnoj primjeni mogu prevladati barijere kao što su rožnica i spojnica oka (67).

3.5. Informacije o lijeku

Uz zahtjev za davanje odobrenja prilažu se informacije o lijeku koje uključuju sažetak opisa svojstava lijeka, uputu o lijeku i označivanje lijeka, koji se trebaju izraditi prema predlošku za izradu informacija o lijeku u nacionalnom postupku objavljenom na mrežnim stranicama HALMED-a. U predlošku za izradu informacija o lijeku navedeni su standardni naslovi/podnaslovi/navodi koji se moraju koristiti kada su primjenjivi. Podaci koje sažetak opisa svojstava lijeka mora sadržavati propisani su člankom 100. Zakona o lijekovima što je u skladu s člankom 11. Direktive 2001/83/EZ (69). Prijedlog sažetka opisa svojstava lijeka i upute o lijeku generičkog lijeka za Republiku Hrvatsku trebaju biti usklađeni sa sažetkom opisa svojstava i uputom o lijeku referentnog lijeka koji je odobren u Republici Hrvatskoj ili državi članici Europske unije kako je navedeno u obrascu prijave za davanje odobrenja (70).

Dijelovi sažetka opisa svojstava referentnog lijeka koji se odnose na indikacije ili oblike doziranja koji su još uvijek obuhvaćeni patentnom zaštitom u vrijeme stavljanja generičkog lijeka u promet ne smiju biti uključeni u tekst sažetka opisa svojstava lijeka. Uputa o lijeku mora biti usklađena s podacima u sažetku opisa svojstava lijeka i mora uključivati: i) podatke za identifikaciju lijeka; ii) terapijske indikacije; iii) informacije s kojima je nužno upoznati korisnika ili bolesnika prije uzimanja lijeka; iv) upute koje su potrebne i uobičajene za ispravnu uporabu lijeka; v) opis nuspojava koje se mogu javiti uz uobičajenu uporabu lijeka i mjere koje treba poduzeti u slučaju njihova javljanja te izričito upozorenje korisniku da o bilo kakvoj nuspojavi obavijesti zdravstvenog radnika ili HALMED; vi) upućivanje na rok valjanosti naznačen na pakiranju; vii) za lijekove odobrene postupkom međusobnog priznavanja ili decentraliziranim postupkom davanja odobrenja koji su odobreni pod različitim nazivima potrebno je navesti nazive lijeka u drugim državama članicama Europske unije; viii) datum posljednje revizije upute. Pomoćne tvari koje mogu utjecati na djelotvornost i sigurnost primjene lijeka navode se sukladno smjernici Europske komisije. Kod ciljanih skupina bolesnika treba provjeriti razumljivost i jednostavnost upute o lijeku (25).

Tablica 11. Informacije o lijeku priložene u Modulu 1 Zajedničkog tehničkog dokumenta (prilagođeno prema literaturnom navodu (70)).

Modul 1	
1.3	Informacije o lijeku
1.3.1	Sažetak opisa svojstava lijeka, uputa o lijeku i označivanje lijeka
1.3.2	Nacrt vanjskog i unutarnjeg pakiranja lijeka
1.3.3	Ogledni primjerak vanjskog i unutarnjeg pakiranja i upute o lijeku
1.3.4	Podaci o ispitivanju razumljivosti upute o lijeku
1.3.5	Informacije o lijeku odobrene u drugim državama članicama EU
1.3.6	Brailleovo pismo

3.5.1. Praćenje sigurnosti primjene lijeka nakon stavljanja lijeka u promet

Kao i kod svih lijekova, nakon dobivanja odobrenja sigurnost generičkih lijekova neprekidno se nadzire. Svaka tvrtka mora uspostaviti sustav nadzora sigurnosti svih lijekova koje stavlja u promet. Nadležna regulatorna tijela mogu provoditi inspekcije ovih nadzornih sustava. Ako postoje specifične sigurnosne mjere opreza koje je potrebno uzeti u obzir kod uzimanja referentnog lijeka, one se u pravilu primjenjuju i na generički lijek (71).

Podaci prikupljeni tijekom predmarketinške faze razvoja lijeka ne mogu predvidjeti sve nuspojave koje se mogu pojaviti nakon stavljanja lijeka u promet iz sljedećih razloga: i) ispitivanja na životinjama ne mogu u potpunosti predvidjeti sigurnost primjene lijeka u ljudi; ii) ispitanici koji sudjeluju u kliničkim ispitivanjima su odabrani, uvjeti za primjenu su drugačiji nego u uobičajenoj kliničkoj praksi (npr. definirana prehrana i fizička aktivnost, ispitanici ne uzimaju istovremeno druge lijekove i nemaju druge bolesti), trajanje i broj ispitanika su ograničeni; iii) do stavljanja lijeka u promet zbog ograničenog broja bolesnika koji su lijek uzimali tijekom ispitivanja mogle su biti uočene jedino češće nuspojave; iv) podaci o rijetkim nuspojavama, toksičnim učincima, dugotrajnoj uporabi lijeka, uporabi lijeka u posebnim skupinama bolesnika (npr. djeca, starije osobe, bubrežni ili jetreni bolesnici) ili o međusobnim interakcijama lijekova nepotpuni su ili nisu uopće dostupni.

Farmakovigilancija je proces: i) praćenja primjene lijekova u svakodnevnoj praksi u svrhu uočavanja ranije neprepoznatih nuspojava; ii) ocjene rizika i koristi primjene lijekova; iii) davanja informacija zdravstvenim djelatnicima i bolesnicima za sigurnu i učinkovitu primjenu lijekova; iv) praćenja utjecaja poduzetih mjera i postupaka. Informacije o nuspojavama mogu se dobiti putem spontanog prijavljivanja nuspojava (npr. od strane zdravstvenih djelatnika), kliničkih i epidemioloških studija, medicinske literature, informacija od predstavnika farmaceutske industrije, informacija od drugih regulatornih tijela svijeta, iz registara (mortalitet, morbiditet, trudnice i sl.). Takvi podaci mogu pokazati da se radi o novim nuspojavama koje do sada nisu bile poznate za određeni lijek, da se neke od nuspojava pojavljuju češće nego što se ranije provedenim ispitivanjima pokazalo, da neki ljudi ili

skupine bolesnika razvijaju nuspojave češće nego drugi, otkrivaju se nuspojave koje se pojavljuju nakon dugotrajne uporabe lijeka ili nuspojave s odgodom što dovodi do promjena kao što su ograničenja u primjeni lijeka, promjene u doziranju lijeka, izmjene sažetka opisa svojstava lijeka i upute o lijeku u dijelu indikacija, doziranja, kontraindikacija, nuspojava, upozorenja ili mjere opreza te drugih regulatornih akcija.

Sigurnosni signal je informacija o novom ili poznatom štetnom događaju koji je potencijalno uzrokovan primjenom lijeka, a temeljem kojeg se pokreće dodatna istraga. Prisutnost sigurnosnog signala ne potvrđuje povezanost lijeka i prijavljenog štetnog događaja. Štetni događaj može biti simptom druge bolesti ili uzrokovan drugim lijekom koji bolesnik uzima. Stoga je ocjena sigurnosnih signala nužna kako bi se utvrdilo postoji li uzročno-posljedična povezanost između primijenjenog lijeka i prijavljenog štetnog događaja. Signali se prikupljaju iz različitih izvora, uključujući spontano prijavljivanje sumnji na nuspojave, klinička ispitivanja i znanstvenu literaturu. Važan izvor signala je EudraVigilance, europska baza nuspojava lijekova. Regulatorna tijela država članica kroz sudjelovanje u radu Povjerenstva za ocjenu rizika na području farmakovigilancije (engl. *Pharmacovigilance Risk Assessment Committee,* PRAC) EMA-e ocjenjuju sve potencijalne signale. Postupanje sa signalima (engl. *signal management*) obuhvaća analizu, raspoređivanje po važnosti te ocjenu signala, nakon čega PRAC donosi preporuke. Preporuka PRAC-a u pravilu uključuje provođenje regulatornih radnji, poput uvođenja novih informacija u sažetak opisa svojstava lijeka i uputu o lijeku. U slučaju kad je riječ o centralizirano odobrenom lijeku, preporuke PRAC-a se prosljeđuju na usvajanje Povjerenstvu za humane lijekove (engl. *Committee for Medicinal Products for Medicinal Products for Human Use*, CHMP), a za nacionalno odobrene lijekove Koordinacijskoj grupi za postupak međusobnog priznavanja i decentralizirani postupak za humane lijekove (engl. *Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedure, Human Medicinal Products,* CMDh).

Nakon dobivanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet nositelj odobrenja u određenim vremenskim razmacima obavezan je dostaviti HALMED-u Periodičko izvješće o neškodljivosti lijeka (engl. *Periodic Safety Update Report*, PSUR) koje sadrži sveobuhvatnu i

kritičku analizu omjera koristi i rizika primjene lijeka uzimajući u obzir sve dostupne podatke. Učestalost podnošenja PSUR-eva definirana je tzv. EURD listom (engl. *European Union reference dates list*). EURD lista je referentni popis datuma Europske unije odnosno popis djelatnih tvari i kombinacija djelatnih tvari s definiranim datumima i učestalošću podnošenja PSUR-eva, u skladu s odlukama CHMP-a i CMDh-a, a na temelju savjeta PRAC-a. Zajednička ocjena PSUR-eva svih lijekova koji sadrže istu djelatnu tvar ili istu kombinaciju djelatnih tvari, čiji su učestalost i datum podnošenja PSUR-eva međusobno usklađeni putem EURD liste provodi se putem jedinstvene EU ocjene PSUR-eva (engl. *PSUR Single Assessment Procedure*, PSUSA). PSUR-eve unutar PSUSA postupka zajednički ocjenjuje PRAC ili država članica EU-a koju imenuje CMDh. Ako ishod PSUSA postupka zahtijeva izmjenu odobrenja za stavljanje lijekova u promet, nositelji odobrenja za lijekove koji sadrže djelatnu tvar obuhvaćenu postupkom, trebaju podnijeti zahtjev za izmjenu odobrenja kako bi odobrenje uskladili s ishodom PSUSA ocjene, čak i ako njihov lijek nije bio izravno uključen u sam postupak (generički lijekovi ili lijekovi provjerene medicinske uporabe), a temeljem odredbi članka 50. Zakona o lijekovima (odgovara članku 23. Direktive 2001/83/EZ) i članka 16. Uredbe (EZ) br. 726/2004 (72). Ako lijek sadrži djelatnu tvar čija učestalost podnošenja PSUR-a nije propisana EURD listom HALMED navodi obvezu učestalosti dostavljanja PSUR-a u rješenju o davanju odobrenja. Lijekovi koji su odobreni prema čl. 29. (generički lijekovi), 34. (lijekovi s dugotrajnom medicinskom uporabom), 63. (tradicionalni biljni lijekovi) i 68. (homeopatski lijekovi) Zakona o lijekovima ne podliježu obvezi rutinskog dostavljanja PSUR-eva, osim ukoliko je to zatraženo pri odobravanju lijeka vezano za farmakovigilancijske podatke ili zbog nepostojanja PSUR-a za djelatnu tvar nakon davanja odobrenja (25).

4. RASPRAVA

Najzastupljeniji farmaceutski oblici za primjenu lijeka u oko su kapi za oko s obzirom na cijenu proizvoda, razvoj, proizvodnju i prihvatljivost od strane pacijenata. Lijekovi koji se primjenjuju topikalnim oftalmičkim putem imaju nisku bioraspoloživost u oku radi ograničene apsorpcije koja je regulirana barijerama prednjeg segmenta oka poput nazolakrimalne drenaže, refleksa treptanja i suzenja, čvrste barijere rožnice, proteina i metaboličkih enzima suzne tekućine, koji učinkovito odstranjuju topikalno primijenjene oftalmičke pripravke s mjesta primjene. Brzina i obim apsorpcije lijeka nakon primjene na površinu oka iznimno su složeni procesi koji ovise o brojnim čimbenicima: fizičko-kemijskim (npr. pK_a, topljivost u suznoj tekućini, lipofilnost, veličina molekule, naboj), fiziološkim (dinamika suzne tekućine, nazolakrimalna drenaža, vrijeme zadržavanja na površini oka, stabilnost u suznoj tekućini, mehanizmi apsorpcije), čimbenicima povezanim s oftalmičkim farmaceutskim oblikom lijeka (otopine, suspenzije, emulzije, masti, gelovi). Bioraspoloživost topikalnih oftalmika, osim svojstvima djelatne tvari, uvelike je određena i formulacijskim parametrima, odnosno vrstom i udjelom pomoćnih tvari. S obzirom na izravnu primjenu topikalnih oftalmika na mjesto apsorpcije, ispitivanje permeabilnosti djelatne tvari preko bioloških barijera kritičan je korak za predviđanje njegove bioraspoloživosti.

Generički lijek mora sadržavati istu djelatnu tvar u istoj dozi i farmaceutskom obliku koja se primjenjuje istim načinom primjene kao i referentni lijek. Bioraspoloživosti generičkog i referentnog lijeka moraju biti slične, odnosno mora se osigurati sličan profil ovisnosti koncentracije djelatne tvari u krvi o vremenu čime se postiže jednaki terapijski učinak. Smjernicom *Guideline on the investigation of bioequivalence* (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr**) definirani su zahtjevi za ispitivanje bioekvivalencije za farmaceutske oblike lijekova s trenutnim oslobađanjem koji imaju sustavno djelovanje, ali također su postavljeni i kriteriji za slučajeve kada nije potrebno provesti ispitivanja bioraspoloživosti, kao za npr. za neke lijekove koji se primjenjuju u oko.

Zahtjev za davanje odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet podnosi se sukladno članku 32. Zakona o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.) što odgovara članku 10(3) Direktive 2001/83/EZ („hibrid“), koja zahtjeva dostavljanje dodatnih nekliničkih i kliničkih podataka. Dodatni neklinički i klinički podaci za hibridne generičke lijekove potrebni su kada se ispitivanjem bioraspoloživosti ne može dokazati bioekvivalentnost kao što je slučaj za lijekove koji se lokalno primjenjuju i djeluju lokalno, a za koje se pretpostavlja da djeluju na mjestu primjene te se sistemska apsorpcija smatra neželjenim učinkom. To su npr. dermatološki lijekovi, inhalacijski lijekovi, kapi za oko, kapi za uho, lijekovi za nazalnu primjenu, ali također i lijekovi za oralnu, vaginalnu i rektalnu primjenu koji djeluju lokalno. Kod ovih lijekova razlike u formulaciji ili doziranju mogu utjecati na djelotvornost i/ili sigurnost primjene lijeka.

Kao i u slučaju generičkih lijekova koji se sistemski apsorbiraju, za lijekove koji se lokalno primjenjuju i djeluju lokalno potrebno je dokazati da je ispitivani lijek terapijski ekvivalentan referentnom lijeku, odnosno da su lijekovi ekvivalentni u smislu djelotvornosti i sigurnosti. Umjesto kliničkih ispitivanja za dokazivanje terapijske ekvivalencije moguće je koristiti druga validirana ispitivanja kao što su humana farmakodinamička ispitivanja, ispitivanja lokalne raspoloživosti, ispitivanja na životinjama ili *in vitro* ispitivanja. Kada se koriste *in vitro* ispitivanja, trebaju se uzeti u obzir internacionalne validirane i regulatorno prihvaćene metode propisane od strane OECD-a kao i internacionalne validirane metode koje još nisu uključene u OECD smjernice. *In vitro* metode za ispitivanje iritacije oka ne mogu u potpunosti zamijeniti *in vivo* ispitivanja, ali rezultatima dobivenim iz prikladne *in vitro* metode koja ukazuje na potencijal iritacije može se izbjeći daljnje ispitivanje u provođenju samostalnog *in vivo* ispitivanja lokalne podnošljivosti.

Prema smjernici za bioekvivalenciju izuzeće za dostavljanje podataka o ekvivalenciji može biti prihvatljivo ako se radi o otopinama kao što su kapi za oko, sprejevi za nos ili otopine za kožu, ako je ispitivani lijek ista vrsta otopine i sadržava istu djelatnu tvar u istoj koncentraciji

kao i referentni lijek. U takvim slučajevima da bi se dokazala terapijska ekvivalencija potrebno je dokazati farmaceutsku ekvivalenciju. Ako se ustanovi da su sastav ispitivanog lijeka i dobiveni rezultati iz razvoja ispitivanog lijeka usporedivi s referentnim lijekom, uključujući fizičko-kemijska svojstva bitna za utvrđivanje farmaceutske ekvivalencije, može biti dokazana i terapijska ekvivalencija. Manje razlike u pomoćnim tvarima mogu biti zanemarive ukoliko je to na odgovarajući način opravdano. U tijeku je razvoj smjernice za kakvoću i ekvivalenciju topikalnih lijekova koja bi trebala biti usmjerena na lijekove za dermalnu primjenu, ali i za lijekove drugih puteva primjene. Trenutno nema smjernice izrađene specifično za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku.

Korist i rizik primjene hibridnog generičkog lijeka smatra se jednakom referentnom lijeku koji je odobren na temelju cjelovite dokumentacije koja uključuje odgovarajuća ispitivanja kojima je dokazana djelotvornost lijeka i sigurnost primjene. Nakon dobivanja odobrenja prate se nuspojave i sigurnost generičkih lijekova kao i za druge lijekove.

5. ZAKLJUČAK

Sadašnji algoritmi za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku nakon topikalne oftalmičke primjene osnivaju se na određivanju karakterističnih sistemskih farmakokinetičkih parametara (T_{max}, C_{max}, AUC) lijeka, a što najčešće ne odražava farmakokinetičku sudbinu lijeka u oku. Algoritmi za procjenu bioraspoloživosti topikalnih oftalmičkih pripravaka preuzeti su iz standardnih smjernica za određivanje bioraspoloživosti lijekova namijenjenih postizanju sistemskog učinka, ali oni služe samo kao privremeno rješenje do razvoja i implementiranja primjerenih smjernica izrađenih specifično za procjenu bioraspoloživosti lijeka u oku. Sistemske farmakokinetičke parametre topikalnih oftalmičkih lijekova moguće je i dalje određivati i razmatrati, ali samo s ciljem ocjene sigurnosti primjene topikalnih oftalmičkih pripravaka u smislu sistemske izloženosti lijeku i mogućih nuspojava lijeka nakon topikalne oftalmičke primjene. U usporedbi s uzorkovanjem fizioloških tekućina (krv, urin) u svrhu ispitivanja bioraspoloživosti i utvrđivanja bioekvivalencije lijekova namijenjenih sistemskom učinku, uzorkovanje tekućina i tkiva oka u svrhu procjene bioraspoloživosti lijeka u oku je vrlo invazivno i složeno.

Postupak davanja odobrenja za stavljanje generičkih oftalmika u promet temelji se na članku 32. Zakona o lijekovima (što odgovara članku 10(3) Direktive 2001/83/EC) jer se ispitivanjem bioraspoloživosti ne može dokazati bioekvivalentnost, odnosno generički i referentni lijek ne mogu se izravno usporediti određivanjem koncentracije lijeka u krvi. Stoga se nazivaju hibridnim generičkim lijekovima.

Izuzeće za dostavljanje podataka o ekvivalenciji može biti prihvatljivo ako se radi o otopinama kao što su kapi za oko te je za dokazivanje terapijske ekvivalencije potrebno dokazati farmaceutsku ekvivalenciju. Terapijska ekvivalencija može biti dokazana ako se dokaže da su sastav ispitivanog lijeka (ista vrsta otopine te sadrži istu djelatnu tvar u istoj koncentraciji kao i referentni lijek) i dobiveni rezultati iz razvoja ispitivanog lijeka usporedivi s referentnim lijekom, uključujući fizičko-kemijska svojstva lijeka. Manje razlike u pomoćnim tvarima mogu biti zanemarive ukoliko je to na odgovarajući način opravdano.

6. LITERATURA

1) Pepić I. Problemi lokalne primjene pripravaka za oči. Farm Glas 2004;60:311-329.
2) Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. Exp Eye Res 2010;90:478-492.
3) Verstraelen J, Reichl S. Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP 1, 2, 4 and 5) Expression in Human Corneal Cell Culture Models and Animal Corneal Tissue. Mol Pharmaceut 2014;11:2160-2171.
4) Verstraelen J, Reichl S. Expression analysis of MDR1, BCRP and MRP3 transporter proteins in different in vitro and ex vivo cornea models for drug absorption studies. Int J Pharm 2013;441:765-775.
5) Reichl S, Kolln C, Hahne M, Verstraelen J. In vitro cell culture models to study the corneal drug absorption. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2011;7:559-578.
6) Mannermaa E, Vellonen KS, Urtti A. Drug transport in corneal epithelium and blood-retina barrier: Emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics. Adv Drug Deliv Rev 2006;58:1136-1163.
7) Gan L, Wang J, Jiang M i sur. Recent advances in topical ophthalmic drug delivery with lipid-based nanocarriers. Drug Discov Today 2013;18:290-297.
8) Hosoya K, Lee VHL, Kim KJ. Roles of the conjunctiva in ocular drug delivery: a review of conjunctival transport mechanisms and their regulation. Eur J Pharm Biopharm 2005;60:227-240.
9) Bron AJ, Tiffany JM. The meibomian glands and tear film lipids. Structure, function, and control. Adv Exp Med Biol 1998;438:281-295.
10) Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Vonn LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. Exp Eye Res 2004;78:347-360.
11) Tiffany JM. The normal tear film. Dev Ophthalmol 2008;41:1-20.
12) Kulovesi P, Rantamaki AH, Holopainen JM. Surface properties of artificial tear film lipid layers: effects of wax esters. Invest Ophthalmol Vis Sci 2014;55:4448-4454.

13) Yanez-Soto B, Mannis MJ, Schwab IR i sur. Interfacial phenomena and the ocular surface. Ocul Surf 2014;12:178-201.

14) Sigurdsson HH, Kirch J, Lehr CM. Mucus as barrier to lipophilic drugs. Int J Pharm 2013;453:56-64.

15) Yokoi N, Yamada H, Mizuska Y. Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci 2008;49:5319-5324.

16) Baeyens V, Gurny R. Chemical and physical parameters of tears relevant for the design of ocular drug delivery formulations. Pharm Acta Helv 1997;72:191-202.

17) Davies NM. Biopharmaceutical considerations in topical ocular drug delivery. Clin Exp Pharmacol Physiol 2000;27:558-562.

18) Baranowski P, Karolewicz B, Gajda M, Pluta J. Ophthalmic drug dosage forms: characterisation and research methods. ScientificWorldJournal 2014;861904.

19) Pepić I, Lovrić J, Cetina-Čižmek B, Reichl S, Filipović-Grčić J. Toward the practical implementation of eye-related bioavailability prediction models. Drug Discover Today 2014;19:31-44.

20) Urtti A. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev 2006;58:1131-1135.

21) Hornof M, Toropainen E, Urtti A. Cell culture models of the ocular barriers. Eur J Pharm Biopharm 2005;60:207-225.

22) Pepić I, Hafner A, Lovrić J, Filipović-Grčić. Modeli za ispitivanje permeabilnosti i predviđanje bioraspoloživosti lijeka u oku. Farm Glas 2012;68:177-205.

23) Hahne M, Zorn-Kruppa M, Guzman G. Prevalidation of a human cornea construct as an alternative to animal corneas for *in vitro* drug absorption studies. J Pharm Sci 2012; 101:2976-2988.

24) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Postupak odobravanja lijeka. Dostupno na: http://www.halmed.hr/Lijekovi/Informacije-o-lijekovima/Postupak-odobravanja-lijeka/. Datum pristupa 21.02.2018.

25) Zakon o lijekovima (Narodne novine, br. 76/13. i 90/14.).

26) European Commission (EC): The Notice to Applicants, Volume 2A Procedures for marketing authorisations, Chapter 1 Marketing Authorisation, December 2017. Dostupno na: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-2/vol2a_chap1_rev7_201712.pdf. Datum pristupa 21.02.2018.

27) Heads of Medicines Agencies (HMA): MR Index, Xalatan Eye Drops 0,005% W/V. Dostupno na: http://mri.cts-mrp.eu/Human/Product/Details/498. Datum pristupa 21.02.2018.

28) Heads of Medicines Agencies (HMA): MR Index, Chloramphenicol Pharmathen. Dostupno na: http://mri.cts-mrp.eu/Human/Product/Details/49715. Datum pristupa 21.02.2018.

29) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Baza lijekova, Mydrane. Dostupno na: http://halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Mydrane-02-mg-ml-31-mg-ml-10-mg-ml-otopina-za-injekciju/11719/. Datum pristupa 21.02.2018.

30) Heads of Medicines Agencies (HMA): MR Index, Moxifloxacin Hexal. Dostupno na: https://mri.cts-mrp.eu/Human/Downloads/DE_H_3817_001_PAR_1of4.pdf. Datum pristupa 25.03.2018.

31) European Medicines Agency (EMA): Procedural advice for users of the centralised procedure for generic/hybrid applications, EMEA/CHMP/225411/2006, 12.05.2017. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2009/10/WC500004018.pdf. Datum pristupa 21.02.2018.

32) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Baza lijekova. Dostupno na: http://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/. Datum pristupa 23.03.2018.

33) European Medicines Agency (EMA): O nama, EMA/338312/2016, rev. 1. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/hr_HR/document_library/Other/2016/08/WC500211862.pdf. Datum pristupa 03.04.2018.

34) European Medicines Agency (EMA): Note for guidance on the clinical requirements for locally applied, locally acting products containing known constituents, CPMP/EWP/239/95. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003687.pdf. Datum pristupa: 21.02.2018.

35) European Medicines Agency (EMA): Guideline on equivalence studies for the demonstration of terapeutic equivalence for products that are locally applied, locally acting in the gastrointestinal tract as addendum to the guideline on the clinical requirements for locally applied, locally acting products containing known constituents, CPMP/EWP/239/95 Rev. 1, 23.03.2017., draft. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2017/04/WC500225230.pdf. Datum pristupa 25.03.2018.

36) European Medicines Agency (EMA): Guideline on the investigation of bioequivalence, CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr**, 20.01.2010. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf. Datum pristupa 25.03.2018.

37) Euen BJ, Fadda HM. Community pharmacists'understanding and perceptions of FDA therapeutic equivalence standards. Res Social Adm Pharm 2018. https://doi.org/10.1016/j.sapharm.2018.03.005

38) European Medicines Agency (EMA): Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action, EMA/CHMP/CVMP/QWP/336031/2017, 10.08.2017. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2017/08/WC500233571.pdf. Datum pristupa 25.03.2018.

39) European Medicines Agency (EMA): Appendix IV of the Guideline on the Investigation on Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1): Presentation of Biopharmaceutical and Bioanalytical Data in Module 2.7.1., EMA/CHMP/600958/2010/Corr.*, 17.11.2011. Dostupno na:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/11/WC500117887.pdf. Datum pristupa 29.04.2018.

40) European Medicines Agency (EMA): Product-specific bioequivalence guidance. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000625.jsp&mid=WC0b01ac0580848f74. Datum pristupa 17.04.2018.

41) Cardot JM, Garcia-Arieta A, Paixao P, Tasevska I, Davit B. Implementing the additional strength biowaiver for generics: EMA recommended approaches and challenges for a US-FDA submission. Eur J Pharm Sci 2018;111:399-408.

42) International Council for Harmonisation (ICH): New ICH M9 Guideline in development on Biopharmaceutics Classification System (BCS)-based Biowaivers. Final endorsed Concept Paper, 07.10.2016. Dostupno na: http://www.ich.org/ichnews/newsroom/read/article/new-ich-m9-guideline-in-development-on-biopharmaceutics-classification-system-bcs-based-biowaivers.html. Datum pristupa 08.04.2018.

43) Pravilnik o farmakovigilanciji (Narodne novine, br. 83/13.). Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_07_83_1797.html. Datum pristupa 08.04.2018.

44) European Medicines Agency (EMA): Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modifies release dosage forms, EMA/CPMP/EWP/280/96 Corr1, 20.11.2014. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/11/WC500177884.pdf. Datum pristupa 21.04.2018.

45) European Medicines Agency (EMA): Guideline on quality of oral modified release products, EMA/CHMP/QWP/428693/2013, 20.03.2014. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/07/WC500170465.pdf. Datum pristupa 21.04.2018.

46) Lu Y, Kim S, Park K. In vitro-in vivo correlation: Perspectives on model development. Int J Pharm 2011;418:142-148.

47) Shen J, Burgess DJ. *In vitro-in vivo* correlation for complex non-oral drug products: Where do we stand?. J Control Release 2015;2019:644-651.

48) European Medicines Agency (EMA): Concept paper on the development of a guideline on quality and equivalence of topical products, EMA/CHMP/QWP/558185/2014, 02.12.2014. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/04/WC500186088.pdf. Datum pristupa 25.03.2018.

49) European Medicines Agency (EMA): Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, EMA/CHMP/SWP/2145/2000 Rev. 1, Corr. 1*, 22.10.2015. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/11/WC500197321.pdf. Datum pristupa 21.04.2018.

50) European Medicines Agency (EMA): Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches, EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/450091/2012, 15.12.2016. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2017/03/WC500224306.pdf. Datum pristupa 21.04.2018.

51) European Commission (EC): European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing (EURL ECVAM). Dostupno na: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/. Datum pristupa 22.04.2018.

52) ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, EMA/CPMP/ICH/286/1995, 12/2009. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002720.pdf. Datum pristupa 22.04.2018.

53) UREDBA KOMISIJE (EU) 2017/735 od 14. veljače 2017. o izmjeni Priloga Uredbi (EZ) br. 440/2008 o utvrđivanju ispitnih metoda u skladu s Uredbom (EZ) br. 1907/2006 Europskog parlamenta i Vijeća o registraciji, evaluaciji, autorizaciji i ograničavanju kemikalija (REACH) radi prilagodbe tehničkom napretku. Dostupno na: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32017R0735&from=DE. Datum pristupa 25.04.2018.

54) OECD Guideline for the testing of chemicals: Acute eye irritation/corrosion, 405, 09.10.2017. Dostupno na: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788?page=4. Datum pristupa 25.04.2018.

55) OECD Guideline for the testing of chemicals: Bovine corneal opacity and permeability test method for identifying i) chemicals inducing serious eye damage and ii) chemicals nor requiring classification for eye irritation or serious eye damage, 437, 09.10.2017.

56) Wilson SL, Ahearne M, Hopkinson A. An overview of current techniques for ocular toxicity testing. Toxicology 2015;327:32-46.

57) OECD Guideline for the testing of chemicals: Isolated chicken eye test method for identifying i) chemicals inducing serious eye damage and ii) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage, 438, 09.10.2017.

58) OECD Guideline for the testing of chemicals: Fluorescein leakage test method for identifying ocular corrosives and severe irritants, 460, 09.10.2017.

59) OECD Guideline for the testing of chemicals: Short time exposure *in vitro* test method for identifying i) chemicals inducing serious eye damage and ii) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage, 491, 09.10.2017.

60) OECD Guideline for the testing of chemicals: Reconstructed human cornea-like epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage, 492, 09.10.2017.

61) OECD: Guidance Document on an Integrated Approach on Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation No. 263., 20.07.2017. Dostupno na: http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2017)15&doclanguage=en. Datum pristupa 24.04.2018.

62) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Farmakopeja. Dostupno na: http://www.halmed.hr/Lijekovi/Farmakopeja/. Datum pristupa 05.05.2018.

63) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Hrvatska farmakopeja (HRF) izdanje 4.4., 2018.

64) Chambers WA. Ophthalmic Generics: are they really the same. Ophthalmology 2012;119:1095-1096.

65) The British Pharmacopoeia Commission Secretariat of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA): British Pharmacopoeia 2018. Volume III:47, 528-529.

66) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume IV:6510-6516.

67) Lim C, Kim D, Sim T i sur. Preparation and characterization of a lutein loading nanoemulsion system for ophthalmic eye drops. J Drug Deliv Sci Technol 2016;36:168-174.

68) Huml RA, Rich C, Chance K. Key challenges to US topical ocular drug development. Regul Focus 2009;14:47-52.

69) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Sadržaj i način prilaganja informacija o lijeku. Dostupno na: http://halmed.hr/Lijekovi/Upute-za-podnositelje-zahtjeva/Sadrzaj-i-nacin-prilaganja-informacija-o-lijeku-u-nacionalnom-postupku/. Datum pristupa 19.05.2018.

70) Pravilnik o davanju odobrenja za stavljanje lijeka u promet (Narodne novine, br. 83/13.)

71) European Medicines Agency (EMA): Questions and answers on generic medicines, EMA/393905/2006 Rev. 2, 22.11.2012. Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Medicine_QA/2009/11/WC500012382.pdf. Datum pristupa 19.05.2018.

72) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Farmakovigilancija. Dostupno na: http://www.halmed.hr/Farmakovigilancija/. Datum pristupa 20.05.2018.

Popis skraćenica

BCS	Biofarmaceutski sustav klasifikacije djelatnih tvari (engl. *Biopharmaceutics Classification System)*
BP	Britanska farmakopeja (engl. *British Pharmacopoeia*)
CHMP	Povjerenstvo za humane lijekove (engl. *Committee for Medicinal Products for Human Use*)
CMDh	Koordinacijska grupa za postupak međusobnog priznavanja i decentralizirani postupak za humane lijekove (engl. *Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedure, Human Medicinal Products*)
CP	Centralizirani postupak (engl. *Centralized Procedure*)
CTD	Zajednički tehnički dokument (engl. *Common Technical Document*)
DCP	Decentralizirani postupak (engl. *Decentralized Procedure*)
EDQM	Europsko ravnateljstvo za kakvoću lijekova i zdravstvenu skrb (engl. *European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare*)
EEA	Europski gospodarski prostor (engl. *European Economic Area*)
EMA	Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*)
EURL ECVAM	Referentni laboratorij Europske unije za alternative ispitivanju na životinjama (engl. *European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing*)
HALMED	Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode
ICCVAM	Međuagencijski koordinacijski odbor za validaciju alternativnih metoda (engl. *Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods*)
ICH	Međunarodna konferencija o usklađivanju tehničkih zahtjeva za lijekove (engl. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, skraćeno *International Council for Harmonisation)*
IVIVC	*In vitro-in vivo* korelacija (engl. *In Vitro-In Vivo Correlation*)
MRP	Postupak međusobnog priznavanja (engl. *Mutual Recognition Procedure*)
NP	Nacionalni postupak (engl. *National Procedure*)
OECD	Organizacija za gospodarsku suradnju i razvoj (engl. *Organisation for Economic Co-operation and Development)*
Ph. Eur.	Europska farmakopeja (engl. *European Pharmacopoeia*)

PRAC	Povjerenstvo za ocjenu rizika na području farmakovigilancije (engl. *Pharmacovigilance Risk Assessment Committee*)
PSUR	Periodičko izvješće o neškodljivosti lijeka (engl. *Periodic Safety Update Report*)
UN GHS	Globalni harmonizirani sustav klasifikacije i označavanja kemikalija (engl. *United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)*
USP	Američka farmakopeja (engl. *The United States Pharmacopeia*)