

# ВЕДОМОСТИ

## НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 8, № 1

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции журнала.

К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала [www.vedomostincesmp.ru](http://www.vedomostincesmp.ru)

Все статьи проходят рецензирование двумя рецензентами. Используется модель двойного слепого рецензирования.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается. Ускоренная публикация не допускается.

Труды заочных конференций не публикуются.

ISSN 1991–2919

**ВЕДОМОСТИ**  
**НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ**  
**СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

**РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ**  
**НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

**Том 8, № 1**

---

**Январь – март 2018**

**The BULLETIN**  
**of the Scientific Centre for Expert Evaluation**  
**of Medicinal Products**

**Research and practice peer-reviewed journal**

**V. 8, No. 1**

---

**January – March 2018**

«Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» – это рецензируемый научно-практический журнал, который ориентирован на разработчиков и производителей лекарственных средств, работников контрольно-разрешительной системы и государственного надзора в сфере обращения лекарственных средств, сотрудников научно-исследовательских институтов, преподавателей и студентов медицинских, фармацевтических ВУЗов, врачей и провизоров.

К рассмотрению в журнале принимаются научные статьи, тематика которых соответствует следующим группам специальностей:

03.01.00 Физико-химическая биология,

14.01.00 Клиническая медицина,

14.03.00 Медико-биологические науки,

14.04.00 Фармация.

#### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:**

**Олефир Юрий Витальевич**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник

#### **ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:**

**Меркулов Вадим Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор

**Романов Борис Константинович**, доктор медицинских наук, доцент

#### **ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:**

**Корсун Лилия Владимировна**, кандидат биологических наук

#### **НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:**

**Молчан Нина Валерьевна**, кандидат фармацевтических наук

#### **РЕДАКТОР:**

**Калиничев Сергей Анатольевич**, кандидат фармацевтических наук

#### **РЕДАКТОР ПЕРЕВОДА:**

**Губарева Ольга Николаевна**, кандидат филологических наук

#### **РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

**Аляутдин Ренад Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор

**Борисевич Игорь Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор

**Бунятян Наталья Дмитриевна**, доктор фармацевтических наук, профессор

**Горячев Дмитрий Владимирович**, доктор медицинских наук

**Дурнев Андрей Дмитриевич**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Калаев Владислав Николаевич**, доктор биологических наук, профессор

**Ковалева Елена Леонардовна**, доктор фармацевтических наук

**Макарова Марина Николаевна**, доктор медицинских наук

**Попов Василий Николаевич**, доктор биологических наук, профессор

**Прокофьев Алексей Борисович**, доктор медицинских наук, профессор

**Саканян Елена Ивановна**, доктор фармацевтических наук, профессор

**Сюбаев Рашид Даутович**, доктор медицинских наук

**Сычев Дмитрий Алексеевич**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Ягудина Роза Исмаиловна**, доктор фармацевтических наук, профессор

#### **РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:**

**Алешкин Владимир Андрианович**, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

**Бобизода Гуломкодир Мукамал**, доктор биологических наук, доктор фармацевтических наук, профессор (Душанбе, Таджикистан)

**Звартау Эдвин Эдуардович**, доктор медицинских наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**Кукес Владимир Григорьевич**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

**Лепяхин Владимир Константинович**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

**Муляр Александр Георгиевич**, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

**Петров Владимир Иванович**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор (Волгоград, Россия)

**Свистунов Андрей Алексеевич**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

**Удут Владимир Васильевич**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Томск, Россия)

**Хохлов Александр Леонидович**, доктор медицинских наук, профессор (Ярославль, Россия)

**Шимановский Николай Львович**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

**Яворский Александр Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор (Пушино, Россия)

“The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” is a peer-reviewed scientific and practical journal which is primarily addressed to drug developers and manufacturers, control and permission system officers, state regulators in the sphere of medicinal products circulation, staff members of scientific research institutes, lecturers and students of medicine and pharmacy faculties, doctors and pharmacists.

Articles submitted for publication in the journal should pertain to one of the following specialist fields:  
03.01.00 Physico-Chemical Biology, 14.03.00 Medico-Biological Sciences,  
14.01.00 Clinical Medicine, 14.04.00 Pharmacy.

#### EDITOR-IN-CHIEF:

**Yuri V. Olefir**, Doctor of Medical Sciences, Senior Research Associate

#### DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF:

**Vadim A. Merkulov**, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Boris K. Romanov**, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor

#### EXECUTIVE EDITOR:

**Lilia V. Korsun**, Candidate of Biological Sciences

#### SCIENCE EDITOR:

**Nina V. Molchan**, Candidate of Pharmaceutical Sciences

#### EDITOR:

**Sergey A. Kalinichev**, Candidate of Pharmaceutical Sciences

#### TRANSLATION EDITOR:

**Olga N. Gubareva**, Candidate of Philological Sciences

#### EDITORIAL BOARD:

**Renad N. Alyautdin**, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Igor V. Borisevich**, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Natalia D. Bunyatyan**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

**Dmitry V. Goryachev**, Doctor of Medical Sciences

**Andrey D. Durnev**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Vladislav N. Kalaev**, Doctor of Biological Sciences, Professor

**Elena L. Kovaleva**, Doctor of Pharmaceutical Sciences

**Marina N. Makarova**, Doctor of Medical Sciences

**Vasily N. Popov**, Doctor of Biological Sciences, Professor

**Alexey B. Prokofiev**, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Elena I. Sakanyan**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

**Rashid D. Syubaev**, Doctor of Medical Sciences

**Dmitry A. Sychev**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor

**Roza I. Yagudina**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

#### EDITORIAL COUNCIL:

**Vladimir A. Aleshkin**, Doctor of Biological Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Gulomkudir M. Bobizoda**, Doctor of Biological Sciences, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor (Dushanbe, Tajikistan)

**Edwin E. Zvartau**, Doctor of Medical Sciences, Professor (Saint Petersburg, Russia)

**Vladimir G. Kukes**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Vladimir K. Lepakhin**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Alexander G. Mulyar**, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Vladimir I. Petrov**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Volograd, Russia)

**Andrey A. Svistunov**, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Vladimir V. Udut**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Tomsk, Russia)

**Alexander L. Khokhlov**, Doctor of Medical Sciences, Professor (Yaroslavl, Russia)

**Nikolay L. Shimanovsky**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

**Alexander N. Yavorsky**, Doctor of Medical Sciences, Professor (Pushchino, Russia)

# ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 8, № 1 2018

## ОБЗОРЫ

- Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев, А. П. Соловьева, И. В. Кокин, Н. Н. Еременко**  
Экспертные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов, являющихся аналогами эндогенных соединений, в рамках российского законодательства и международного права . . . . . 6
- Д. В. Горячев, Ю. В. Чернова, Н. Е. Уварова**  
Концепция сложных небιологических лекарственных средств при разработке воспроизведенных препаратов . . . . . 11
- О. А. Демидова, Е. В. Ших**  
Анальгетический потенциал агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В в лечении диабетической полинейропатии . . . . . 17
- А. В. Тихомирова, Д. В. Горячев, В. А. Меркулов, И. В. Лысикова, А. И. Губенко, А. И. Зебрев, А. П. Соловьева, Д. П. Ромодановский, Е. В. Мельникова**  
Доклинические и клинические аспекты разработки биомедицинских клеточных продуктов . . . . . 23
- Е. В. Яковлева**  
Надлежащая дистрибуторская практика: модернизация системы качества дистрибуции лекарственных средств в России . . . . . 36

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- К. Л. Крышень, А. Е. Кательникова, А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров**  
Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований . . . . . 44
- А. С. Осипов, О. А. Попова, С. Е. Милкина, Т. Н. Грецкая, А. И. Сулименкова**  
Применение хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа парабенов . . . . . 56
- В. И. Середенко, А. В. Королев, Л. Г. Маслов, Т. Ю. Белова, Н. Н. Долгушина**  
Сравнительный анализ требований к оценке качества лекарственных препаратов, содержащих этинилэстрадиол и левоноргестрел . . . . . 61

Свидетельство о регистрации средства массовой информации: ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.

**Учредитель:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Адрес редакции:** 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2  
**E-mail:** vedomosti@exptmed.ru

**Тел.:** +7 (495) 234-61-04, доб. 63-33, 63-34

Журнал включен в наукометрическую базу данных Science Index

© ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2018

Подписано в печать: 14.02.2018

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 8,25

Бумага мелованная. Печать офсетная

**Издатель:** ООО «Ваше Цифровое Издательство»

**Юридический адрес:** 109263, Москва, ул. Шкулева, д. 9, к. 2

**E-mail:** isupport@neicon.ru

**Тел./факс:** +7 (499) 754-99-93

**Сайт:** <http://elpub.ru/>

# THE BULLETIN OF THE SCIENTIFIC CENTRE FOR EXPERT EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS

CONTENTS

Volume 8, No. 1 2018

## REVIEWS

- D. P. Romodanovsky, D. V. Goryachev, A. P. Solovieva, I. V. Kokin, N. N. Eremenko**  
Expert Approaches to Equivalence Evaluation of Drugs — Analogues of Endogenous Compounds  
as Consistent with the Russian Legislation and International Law . . . . . 6
- D. V. Goryachev, Yu. V. Chernova, N. E. Uvarova**  
Non-Biological Complex Drugs Concept in Generic Drugs Development . . . . . 11
- O. A. Demidova, E. V. Shikh**  
Analgesic Potential of Purine Receptor Agonists and B Vitamins  
in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy . . . . . 17
- A. V. Tikhomirova, D. V. Goryachev, V. A. Merkulov, I. V. Lysikova, A. I. Gubenko, A. I. Zebrev, A. P. Solovieva,  
D. P. Romodanovsky, E. V. Melnikova**  
Preclinical and Clinical Aspects of the Development of Biomedical Cell Products . . . . . 23
- E. V. Yakovleva**  
Good Distribution Practice: Modernisation of the Medicines Distribution System in Russia . . . . . 36

## ORIGINAL ARTICLES

- K. L. Kryshen, A. E. Katelnikova, A. A. Muzhikyan, M. N. Makarova, V. G. Makarov**  
Regulatory and Methodological Aspects of Studying Allergenic Properties of New Medicines  
at the Preclinical Stage . . . . . 44
- A. S. Osipov, O. A. Popova, S. E. Milkina, T. N. Gretskaia, A. I. Sulimenkova**  
The Use of a Chromatographic Column Packed with Amide Sorbent for the Analysis of Parabens . . . . . 56
- V. I. Seredenko, A. V. Korolev, L. G. Maslov, T. Yu. Belova, N. N. Dolgushina**  
Comparative Analysis of Requirements for Quality Control of Ethinyl Estradiol  
and Levonorgestrel Containing Medicinal Products . . . . . 61

Mass media registration certificate: ПИ № ФС77-53169  
of March 14, 2013

**Founder:** Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre  
for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of  
Health of the Russian Federation

**Postal address:** 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051

**E-mail:** vedomosti@expmed.ru

**Tel.:** +7 (495) 234-61-04, ext. 63-33, 63-34

The journal is included in the Science Index scientometric  
database

© FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, 2018

Passed for printing: 14 February 2018

Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8.25

Enamel-paper. Offset printing

**Publisher:** «Your Digital Publishing» LLC

**Registered office:** 9/2 Shkuleva street, Moscow  
109263, Russian Federation

**E-mail:** isupport@neicon.ru

**Tel./fax:** +7 (499) 754-99-93

**Website:** <http://elpub.ru/>

## Экспертные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов, являющихся аналогами эндогенных соединений, в рамках российского законодательства и международного права

\* Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев, А. П. Соловьева, И. В. Кокин, Н. Н. Еременко

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** Показано, что исследование биоэквивалентности воспроизведенных препаратов, действующие вещества которых эквивалентны эндогенным соединениям, присутствующим в организме человека в фоновых концентрациях, является сложной задачей и требует особого регуляторного подхода по сравнению с другими препаратами. При отсутствии общедоступных научных данных в отношении того, что прием препарата может повышать общее содержание эндогенного вещества, проведение исследования биоэквивалентности может стать экономически нецелесообразным в сравнении со стандартным сравнительным клиническим исследованием, так как потребуются сначала подтвердить значимость повышения его концентрации в плазме крови. Проанализированы требования российского законодательства и международного права к оценке лекарственных препаратов, являющихся аналогами эндогенных соединений, таких как витамины, гормоны, ферменты, аминокислоты, соли. Показано, что для получения объективных результатов исследования биоэквивалентности необходимо проводить коррекцию на эндогенную концентрацию вещества в плазме крови и контроль его поступления с пищей. Обобщен опыт проведения экспертизы ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в отношении препаратов — аналогов эндогенных соединений. Выявлены наиболее частые ошибки при подготовке протоколов исследований. Обоснована необходимость индивидуального подхода для каждого конкретного препарата, так как эталонного решения проблемы фонового содержания эндогенных соединений не существует. Выработаны некоторые ключевые положения, которые помогут минимизировать влияние фоновых концентраций исследуемых веществ в организме на результаты оценки биоэквивалентности. Определены основные пути для разрешения проблем, сформулированных на основании проведенного анализа и опыта экспертизы.

**Ключевые слова:** биоэквивалентность; исследования биоэквивалентности; сравнительные фармакокинетические клинические исследования *in vivo*; эндогенные соединения; эндогенные лекарственные препараты

**Для цитирования:** Ромодановский ДП, Горячев ДВ, Соловьева АП, Кокин ИВ, Еременко НН. Экспертные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов, являющихся аналогами эндогенных соединений, в рамках российского законодательства и международного права. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 6–10. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-6-10

\* **Контактное лицо:** Ромодановский Дмитрий Павлович; Romodanovsky@expmed.ru

## Expert Approaches to Equivalence Evaluation of Drugs — Analogues of Endogenous Compounds as Consistent with the Russian Legislation and International Law

\* D. P. Romodanovsky, D. V. Goryachev, A. P. Solovieva, I. V. Kokin, N. N. Eremenko

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** The article demonstrates that bioequivalence studies of generic drugs whose active substances are analogues of endogenous compounds found in the human body in natural concentrations present a major challenge as compared to other products and call for a specific regulatory approach. In the absence of available scientific data demonstrating that the product intake can increase the general concentration of the endogenous compound, conducting bioequivalence studies can be economically impractical in contrast to a standard comparative clinical trial, because first it would be necessary to demonstrate a significant increase in the compound concentration in blood plasma. The article analyses Russian legislation and international law with respect to evaluation of medicinal products that are analogues of endogenous compounds, i.e. vitamins, hormones, enzymes, amino acids and salts. It was demonstrated that correction for endogenous compound concentration in blood plasma and control of its dietary intake are required in order to obtain accurate bioequivalence results. The article summarises the experience gained at the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of the Russian Federation with respect to evaluation of medicines that are analogues of endogenous compounds, and outlines the most frequent mistakes in testing protocols. It substantiates the need for an individual approach tailored for each particular product, since there is no single solution to the problem of background concentration of endogenous compounds. The authors of the article developed some key solutions that can help minimize the impact of background

concentrations of test samples on the results of bioequivalence assessment. Based on the results of the analysis performed and accumulated experience the authors of the article suggested some ways to resolve the problem.

**Key words:** bioequivalence; bioequivalence studies; comparative pharmacokinetic clinical studies *in vivo*; endogenous compounds; endogenous drugs

**For citation:** Romodanovsky DP, Goryachev DV, Solovieva AP, Kokin IV, Eremenko NN. Expert Approaches to Equivalence Evaluation of Drugs — Analogues of Endogenous Compounds as Consistent with the Russian Legislation and International Law. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 6–10. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-6-10

\* **Contact person:** Romodanovsky Dmitry Pavlovich; Romodanovsky@expmed.ru

В соответствии с требованиями Федерального закона Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 г. (далее — Закон) для регистрации воспроизведенных препаратов (за исключением препаратов, указанных в пунктах 9 и 10 статьи 18 Закона) необходимо провести либо исследование терапевтической эквивалентности, либо исследование биоэквивалентности [1].

Изучение препаратов — аналогов эндогенных соединений осложняется наличием в организме их эндогенного содержания (например, ионы, витамины, гормоны и т.д.). Эндогенные концентрации могут быть постоянными или колебаться в разных пределах (например, из-за различных эндогенных процессов, циркадных ритмов и др.), что может приводить к изменению параметров фармакокинетики таких лекарственных препаратов. Данная дополнительная вариабельность фармакокинетики имеет критичное значение в исследованиях биоэквивалентности, которые изначально предполагают наличие 20 % различий между сравниваемыми препаратами [2, 3].

Согласно действующему законодательству отдельных требований к лекарственным препаратам — аналогам эндогенных веществ не предъявляется, однако существуют определенные сложности изучения таких препаратов и их регистрации.

Подобное игнорирование значимой группы веществ характерно для стран с низким уровнем контроля и фармаконадзора за оборотом лекарственных средств, где регистрация даже неоригинальных биологических препаратов проводится на основании требований значительно меньших, чем предусмотрено ведущими регуляторными органами [4].

Целью данной работы является анализ проблем, связанных с изучением и государственной регистрацией лекарственных препаратов — аналогов эндогенных соединений в Российской Федерации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе проанализированы данные зарубежной и отечественной литературы в отношении исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов — аналогов эндогенных соединений.

Проведен анализ руководств Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) и Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) по проведению оценки лекарственных препаратов, являющихся аналогами эндогенных веществ.

Обобщен опыт проведения экспертизы ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в отношении препаратов — аналогов эндогенных соединений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно проведенному анализу регуляторных требований в США, FDA рекомендует определять эндогенную концентрацию вещества в плазме крови на каждом этапе исследования и вычитать ее из общей концентрации измеряемого соединения (проводить коррекцию на эндогенную концентрацию) для каждого субъекта. Если соединение синтезируется в организме и эндогенная концентрация имеет вариабельность, то рекомендуется проводить несколько измерений исходных концентраций эндогенного соединения и учитывать среднюю эндогенную концентрацию. Если эндогенное соединение, помимо этого, поступает с пищей, необходим строгий контроль содержания соединения в пище до начала исследования и на всем его протяжении. Если коррекция на эндогенную концентрацию приводит к отрицательному значению, это значение необходимо принимать за «ноль» до расчета скорректированной площади под кривой «концентрация–время». Статистическую обработку данных следует проводить и для скорректированных, и для нескорректированных данных [5].

Кроме того, в США имеются отдельные руководства по проведению исследований биоэквивалентности некоторых препаратов, содержащих в качестве действующих веществ аналоги эндогенных соединений (прогестерон, преднизолон, тестостерон, левотироксин, калия хлорид и пр.), в которых описаны отдельные особенности дизайна исследований [6–12].

Согласно правилам проведения исследований биоэквивалентности ЕМА [13] для лекарственных препаратов на основе веществ, которые содержатся в организме человека в физиологических условиях, необходимо определять параметры фармакокинетики максимальной концентрации и площади под кривой «концентрация–время» ( $C_{max}$  и  $AUC$ ) с поправкой на базовую эндогенную концентрацию.

В случае отсутствия общедоступных научных данных в отношении того, что прием препарата повышает общее содержание эндогенного вещества, следует подтвердить это либо в пилотном исследовании, либо в рамках одного из этапов двухэтапного исследования биоэквивалентности. При этом следует по возможности изучить различные дозировки референтного препарата, чтобы определить зависимость «доза–концентрация» (так как в случае нелинейности фармакокинетики лекарственно-

го вещества и высокой эндогенной концентрации может быть ошибочно продемонстрирована биоэквивалентность для различных дозировок). В случае приемлемого профиля безопасности допускается применение сверхтерапевтических доз.

Метод коррекции параметров фармакокинетики на эндогенную концентрацию должен быть обоснован и подробно описан в протоколе исследования биоэквивалентности. Если не предусмотрено иное, стандартным методом признано вычитание эндогенной концентрации: вычитается либо средняя концентрация эндогенного вещества (в каждой временной точке), определенная до приема исследуемого препарата с дальнейшим расчетом  $C_{\max}$  и  $AUC$ , либо средняя  $AUC_{\text{энд}}$  (площадь под кривой «эндогенная концентрация—время»). Если содержание вещества после приема препарата существенно (не менее чем в два раза) превышает базовую эндогенную концентрацию, поправка на эндогенную концентрацию может не потребоваться. Вместе с этим необходимо тщательно выбирать период «отмывки», так как следует учитывать как эндогенную концентрацию соединения (с его возможной вариацией), так и период полувыведения лекарственного вещества, содержащегося в препарате.

Аналогичные требования указаны в нормативных документах Евразийского экономического союза (ЕАЭС), вступивших в силу с 2016 г. и максимально гармонизированных с европейскими [14].

Согласно данным отечественной и зарубежной литературы [2, 3, 15, 16] для каждого препарата, содержащего конкретное действующее вещество, аналогичное эндогенному, необходим индивидуальный подход, так как нет эталонного решения проблемы фонового содержания эндогенных соединений, но выработаны некоторые ключевые положения, которые следует в обязательном порядке учитывать при проведении исследований биоэквивалентности препаратов — аналогов эндогенных соединений.

Стоит отметить, что имеются сведения о невысоких значениях эндогенной концентрации урсодезоксихолевой кислоты по сравнению с максимальными концентрациями после приема препаратов, содержащих урсодезоксихолевую кислоту [16], что также подтверждается результатами исследований биоэквивалентности препаратов, проходивших экспертизу в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Эндогенные концентрации составляли примерно 2,2 % от  $C_{\max}$  исследуемых препаратов, что говорит в пользу отсутствия необходимости применения метода вычитания эндогенной концентрации при расчетах.

Также стоит отметить, что для препаратов, выводящихся из организма главным образом с мочой, почечный клиренс является полезным фармакокинетическим параметром, отражающим как концентрацию соединения в плазме крови, так и экскрецию. Если почечный клиренс сильно меняется вместе с дозой, то кинетика выведения дозозависима [17].

У многих препаратов — аналогов эндогенных соединений наблюдается нелинейная фармакокинетика, это означает, что различные дозировки мо-

гут оказаться ошибочно биоэквивалентны. Поэтому для препаратов, которые после приема приводят к незначительному увеличению концентрации по отношению к эндогенной концентрации (например,  $\leq 20\%$ ), проведение исследования биоэквивалентности не имеет смысла, и в данном случае целесообразно провести сравнительные клинические исследования [18].

В ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России был проведен ретроспективный анализ исследований препаратов мелатонина и сформулированы рекомендации, которые следует учитывать при планировании исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов [2]:

- исследование должно проводиться в светлое время суток;
- освещенность помещения, в котором находятся добровольцы, должна быть одинаковой на всем протяжении отбора проб крови;
- необходимо соблюдать диету с невысоким содержанием триптофана на всем протяжении исследования;
- мелатонин имеет короткий период полувыведения (в среднем 45 мин), что позволяет проводить забор крови в исследовании в течение 12 ч;
- эндогенные концентрации мелатонина рекомендуются определять у каждого добровольца перед каждым этапом приема исследуемых препаратов, возможен прием исследуемых препаратов в максимальной суточной дозе 6 мг, но поправка на эндогенную концентрацию все равно рекомендуется;
- забор крови для определения эндогенной концентрации мелатонина желателно проводить в тот же временной промежуток дня, что и после приема препаратов (рекомендуется выбирать аналогичные точки забора).

Также был проведен анализ других препаратов-аналогов эндогенных соединений (например, левокарнитин, колекальциферол и др.). Наиболее частыми ошибками при подготовке протоколов исследований были следующие:

- не учитывалось, что препарат является аналогом эндогенного вещества;
- не учитывались фармакокинетические и фармакодинамические особенности действующих веществ;
- не учитывалось, что эндогенная концентрация может варьировать в течение суток и исказить оценку исследуемых ФК-параметров;
- не была обоснована длительность забора крови для определения эндогенной концентрации;
- неполно описан метод поправки на эндогенный уровень.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отношении лекарственных препаратов — аналогов эндогенных соединений в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют нормативно-правовые акты, которые регулируют разработку протоколов и правила проведения сравнительных фармакокинетических исследований *in vivo* для таких препаратов.

В данной статье изложены ключевые проблемы изучения таких препаратов. В целом для каждого препарата — аналога эндогенного соединения следует всесторонне оценивать всю имеющуюся информацию, так как недостаточная оценка может привести к заключению о биоэквивалентности препаратов, когда на самом деле они небоэквивалентны, и наоборот.

Однако могут быть рекомендованы некоторые общие подходы:

- дизайн исследования биоэквивалентности должен быть максимально стандартизованным во всех отношениях (дни и временные диапазоны проведения исследования, режим нахождения в стационаре и амбулаторный режим, время забора образцов крови с минимальными возможными отклонениями и др.), и особенно в отношении добровольцев (максимально стандартизованы по возрасту, полу, массе тела и диете);

- потребление эндогенных соединений должно строго контролироваться, необходимо учитывать циркадные ритмы;

- при разработке дизайна необходимо принимать во внимание гомеостатические механизмы, регулирующие концентрацию эндогенных соединений, включая механизмы выведения соединений;
- длительность и точки забора крови для определения эндогенной концентрации в идеале должны соответствовать таковым после приема исследуемых препаратов;

- необходимо подробно описывать метод поправки на эндогенную концентрацию или обосновать отсутствие необходимости в коррекции;

- в некоторых случаях можно рассматривать дизайн в сверхтерапевтических дозах, чтобы в большей степени разграничить эндогенную концентрацию от концентрации, обусловленной приемом препарата;

- необходимо учитывать линейность фармакокинетики, так как зачастую такие препараты обладают нелинейной фармакокинетикой в диапазоне терапевтических доз;

- перед подготовкой протокола исследования биоэквивалентности необходимо тщательно изучить предыдущий опыт проведения исследований биоэквивалентности или других фармакокинетических исследований *in vivo* планируемого к изучению препарата, что позволит избежать многих ошибок при разработке дизайна исследования. В случае отсутствия такого опыта рекомендуется проводить пилотные исследования.

Стоит отметить, что в настоящее время активно ведутся работы по совершенствованию порядков формирования перечней лекарственных препаратов для медицинского применения [19]. В связи с этим становится возможным внедрение списка препаратов, которые являются аналогами эндогенных веществ (табл. 1), и предложение конкретных рекомендаций по проведению исследований биоэквивалентности для них, по примеру рекомендаций для препаратов мелатонина, приведенных в настоящей статье.

*Авторы не заявили о конфликте интересов  
The authors did not declare a conflict of interest*

Таблица 1

### НЕПОЛНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ — АНАЛОГОВ ЭНДОГЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Гормоны	Ионы	Катехоламины	Прочие
Тироксин, тестостерон, эстроген, прогестерон, стероидные гормоны, ФСГ, мелатонин, ЛГ, ТГ, тиреотропин-релизинг-гормон, антидиуретический гормон, гормон роста, АКТГ, кортиколиберин, паратиреоидный гормон, эритропоэтин, инсулин, глюкагон	Калий, кальций, магний, железо, алюминий, цинк, натрий	Адреналин, норадреналин, дофамин	Панкреатин, витамины, аминокислоты, глюкоза, карнитин, урсодезоксихолевая кислота

*Примечание.* ФСГ — фолликулостимулирующий гормон; ЛГ — лютеинизирующий гормон; ТГ — тиреотропный гормон; АКТГ — адренортикотропный гормон.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation of 12.04.2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)] Available from: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350)
2. Разработка гармонизированных с международными нормами и подходами научных и технических руководств в сфере обращения лекарственных средств, в том числе по разработке и исследованиям лекарственных средств. Отчет о НИР (промежуточный). ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; рук.: Олефир ЮВ, Меркулов ВА; исполн.: Бондарев ВП, Васильев АН. М.; 2015. 341 с. № ГР 115111740006. Деп. в ЦИТИС 16.02.2016, № ИКРБС 216021650026. [Development of scientific and technical guidelines harmonized with international norms and approaches in the field of medicinal products circulation, including the development and research of medicinal products. Research report (intermediate). FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia; advisors: Olefir YuV, Merkulov VA; prepared by: Bondarev VP, Vasiliev AN. Moscow, 2015. 341 p. No. SR 115111740006. Deposited in CITIS on 16.02.2016, No. IKRBS 216021650026 (In Russ.)]
3. Разработка и совершенствование научно-методических критериев экспертной оценки, стандартизации и принципов планирования, проведения и оформления результатов исследований отдельных групп лекарственных средств. Отчет о НИР (промежуточный). ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; рук.: Бунятян НД, Бондарев ВП, Васильев АН; исполн.: Волгин АР, Кузнецов АЛ. М.; 2015. 758 с. № ГР 115111740005. Деп. в ЦИТИС 16.02.2016, № ИКРБС 216021650030. [Development and improvement of methodological criteria for the expert assessment, standardization and principles of planning, conducting and documenting the research results of individual groups of medicinal products. Research report (intermediate). FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia; advisors: Bunyatyan ND, Bondarev VP, Vasiliev AN; prepared by: Volgin AR, Kuznetsov AL. Moscow, 2015. 758 p. No. SR 115111740005. Deposited in CITIS on 16.02.2016, No. IKRBS 216021650030 (In Russ.)]

4. Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Алпатова НА, Медуницын НВ, Киселевский МВ, Лысыкова СЛ. и др. Проблемы регистрации биологических неоригинальных лекарственных препаратов. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2014; (4): 24–36. [Soldatov AA, Avdeeva Zhl, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Kiselevsky MV, Lysikova SL, et al. Problems of registration of biological non-original drugs. BИOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment 2014; (4): 24–36 (In Russ.)]
5. Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA. United States Food and Drug Administration. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM377465.pdf>
6. Draft Guidance on Progesterone. United States Food and Drug Administration. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM209294.pdf>
7. Draft Guidance on Ethinyl Estradiol; Norethindrone. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM199639.pdf>
8. Draft Guidance on Prednisolone Sodium Phosphate. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm089506.pdf>
9. Guidance on Testosterone. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm090592.pdf>
10. Draft Guidance on Levothyroxine Sodium. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM428208.pdf>
11. Potassium Chloride Modified-Release Tablets and Capsules: In Vivo Bioequivalence and In Vitro Dissolution Testing. US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Available from: <https://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/02d-0307-gdl0002.pdf>
12. Меркулов ВА, Бунятян НД, Переверзев АП. Надлежащая практика фармаконадзора в США и Европейском Союзе. Безопасность и риск фармакотерапии 2014; (4): 23–8. [Merkulov VA, Bunyatyan ND, Pereverzev AP. Good Pharmacovigilance Practice in the United States and the European Union. Safety and Risk of Pharmacotherapy 2014; (4): 23–8 (In Russ.)]
13. Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/01/WC500070039.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf)
14. Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза. [Rules for bioequivalence studies of drugs of the Eurasian Economic Union (In Russ.)] Available from: <http://www.eurasiancommission.org/ru/act/textreg/deptextreg/konsultComitet/Documents/%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D0%B0%20%D0%91%D0%AD%D0%98%20%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B3%2020.02.2015%20%D0%BD%D0%B0%20%D1%81%D0%B0%D0%B9%D1%82.pdf>
15. Dissanayake S. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances («endogenous drugs»): considerations to optimize study design. Br J Clin Pharmacol. 2010; 69(3): 238–44.
16. Хохлов АЛ, Лилеева ЕГ, Синицина ОА, Шпишилова СА, Демарина СМ, Шитов ЛН. Проблемы проведения биоаналитической части исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в России. Фармакокинетика и фармакодинамика 2014; (1): 37–43. [Khokhlov AL, Lileeva EG, Sinitina OA, Shpishilova SA, Demarin SM, Shitov LN. Problems of bioanalytical research of bioequivalence of drugs in Russia. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics 2014; (1): 37–43 (In Russ.)]
17. Ewerth S, Angelin B, Einarsson K, Nilsell K, Bjorkhem I. Serum concentrations of ursodeoxycholic acid in portal venous and systemic venous blood of fasting humans as determined by isotope dilution-mass spectrometry. Gastroenterology 1985; 88: 126–33.
18. Жердев ВП, Кольванов ГБ, Литвин АА, Сариев АК. Гармонизация проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов: вопросы и их возможное решение. Экспериментальная и клиническая фармакология 2003; 66(2): 60–4. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA, Sariev AK. Harmonization of research on bioequivalence of drugs: questions and their possible solution. Experimental and Clinical Pharmacology 2003; 66(2): 60–4 (In Russ.)]
19. Романов БК, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Пегова ЮО. Пересмотр ограничительных перечней лекарственных средств. Безопасность и риск фармакотерапии 2016; (1): 5–9. [Romanov BK, Olefir YuV, Merkulov VA, Pegova YuO. Revision of restrictive lists of medicines. Safety and risk of pharmacotherapy 2016; (1): 5–9 (In Russ.)]

## ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Ромодановский Дмитрий Павлович.* Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук  
*Горячев Дмитрий Владимирович.* Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук  
*Соловьева Анна Петровна.* Главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств  
*Кокин Иван Витальевич.* Главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук  
*Еременко Наталья Николаевна.* Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

Статья поступила 25.05.2017  
Article was received 25 May 2017

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Dmitry P. Romodanovsky.* Chief Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences  
*Dmitry V. Goryachev.* Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences  
*Anna P. Solovieva.* Chief Expert of Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products  
*Ivan V. Kokin.* Chief Expert of Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences  
*Natalia N. Eremenko.* Chief Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

Принята к печати 14.02.2018  
Accepted for publication 14 February 2018

## Концепция сложных небиологических лекарственных средств при разработке воспроизведенных препаратов

Д. В. Горячев, \* Ю. В. Чернова, Н. Е. Уварова

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** Расширение спектра новых лекарственных препаратов приводит к существенному повышению затрат на здравоохранение и, как следствие, появлению воспроизведенных препаратов с более выгодными ценовыми характеристиками. Признание препарата воспроизведенным возможно при наличии достаточных доказательств эквивалентности структурных характеристик действующего вещества и терапевтических характеристик лекарственного препарата. Однако для ряда веществ, представляющих собой многокомпонентную смесь близких по строению соединений, появляется сложность доказательства абсолютного сходства химической структуры и, соответственно, определения субстрата для оценки биодоступности. В связи с этим выделяют отдельную группу сложных небиологических препаратов. В данной статье рассмотрены основные требования ведущих мировых регуляторных органов к доказательству сходства с референтным продуктом препаратов глатирамера ацетата, липосомальных препаратов доксорубина и нанокolloидных препаратов железа. Показано, что для этих препаратов остается необходимым проведение доклинических и клинических исследований, объем которых определяется на основании оценки их сопоставимости.

**Ключевые слова:** воспроизведенные препараты; сложные небиологические препараты; препараты глатирамера; коллоидные препараты железа; липосомальный доксорубин; доклинические и клинические исследования

**Для цитирования:** Горячев ДВ, Чернова ЮВ, Уварова НЕ. Концепция сложных небиологических лекарственных средств при разработке воспроизведенных препаратов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 11–16. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-11-16

\* **Контактное лицо:** Чернова Юлия Вадимовна; trofimova@expmed.ru

## Non-Biological Complex Drugs Concept in Generic Drugs Development

D. V. Goryachev, \* Yu. V. Chernova, N. E. Uvarova

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** Expansion of the range of new medicines leads to a significant increase in healthcare spending and, consequently, to the appearance of more affordable generic drugs. A drug can be recognised as generic if there is sufficient evidence of equivalent structural characteristics of the active substance and therapeutic characteristics of the drug. However, for a number of substances which are multicomponent mixtures of sister compounds it is quite difficult to demonstrate absolute similarity of the chemical structure and to determine a substrate for bioavailability evaluation. Therefore, a separate group of non-biological complex drugs has been singled out. The present article summarises the requirements of the leading regulatory agencies for demonstration of equivalence between the reference product and such medicines as glatiramoids, liposome-encapsulated doxorubicin and iron-based nano-sized colloidal products. It has been shown that preclinical and clinical studies are still necessary for these types of products, and the amount of testing will depend on the results of comparability assessment.

**Key words:** generic drugs; non-biological complex drugs; glatiramoids; iron-based nano-sized colloidal products; liposome-encapsulated doxorubicin; preclinical and clinical trials

**For citation:** Goryachev DV, Chernova YuV, Uvarova NE. Non-Biological Complex Drugs Concept in Generic Drugs Development. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 11–16. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-11-16

\* **Contact person:** Chernova Yulia Vadimovna; trofimova@expmed.ru

Производство воспроизведенных препаратов является социально необходимым и экономически оправданным атрибутом современного рынка лекарственных средств. Расширение спектра новых лекарственных препаратов (ЛП) приводит к существенному и резкому повышению затрат на здравоохранение. При ограничении ресурсов системы здравоохранения основным выходом для обеспечения общественного здоровья, в том числе в экономически развитых странах, является появление воспроизведенных препаратов с более выгодными ценовыми характеристиками. В этой связи в странах Европы вводится система законодательных актов, расширяющих область применения воспроизведенных препаратов с целью снижения затрат и рационального использования средств [1]. В Российской Федерации в качестве механизма, позволяющего оптимизировать затраты на ЛП, законодательно вводится категория их взаимозаменяемости [2].

Цель работы — анализ особенностей группы небиологических сложных лекарственных препаратов и обзор основных требований ведущих мировых регуляторных органов к доказательству сходства указанных препаратов с референтным на примере препаратов глатирамера ацетата, липосомальных препаратов доксорубина и нанокolloидных препаратов железа.

Основным условием возможности признания препарата воспроизведенным является наличие достаточных доказательств эквивалентности структурных характеристик действующего вещества и терапевтических характеристик ЛП. Характер доказательств и объем требований к результатам оценок, используемых для подтверждения сходства воспроизведенного и референтного препаратов, различаются, однако принципиальным остается то, что для воспроизведенных препаратов не требуется всей полноты клинических и доклинических исследований.

Федеральным законом Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее — Федеральный закон № 61-ФЗ) предусмотрено, что достаточно ограниченного объема исследований для подтверждения возможности признания препарата воспроизведенным. В то же время п. 8 ст. 18 Федерального закона № 61-ФЗ позволяет выделять отдельные виды ЛП для медицинского применения с целью установления специальных требований к объему информации, необходимой для оценки отношения их ожидаемой пользы к возможным рискам применения, то есть для возможности экстраполяции всех клинически важных аспектов референтного препарата на изучаемый.

Если для простых действующих веществ (вещества с точно известным химическим составом и молекулярной массой) подтвердить эквивалентность строения и биодоступности не представляет проблемы, то для ряда соединений появляется сложность констатации факта абсолютного сходства химической структуры и, соответственно, определения субстрата для оценки биодоступности. Часто речь идет о многокомпонентной смеси близких по стро-

ению соединений, без выделения одного компонента, обладающего терапевтической активностью. Это позволило обосновать выделение группы биоаналоговых (биоподобных) препаратов, для которых невозможно в полной мере доказать идентичность строения двух отличных по технологии производства ЛП [3]. В последние годы в научной литературе появляется термин «сложные небиологические препараты» (non-biological complex drugs) — НБСП. Специальное выделение этой группы обосновано их особенностями, когда только сравнение показателей качества не позволяет в полной мере оценить сопоставимость с референтным препаратом в отношении клинической эффективности. Наличие для этой группы препаратов требований проведения дополнительных доклинических и клинических исследований является их принципиальным отличием от простых химических препаратов, содержащих в качестве действующего вещества хорошо описываемые, химически однотипные молекулы с небольшой точно известной молекулярной массой.

Приведенный в п. 10 ст. 18 Федерального закона № 61-ФЗ допустимый перечень данных (обзоры научных работ вместо отчета о доклинических исследованиях) для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения препаратов в лекарственных формах, указанных в этом пункте, недостаточен для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения воспроизведенных НБСП. Более того, к ним никак не может быть применена норма, указанная в п. 9 ст. 18 Федерального закона № 61-ФЗ, допускающая возможность не проводить доклинические и клинические исследования воспроизведенных препаратов при сроке регистрации более 20 лет, так как без оценки результатов доклинического и клинического изучения препаратов данной группы вывод о клинической эквивалентности референтному препарату не может быть сделан, исходя из современных научных представлений и имеющихся возможностей лабораторных методов анализа.

Определение указанной группы лекарственных препаратов было предложено Crommelin D., входящим в состав европейской рабочей группы по НБСП [4], и используется в современной научной литературе, связанной с аспектами регистрации ЛП [5]: НБСП — это небиологические сложные препараты, в которых активная субстанция не представляет собой однотипную молекулярную структуру, а состоит из различных (близких по строению и часто наноструктурных) компонентов, которые не могут быть четко изолированы и полностью количественно охарактеризованы и/или описаны аналитическими методами, при этом клиническое значение различий в компонентах препарата остается неясным.

Эта группа лекарственных средств на рынках Европейского Союза (ЕС) и Российской Федерации представлена препаратами глатирамера, коллоидными препаратами, в том числе препаратами железа, липосомальными препаратами, препаратами на основе нанокристаллов.

Таким образом, в случае оценки возможности признания НБСП воспроизведенным для экстраполяции на него информации по эффективности и безопасности недостаточно рассмотрения показателей качества препарата, состава и данных обзора научных работ, вне зависимости от длительности присутствия препарата на рынке.

По результатам совещания рабочей группы, проведенного в г. Лейдене (Нидерланды, 2009), появилась первая публикация по НБСП [6]. Был впервые выделен данный класс препаратов, который представляет собой более сложные низкомолекулярные синтетические препараты, сопоставимые по ряду принципиальных свойств с биологическими препаратами. Вместе с тем эти препараты производятся без использования живых клеток или тканей. В связи с этим было высказано предложение, что аналоги этих препаратов должны разрабатываться

на основе программ, сходных с программами разработки биоаналогичных препаратов. Необходимость отдельных программ впервые была декларирована Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) и позднее Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств Соединенных Штатов Америки (Food and Drug Administration, FDA), поскольку применение стандартных подходов как для простых синтетических препаратов является неоправданным для оценки НБСП.

При сравнении характеристик НБСП с синтетическими препаратами с гомогенной простой молекулярной структурой и биологическими препаратами можно определенно констатировать их сходство с биологическими препаратами, за исключением метода их получения и степени иммуногенности (табл. 1).

Таблица 1

### СРАВНЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

№ п/п	Критерии оценки	Синтетические препараты с гомогенной молекулярной структурой	Биологические препараты
1	Размер	Малый (отдельные молекулы) Низкая молекулярная масса (до 1000 Да)	Большой (смесь сходных молекул) Большая молекулярная масса (до 150 000 Да)
2	Структура	Простая, хорошо определена, не зависит от процесса производства	Сложная (гетерогенность), определяемая процессом производства
3	Модификации	Хорошо определены	Множество вариантов
4	Способ получения	Химический синтез Прогнозируемый химический процесс Осуществимо достижение полной идентичности молекул	<i>Синтезируются в живых культурах</i> Сложность контроля процесса от начальных стадий до готового препарата
5	Характеристика молекулы	Полная характеристика молекулы достаточно проста	Не может быть полностью охарактеризован молекулярный состав и его гетерогенность
6	Стабильность	Стабильны	Нестабильны, очень чувствительны к внешним условиям
7	Иммуногенность	Преимущественно не иммуногенны	<i>Иммуногенны</i>

Примечание. Курсивом выделены отличия биологических препаратов и НБСП (способ получения и степень иммуногенности).

Таким образом, совокупность данных, необходимых для доказательства биоаналогичности биологических препаратов, существенно превышающая объем данных для доказательства эквивалентности воспроизведенных простых синтетических препаратов [3], должна быть основой для анализа сходства НБСП при оценке из сопоставимости. То есть помимо вопросов подтверждения качества необходим спектр доклинических исследований и клинических исследований.

Именно по этим причинам в EMA и FDA работали отдельные руководства по доказательству сходства с референтным продуктом парентеральных препаратов железа с нанокolloидной структурой, липосомальных продуктов и глатирамидов [7] (табл. 2).

Глатирамиды представляют собой гетерогенную смесь синтетических полипептидов четырех аминокислот. Разнообразие этой смеси и варианты соотношений неидентичных видов полипептидных структур определяет высокую сложность состава

активного компонента препаратов глатирамера [8]. В ходе исследований препаратов глатирамера ацетата было продемонстрировано существенное различие биологической активности препаратов с одним международным непатентованным наименованием (МНН), не прошедших исследований сопоставимости с референтным препаратом [9, 10].

EMA рассматривает случай регистрации препаратов глатирамера ацетата с обязательным анализом результатов клинических исследований, доказывающих сходство клинического действия и превосходство (прямое или косвенное) изучаемого препарата над плацебо по клинически значимым признакам.

Вотнoшении внутривенных коллоидных препаратов железа рекомендации европейских регуляторных органов требуют для доказательства сопоставимости с референтным препаратом проведение расширенной программы доклинического изучения сопоставимости и клиническое изучение фармакокинетики [11], что признается избыточным для простых химических препаратов для парентерального введения.

Таблица 2

**ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ ДАННЫМ ДЛЯ РЕГИСТРАЦИОННОГО ДОСЬЕ НЕКОТОРЫХ ГРУПП СЛОЖНЫХ НЕБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ЕМА И FDA [7]**

Наименование препарата	Стандартный подход		Дополнение для НБСП				
	показатели качества	биоэквивалентность	расширенное физико-химическое сопоставление	биологические тесты <i>in vitro</i>	изучение токсичности <i>in vivo</i>	расширенное изучение ФК/ФД эквивалентности	КИ терапевтической эквивалентности
Доксорубицин	+	+	+	?	?	+	?
Глатирамоиды	+	–	+	+	+	–	+
Коллоидные препараты железа	+	+	+	–	+	+	+

Примечание. «?» — неопределенность в требованиях FDA и ЕМА; КИ — клинические исследования; «+» — требование присутствует; «–» — требование отсутствует.

В оценке сопоставимости воспроизведенных липосомальных продуктов показательны подходы ведущих регуляторных органов (ЕМА, FDA). Группа липосомальных препаратов, представляющих собой билипидные структуры, несущие в полости действующее вещество препарата, относится к препаратам с прицельной системой доставки. Эффективность этих препаратов напрямую зависит от состава билипидного слоя, размера, заряда, ригидности липосом [12]. В период с 2015 до середины 2017 г. по данным международного реестра клинических исследований Национального института здоровья Соединенных Штатов Америки<sup>1</sup> было инициировано 330 клинических исследований липосомальных препаратов.

В 2010 году была опубликована работа Mamidi R. и соавт. по изучению липосомального доксорубицина [13], в которой было продемонстрировано, что смена липидов в составе липосом никак не отражается на фармакокинетике препарата, но приводит к различию в противоопухолевой активности в доклиническом эксперименте. Данный факт послужил началом научной дискуссии представителей фармацевтической отрасли, академического сообщества и регуляторных органов о проблеме подтверждения сходства липосомальных препаратов.

В результате FDA было разработано руководство по программе изучения воспроизведенных липосомальных препаратов доксорубицина [14]. В соответствии с требованиями, изложенными в руководстве, заявитель должен продемонстрировать эквивалентность физико-химических свойств изучаемого препарата референтному. Необходимо сравнение характеристик распределения липосом по размеру, высвобождения доксорубицина в различных средах и клиническое исследование биоэквивалентности с оценкой как свободного, так и инкапсулированного доксорубицина. Если эквивалентность была доказана на предыдущих этапах изучения препарата, то клинические исследования эффективности не требуются.

Сходный подход изложен в руководстве ЕМА, однако вопрос необходимости проведения клинических исследований остается актуальным [15]. В дан-

<sup>1</sup> www.clinicaltrials.gov

ном документе указано, что прежде чем переходить к доклиническим и клиническим исследованиям, следует установить фармацевтическую сопоставимость между препаратом заявителя и референтным препаратом. Поскольку липосомальные лекарственные формы отличаются сложностью, установление фармацевтической сопоставимости само по себе не может полностью заменить данные доклинических и/или клинических исследований, но может стать основанием для сокращения количества таких исследований. Объем и сложность доклинических и клинических исследований рекомендуется устанавливать исходя из результатов изучения сопоставимости на раннем этапе.

При комплексной оценке нового липосомального препарата все данные, полученные в ходе исследований качества, доклинических и клинических исследований, должны расцениваться как одно целое. Если, например, в доклинических исследованиях липосомальной композиции, разработанной как аналог референтного препарата, были обнаружены какие-нибудь существенные различия, то рекомендуется повторно провести оценку физико-химических характеристик препарата для выявления возможных объяснений таких различий, прежде чем переходить к клиническим исследованиям. Различия в данных референтного и исследуемого препаратов могут вызвать вопросы со стороны регуляторных органов.

Клинические исследования биодоступности отличаются от стандартных исследований биоэквивалентности простых химических препаратов. Сложность подобных исследований существенно выше, хотя стандартные границы признания биоэквивалентности (80–125 %) те же. Оцениваемые фармакокинетические характеристики общего, инкапсулированного и неинкапсулированного действующего вещества должны сравниваться для оценки скорости высвобождения активной субстанции из липосом, поскольку этим параметром будет определяться начало и продолжительность терапевтического эффекта.

Обычные фармакокинетические параметры, такие как площадь под кривой и максимальная концентрация, могут недостаточно точно определять

скорость высвобождения в целевых зонах. Таким образом, оценка дополнительных фармакокинетических параметров должна обеспечить описание других фармакокинетических процессов, таких как распределение и выведение, в дополнение к скорости и степени высвобождения. При необходимости, следует сравнить скорость и степень выделения активной субстанции в моче.

Когда скорости выведения неинкапсулированного и инкапсулированного действующего вещества различаются, что обусловлено продолжительным высвобождением действующего вещества из липосом, тогда необходимо исследовать дополнительные параметры фармакокинетики, такие как клиренс, объем распределения, конечный период полувыведения и часть площади под кривой (например, 0–24, 24–48 ч и т.д.). Данные параметры следует оценивать описательно, что позволит более подробно охарактеризовать целостность липосом и их усвоение периферическими тканями (ретикуло-эндотелиальной системой).

Как правило, решение о необходимости проведения клинических исследований эффективности (помимо обязательных клинических исследований фармакокинетики) принимается индивидуально для каждого конкретного случая в зависимости от способности доклинических моделей и данных клинических фармакокинетических исследований определить различия между референтным препаратом и липосомальным препаратом, разработанным как его аналог, а также зависит от сложности состава сравниваемых препаратов.

Весьма вероятно, что дополнительные исследования терапевтической эквивалентности будут необходимы, если композиции (препараты) отличаются по составу. Например, клинические исследования, включающие изучение терапевтической эквивалентности, могут потребоваться в случаях, когда полимеры присоединяются к липидам с помощью различных методов связывания. Однако из-за относительно низкой чувствительности клинических исследований эффективности к зависящим от состава различиям этот подход не является предпочтительным.

Показательна в отношении особого места нанокolloидных препаратов железа для парентерального введения разработка отдельного руководства ЕМА [16]. В нем подчеркивается, что при сравнении нанокolloидных препаратов железа для внутривенного введения, разработанных в качестве воспроизведенных препаратов, научные данные и нормативная практика определения характеристик нанокolloидных препаратов показывают, что оценка качества сама по себе не является достаточной гарантией подобия двух лекарственных средств, даже если их подобие было установлено на основании физико-химического анализа. Для исследования препаратов железа требуется «подход, основанный на весомости доказательств» и включающий данные исследований качества, доклинических исследований и исследований фармакокинетики у человека.

Структура препаратов железа для внутривенного введения является классическим примером НБСП, так как они состоят из множественного ядра, содержащего атомы железа, преимущественно в виде оксигидроксида железа (III), стабилизированного углеводным комплексом, что обуславливает их нанокolloидную структуру, которая крайне сложно характеризуется с применением традиционных методов оценки качества.

При парентеральном введении комплексы наножелеза попадают в клетки путем эндоцитоза, т.е. через клетки ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). После внутривенного введения различных препаратов железа отмечалось, что они обнаруживаются в макрофагах печени или гепатоцитах.

Высвобождение железа, по-видимому, зависит от размера и свойств поверхности коллоидного комплекса железа и матрицы. Кроме того, подверженность углеводов к внутриклеточному распаду (высокая скорость распада) также может оказывать влияние на высвобождение железа. Транспорт и/или аккумуляция препаратов железа в клетках любого типа может стать причиной рисков применения.

Сложность исчерпывающего описания и определения частиц комплексов железа только с помощью методов физико-химического анализа наряду с неопределенностью характера взаимосвязи качественных показателей с показателями *in vivo* ведет к необходимости проведения дополнительных исследований. Таким образом, сопоставимости качества и подтверждения подобия концентраций железа в плазме, то есть общепринятого исследования биоэквивалентности, оказывается недостаточно для подтверждения сопоставимости метаболических путей *in vivo*, а следовательно, токсических и фармакологических действий двух препаратов. В связи с этим в дополнение к данным клинических исследований по фармакокинетике требуются данные доклинических исследований. Требуемый объем дополнительных данных доклинических и клинических исследований указан в руководстве ЕМА [16] и зависит от точности, с которой результаты физико-химических и доклинических исследований позволяют прогнозировать различия, которые могут повлиять на эффективность и безопасность лекарственного средства. Дальнейшие клинические исследования могут потребоваться в случае, если результаты исследований качества, фармакокинетики у человека и доклинических исследований не предоставят весомые доказательства подобия препаратов.

Важным моментом для оценки сложных небиелогических препаратов является то, что в рамках Европейского экономического союза (ЕАЭС) планируется создание Проекта требований к показателям качества и исследованию лекарственных средств на основе липосом, мицелл и лекарственных средств, содержащих покрытия из наночастиц, и Проекта требований к данным по нанокolloидным препаратам железа для внутривенного введения, разработанным в качестве воспроизведенных. Таким образом, концепция НБСП в значительной мере будет использоваться в качестве определяющей для про-

грамм разработок воспроизведенных препаратов в рамках работы ЕАЭС.

Вопрос необходимости следования принципу научной обоснованности доказательства сходства НБСП напрямую связан с выведением на рынок Российской Федерации эффективных и безопасных препаратов. Сложность молекулярных структур не позволяет ограничиваться подтверждением качества и ограниченного набора доклинических исследований для доказательства клинической эквивалентности НБСП.

*Авторы не заявили о конфликте интересов  
The authors did not declare a conflict of interest*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Barros PP. Pharmaceuticals policies in European countries. *Adv Health Econ Health Serv Res.* 2010; 22: 3–27.
2. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation of 12.04.2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)] Available from: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/)
3. Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Алпатова НА, Медуницын НВ, Киселевский МВ, Лысикова СЛ и др. Проблемы регистрации биологических неоригинальных лекарственных препаратов. БИО-препараты. Профилактика, диагностика, лечение 2014; (4): 24–36. [Soldatov AA, Avdeeva ZhI, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Kiselevsky MV, Lysikova SL, et al. The aspects of biosimilar marketing approval process. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2014; (4): 24–36 (In Russ.)]
4. Crommelin DJ, de Vlieger JS, Weinstein V, Muhlebach S, Shah VP, Schellekens H. Different pharmaceutical products need similar terminology. *AAPS J.* 2014; 16(1): 11–4.
5. de Vlieger JS, Muhlebach S, Shah VP, McNeil SE, Borchard G, Weinstein V, et al. Non-Biological Complex Drugs (NB CDs) and their follow-on versions: time for an editorial section. *GaBI J.* 2015; 4(4): 167–70.
6. Schellekens H, Klinger E, Muhlebach S, Brin JF, Storm G, Crommelin DJ. The therapeutic equivalence of complex drugs. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2011; 59(1): 176–83.
7. Schellekens H, Stegemann S, Weinstein V, de Vlieger JS, Fluhmann B, Muhlebach S, et al. How to regulate nonbiological complex drugs (NB CD) and their follow-on versions: points to consider. *AAPS J.* 2014; 16(1): 15–21.
8. Шварц ГЯ, Раменская ГВ. Анализ причин практической невозможности создания генериков Копаксона. *Химико-фармацевтический журнал* 2012; 46(11): 24–9. [Shvarts GYa, Ramenskaya GV. Analysis of reasons for the impossibility of creating Copaxone generics. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2012; 46(11): 24–9 (In Russ.)]
9. Conner J. Glatiramer acetate and therapeutic peptide vaccines for multiple sclerosis. *J Autoimmun Cell Resp.* 2014; 1: 1–3.
10. Towfic F, Funt JM, Fowler KD, Bakshi S, Blaugrund E, Artyomov MN, et al. Comparing the biological impact of glatiramer acetate with the biological impact of generic. *PLoS One* 2014; 9(1): e83757.
11. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product (EMA/CHMP/SWP/620008/2012). Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/03/WC500184922.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/03/WC500184922.pdf)
12. Chang HI, Yeh MK. Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. *Int J Nanomed.* 2012; 7: 49–60.
13. Mamidi RN, Weng S, Stellar S, Wang C, Yu N, Huang T, et al. Pharmacokinetics, efficacy and toxicity of different pegylated liposomal doxorubicin formulations in preclinical models: is a conventional bioequivalence approach sufficient to ensure therapeutic equivalence of pegylated liposomal doxorubicin products? *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010; 66(6): 1173–84.
14. Draft guidance on doxorubicin hydrochloride. United States Food and Drug Administration. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/2014/06/ucm1199635.pdf>
15. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product (EMA/CHMP/806058/2009/Rev.02). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2013/03/WC500140351.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/03/WC500140351.pdf)
16. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product (EMA/CHMP/SWP/620008/2012). Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/03/WC500184922.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/03/WC500184922.pdf)

## ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Горячев Дмитрий Владимирович.* Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук  
*Чернова Юлия Вадимовна.* Эксперт 2-й категории управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств  
*Уварова Наталия Евгеньевна.* Эксперт 2-й категории управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

*Статья поступила 17.10.2017  
Article was received 17 October 2017*

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Dmitry V. Goryachev.* Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences  
*Yulia V. Chernova.* 2nd Professional Category Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products  
*Natalia E. Uvarova.* 2nd Professional Category Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products

*Принята к печати 14.02.2018  
Accepted for publication 14 February 2018*

## Анальгетический потенциал агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В в лечении диабетической полинейропатии

\* О. А. Демидова, Е. В. Ших

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** Проанализированы эффективность и безопасность агонистов пуриновых рецепторов у пациентов с хронической болью. Проведен обзор данных о клиническом применении пуриновой анальгезии в купировании болевого синдрома. Научно обосновано использование пуриновой анальгезии для лечения пациентов с хронической нейропатической болью. Подробно описаны центральные механизмы агонистов пуриновых рецепторов и их анальгетическая активность. Показано, что агонисты пуриновых рецепторов отличаются сильным анальгетическим действием, узким спектром побочных эффектов и, воздействуя на пуринергический регуляторный механизм, эффективно купируют нейропатическую боль. Рассмотрены механизмы анальгетического эффекта витаминов группы В ( $B_1$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ), обладающих собственным анальгетическим потенциалом, что имеет важное значение в фармакотерапии полинейропатий. Отмечается, что при диабетической полинейропатии назначение витаминов группы В патогенетически обосновано, при этом подчеркивается, что комбинация витаминов группы В более эффективна, чем монотерапия.

**Ключевые слова:** агонисты пуриновых рецепторов; нейропатическая боль; анальгетический эффект; диабетическая полинейропатия; витамины группы В

**Для цитирования:** Демидова ОА, Ших ЕВ. Анальгетический потенциал агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В в лечении диабетической полинейропатии. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 17–22. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-17-22

\* **Контактное лицо:** Демидова Ольга Александровна; olga.demidova25@mail.ru

## Analgesic Potential of Purine Receptor Agonists and B Vitamins in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy

\* O. A. Demidova, E. V. Shikh

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** The efficacy and safety of purine receptor agonists in patients with chronic pain have been analysed. The data on the clinical application of purine analgesia in the management of pain syndrome are reviewed. The use of purine analgesia for the treatment of patients with chronic neuropathic pain is scientifically justified. The central mechanisms of purine receptor agonists and their analgesic activity are described in detail. It has been shown that purine receptor agonists have a strong analgesic effect and a narrow range of side effects, and they effectively relieve neuropathic pain by influencing the purinergic regulatory mechanism. The mechanisms of the analgesic effect of B vitamins ( $B_1$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ) that have their own analgesic potential are considered — which is of great importance in the pharmacotherapy of polyneuropathies. It should be noted that the prescription of B vitamins is pathogenetically justified in diabetic polyneuropathy, and a combination of B vitamins is more efficacious than a monotherapy.

**Key words:** purine receptor agonists; neuropathic pain; analgesic effect; diabetic polyneuropathy; B vitamins

**For citation:** Demidova OA, Shikh EV. Analgesic Potential of Purine Receptor Agonists and B Vitamins in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 17–22. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-17-22

\* **Contact person:** Demidova Olga Aleksandrovna; olga.demidova25@mail.ru

Диабетическая полинейропатия (ДПН) является осложнением сахарного диабета (СД), при котором нарушение обмена веществ приводит к поражению всех органов и систем организма. Ее распространенность прямо коррелирует с длительностью заболевания. Поздние сосудистые осложнения, такие как инсульт, инфаркт миокарда, макроангиопатии, нефропатии, нейропатии, ретинопатии, являются причиной сокращения продолжительности жизни пациентов с СД [1].

Полинейропатии представляют одно из тяжелых и распространенных неврологических осложнений соматических заболеваний, которые характеризуются повреждением множества периферических нервов. Следствием этого является развитие двигательных, чувствительных и вегетативно-трофических нарушений в различных сочетаниях в зависимости от этиологии и типа преимущественно пораженных нервных волокон. Частота нейропатии, которая диагностируется на основании различных симптомов, составляет примерно 25 %, а при проведении электронейромиографического исследования — 100 % у больных СД [2]. Опасность ДПН заключается в практически бессимптомном течении в начале ее появления. Клинические симптомы обнаруживаются по прошествии 5–10 лет с момента возникновения СД, и на протяжении этого времени пациент находится в состоянии хронической гипергликемии. В литературе высказывается мнение, что не менее чем у 10 % пациентов СД подтверждается только после проявления нейропатии [3].

В результате поражения сенсорных нервных волокон возникают парестезии и боли. Терапия ДПН должна быть направлена на борьбу с гипергликемией и на восстановление питания и проводимости нервных волокон. Для улучшения физиологического состояния пациентов важное значение имеет снятие болевого синдрома, поэтому одним из элементов комплексной терапии является его купирование. Применяются такие препараты, которые эффективно снижают чувствительность нервных волокон, делая боль не такой выраженной [4]. Симптоматическое лечение предполагает использование препаратов группы трициклических антидепрессантов, ингибиторов обратного захвата серотонина, антиаритмических средств, антиконвульсантов, опиоидов, средств местного действия.

Необходимой составляющей лечения ДПН является метаболическая терапия. Применение метаболических препаратов при нейропатиях обосновано тем, что нарушения метаболизма в данном случае являются важным звеном патогенеза. Комплексный подход в лечении ДПН с применением витаминов группы В, непосредственно влияющих на патогенез заболевания, позволяет уменьшить выраженность клинических проявлений СД и предотвратить возникновение осложнений. Клинический опыт показывает, что некоторые метаболические средства обладают собственным анальгетическим эффектом, что имеет важное значение в терапии полинейропатии. Витамины могут влиять на активность ферментов, которые метаболизируют

лекарственные средства, и усиливать их фармакодинамический эффект.

Анализ данных о современных аспектах лечения ДПН и об опыте применения пуриновой анальгезии в различных клинических ситуациях является очень актуальным.

Цель работы — проанализировать и обосновать эффективность и безопасность использования агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В для купирования нейропатической боли в комплексной терапии ДПН.

### АДЕНОЗИНТРИФОСФАТ И ПУРИНОВАЯ АНАЛЬГЕЗИЯ

Аденозинтрифосфат (АТФ) относят к метаболическим средствам, что не отражает полной характеристики фармакологического воздействия данного вещества. Гипотеза о медиаторной роли АТФ была сформулирована в 1970-х гг. [5]. Известно, что АТФ и адениновые нуклеотиды активируют пуриновые рецепторы (Р), за счет чего в условиях гипоксии тканей нуклеозидтрифосфат выполняет роль межклеточного и внутриклеточного регулятора функций клетки. Влияние АТФ на передачу рецепторного сигнала сопровождается как изменением генной экспрессии, так и усилением активности ряда ферментативных комплексов, что и определяет метаболизм клетки в целом [6, 7].

При изучении центральных механизмов пуриновой анальгезии выделяют эффекты, развивающиеся на сегментарном уровне и в супрасегментарных отделах центральной нервной системы (ЦНС). Было показано, что аденозин угнетает ноцицептивную импульсацию на уровне ствола спинного мозга, а также пре- и постсинаптическую нейротрансмиссию афферентных волокон заднего рога спинного мозга. Агонисты пуриновых рецепторов вызывают активацию и открытие калиевых каналов и гиперполяризацию постсинаптической мембраны.

Ранее были открыты пресинаптические механизмы антиноцицептивного действия аденозина. В 1978 г. этот феномен был продемонстрирован в исследованиях для первичных афферентных терминалей на уровне спинного мозга человека, а в последующем было показано, что аденозин тормозит высвобождение ноцицептивных медиаторов, таких как глутамат, субстанция Р и пептид, связанный с геном кальцитонина [8]. Результаты проведенных научных исследований подтверждают наличие пуринергического антиноцицептивного центра в ЦНС.

Установленным фактом является противоречивая активность пуринов, проявляющаяся в улучшении микроциркуляции сосудов, в частности сосудов диаметром менее 20 мкм. В результате срыва воспалительной вазоконстрикции высвобождаются провоспалительные вещества — серотонин, гистамин, брадикинин, простагландины, субстанция Р и невоспалительные аллогены — ионы калия, протоны, вызывающие механизмы периферической сенситизации, что приводит к повышению порога возбуждения свободных нервных окончаний и деактивации молчащих ноцицепторов [9].

Исследования, проводившиеся в течение многих лет, показали, что пуриновые рецепторы являются мишенью для фармакологического воздействия АТФ, в результате которого происходит обеспечение адаптационных процессов клеток и тканей организма человека. Эффект определяется рецептором, на который воздействует молекула АТФ, а также степенью и длительностью этого воздействия. Поскольку физиологический ответ клетки является результатом суммарного влияния на ее рецепторный аппарат, внутрисинаптическая медиация вторичных посредников является важным моментом для понимания эффектов, связанных с АТФ.

Установленным является факт медиаторного воздействия АТФ, наряду с норадреналином и нейропептидом Y в синапсах автономной нервной системы. После выделения в синаптическую щель АТФ взаимодействует с пуриновыми рецепторами постсинаптической мембраны двух типов. Пуриновые рецепторы первого типа (P1) отличаются большей чувствительностью к аденозину, пуриновые рецепторы второго типа (P2) более чувствительны к молекуле АТФ. Особое значение имеет рецепторная медиация в условиях активирования фермента фосфолипазы С при ишемии. В данном случае фосфолипаза С является вторичным посредником, вызывающим защитный эффект пуриновой медиации [10, 11].

В настоящее время препараты системного действия остаются универсальными анальгетиками. Пурины представляют естественную антиноцицептивную систему, что обуславливает хорошую переносимость препаратов, их терапевтическую широту, а также отсутствие токсичности продуктов их метаболизма.

Наличие у агонистов пуриновых рецепторов собственного анальгетического потенциала, сравнимого по силе с опиоидами, было доказано в начале 1990-х гг. Возможность применения пуринового агониста — аденозина в качестве основного анальгетика вместо опиоидов впервые была продемонстрирована в 1992 г. профессором Каролинского института А. Sollevi (Стокгольм) при поверхностных операциях на шее, молочной железе и на плечевом суставе у семи пациенток. Анестезию проводили с использованием тиопентала ( $4-5 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ ), поддерживали с помощью газовой смеси, состоящей из оксида азота (I) (60–70 %), кислорода и изофлурана (до 10 %). Аденозин (нефосфорилированный нуклеозид в буферном растворе) вводили за 5–10 мин до начала операции до момента прекращения ингаляции изофлураном. Скорость введения аденозина зависела от уровня артериального давления пациента, частоты сердечных сокращений (до  $100 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ ). В первые сутки после операции две пациентки отказались от применения опиоидов, а остальным вводили не более 10 мг морфина. Кожные покровы пациенток были в норме. Клинических признаков недостаточного уровня интраоперационного обезболивания — двигательной активности, мимики, слезотечения, тахикардии и гипертензии (свыше 25 % от исходных величин) не отмечалось. Увеличе-

ния концентрации изофлурана свыше 1 % пациентам не требовалось [12].

Несколькими годами позже шведские специалисты того же института опубликовали данные о роли агонистов пуриновых рецепторов в качестве анальгетиков на моделях различных видов острой боли: висцеральной, поверхностной и глубокой соматической. Операции на различных областях тела были основой моделирования разных вариантов острой боли. Так, острую поверхностную боль моделировали при операциях на молочной железе (у 75 пациенток), хирургия плечевого сустава (у 30 пациенток) представляла модель глубокой соматической боли, а боль при гистерэктомии (41 пациентка) классифицировалась как висцеральная. В результате проведенных рандомизированных клинических исследований было установлено, что агонисты пуриновых рецепторов оказывали обезболивающий эффект при всех вариантах острой боли, причем наибольший наблюдался в случае висцеральной боли.

Зарубежные исследователи для изучения эффективности интраоперационного применения агонистов пуриновых рецепторов используют раствор аденозина. В научной литературе также представлены данные об анальгетическом действии АТФ. Результаты свидетельствуют о том, что введение АТФ во время остеотомии орональной области способствует снижению потребности в обезболивающей терапии в периоперационном периоде [13].

При моделировании ишемической боли на здоровых добровольцах была подтверждена анальгетическая активность агонистов пуриновых рецепторов [14]. Показано, что постепенное повышение темпа введения аденозинтрифосфата натрия от 10 до  $80 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$  позволило выявить эффективность препарата. В этом же эксперименте с введением теофилина (эуфиллина) — антагониста пуриновых рецепторов — доказано существование базальной (фоновой) активности пуринергического компонента целостной антиноцицептивной системы организма [15].

В ряде работ описана высокая эффективность применения пуриновых агонистов у пациентов с хронической болью. Эти работы включают контролируемые и мультицентровые исследования, в которых показано, что даже однократная инфузия аденозина со скоростью  $40 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$  у некоторых пациентов полностью купировала болевой синдром на длительный период времени [16, 17].

Таким образом, в литературе представлены научные данные о существовании пуринергического компонента антиноцицептивной системы организма человека и эффективности анальгетических свойств агонистов пуриновых рецепторов при их использовании на добровольцах, пациентах в послеоперационном периоде и пациентах с нейропатической болью [15].

Аденозин, а также его фосфорилированные производные — АМФ, АДФ и АТФ являются агонистами пуриновых рецепторов, среди которых особую значимость имеют А1-рецепторы. Их активация приводит к подавлению аденилатциклазы и умень-

шению выброса медиаторов. Агонисты пуриновых рецепторов можно рассматривать не только в качестве компонента для обеспечения энергетических потребностей клетки, но и в качестве компонента, имеющего собственную анальгезирующую активность.

### МЕХАНИЗМЫ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В

Витамины группы В: В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>6</sub> (пиридоксин), В<sub>12</sub> (цианокобаламин) относятся к нейротропным и занимают значительное место в патогенетической терапии ДПН. Применение указанных препаратов у пациентов с ДПН обусловлено способностью витаминов группы В уменьшать болевой синдром и положительно влиять на метаболизм нервной ткани.

Пиридоксина гидрохлорид (витамин В<sub>6</sub>) влияет на функцию и структуру нервной ткани, способствуя нормализации белкового обмена, участвует в метаболизме жиров и углеводов, гемопоэзе, в транспорте фосфолипидов мембран клетки, в синтезе катехоламинов.

Цианокобаламин (витамин В<sub>12</sub>) участвует в синтезе миелиновой оболочки аксонов нервных клеток, гемопоэзе, образовании метионина, нуклеиновых кислот, в процессах трансметилирования, переносе водорода, холина, креатина.

В основе механизма действия тиамин (витамин В<sub>1</sub>) при ДПН лежит его способность тормозить гликолиз, образование лактата и конечных продуктов гликирования (КПГ), в результате чего токсический эффект гипергликемии ослабляется.

При присоединении глюкозы к структурным белкам, в частности белкам миелина, образуются КПГ, что приводит к изменению их структуры и нарушению функционирования. КПГ поглощаются макрофагами и способствуют демиелинизации нервных волокон.

Предполагается, что активный метаболит пиридоксина аминогванидин тоже предотвращает накопление КПГ, участвуя в нейтрализации токсического действия метилглиоксала. Тиамин и его активный метаболит — тиаминпирофосфат, тормозя гликирование белков, могут блокировать развитие нейропатии у пациентов с СД и способствовать регрессу уже развившегося поражения нервных волокон. При этом, активируя транскетолазу в клетках эндотелия, тиамин способствует улучшению микроциркуляции. У пациентов с ДПН отмечено снижение концентрации тиамин. Устранение дефицита тиамин необходимо для обеспечения энергетического метаболизма нервной ткани. Ряд исследований выявил, что комплекс витаминов группы В (В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>) может оказывать антиноцицептивный эффект при невропатической боли. Экспериментально установлено, что витамин В<sub>1</sub> отдельно или в сочетании с витаминами В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub> уменьшает невропатическую боль, стимулируя на уровне спинного мозга естественную антиноцицептивную систему, активируя гуанозинмонофосфатциклазы.

Тиаминпирофосфат (ТПФ) является активной коферментной формой тиамин и играет ключевую роль в энергетическом метаболизме, в частности в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Тиамин также участвует в проведении нервного импульса, модулирует нервно-мышечную передачу, связываясь с *n*-холинэргическими рецепторами. В высоких концентрациях он блокирует процессы гликирования белка, участвует в обмене глутатиона, проявляя тем самым антиоксидантную активность. Тиамин опосредованно участвует в метаболизме нейротрансмиттеров — серотонина и гамма-аминомасляной кислоты, которые играют важную роль в подавлении боли [18].

Начиная с 1950-х гг. витамины применяются в различных странах для лечения болевого синдрома. Создана теоретическая база по результатам доклинических и клинических исследований за последние 10 лет, подтверждающая анальгетический эффект витаминов группы В при ноцицептивной и невропатической боли.

Так, при наложении лигатуры на седалищный нерв или сдавливании дорзального ганглия вводимые интраперитонеально витамины В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub> уменьшали температурную гипералгезию. При повторных введениях этих витаминов отмечали стойкое уменьшение температурной гипералгезии, причем комбинация витаминов группы В оказывала синергетический эффект при обеих моделях невропатической боли [19–21]. В эксперименте с тактильной аллодинией, вызванной лигатурой, наложенной на спинальный корешок, показано, что такие витамины, как В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub>, значительно уменьшают аллодинию, причем наиболее выраженный дозозависимый эффект наблюдался при введении В<sub>12</sub> в 73 % случаев и В<sub>1</sub> в 58 % случаев. Одновременное введение тиамин или цианокобаламин с дексаметазоном в 90 % случаев значительно увеличивало антиаллодинический эффект [22]. На аналогичной экспериментальной модели невропатической боли показано, что тиамин и цианокобаламин могут значительно уменьшать боль, а лучший эффект обеспечивала комбинация витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>12</sub> с габапентином. При монотерапии для лечения невропатической боли габапентин в больших дозах вызывал изменение координации. Совместное применение габапентина с тиамин или цианокобаламин для лечения боли значительно уменьшало аллодинию, не нарушая координацию [23].

Экспериментально подтверждено, что витамин В<sub>12</sub> уменьшает тактильную аллодинию, вызванную лигатурой, наложенной на спинальный корешок [24]. В эксперименте было показано влияние витаминов группы В на активность ноцицептивных нейронов ЦНС. Активность ноцицептивных нейронов при стимуляции С-волокон седалищного нерва при инфузии комплекса витаминов В дозозависимо уменьшается. При курсовом назначении инфузии витамина В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub> эффективность повышается. Одним из механизмов обезболивания у витаминов группы В является

ингибирование синтеза и блокирование действия воспалительных медиаторов [25, 26].

Исследование анальгетической активности витаминов группы В подтверждено на фармакологической модели формалинового воспаления. Проведено сравнение антиноцицептивного эффекта диклофенака, витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> и комбинации диклофенака с витаминами при пероральном приеме. Наличие антиноцицептивного эффекта у витаминов подтверждает воздействие комбинации витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> на синтез и/или действие аллогенов воспаления. Возможным механизмом антиноцицептивного действия является снижение витаминами группы В активности различных изоформ протеинкиназы С.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных научной литературы подтверждает ключевую роль агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В в процессе регенерации поврежденного периферического нерва, что способствует значимому снижению болевых и невропатических симптомов и, в конечном итоге, улучшению двигательных и чувствительных функций организма человека [27].

Пуриновая анальгезия может быть использована для купирования болевого синдрома при лечении диабетической полинейропатии. В настоящее время применение пуриновой анальгезии является современным направлением в терапии хронической невропатической боли.

Нейротропные комплексы витаминов группы В у людей с ДПН обеспечивают не только метаболические эффекты, но и обладают собственным анальгетическим потенциалом, что имеет важное значение для повышения качества жизни пациентов с полинейропатиями, сопровождающимися болевым синдромом, который трудно поддается фармакотерапии.

*Авторы не заявили о конфликте интересов  
The authors did not declare a conflict of interest*

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Букатина ТМ, Казаков АС, Каперко ДА, Романова ТВ. Канаглифлозин и риск ампутаций у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Безопасность и риск фармакотерапии 2017; 5(3): 100–3. [Bukatina TM, Kazakov AS, Kaperko DA, Romanova TV. Canagliflozin and risk of amputation in patients with type 2 diabetes. Safety and Risk of Pharmacotherapy 2017; 5(3): 100–3 (In Russ.)]
2. Галиева ОР, Джанашия ПХ, Мирина ЕЮ. Лечение диабетической нейропатии. Международный неврологический журнал 2008; (1): 77–81. [Galieva OR, Dzhanaشيya PH, Mirina EYu. Treatment of diabetic neuropathy. International Journal of Neurology 2008; (1): 77–81 (In Russ.)]
3. Грацианская АН. Лечение диабетической полинейропатии. Трудный пациент 2009; 7(8–9): 47–50. [Gratsianskaya AN. The treatment of diabetic polyneuropathy. Difficult Patient 2009; 7(8–9): 47–50 (In Russ.)]
4. Javed S, Petropoulos IN, Alam U, Malik RA. Treatment of painful diabetic neuropathy. Ther Adv Chronic Dis. 2015; 6(1): 15–28.
5. Burnstock G. Co-transmission. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1990; (304): 7–33.
6. Pelleg A, Belhassen B, Ilia R, Laniado S. Comparative electrophysiological effects of adenosine triphosphate and adenosine in the canine heart: influence of atropine, propranolol, vagotomy, dipyridamole and aminophylline. Am J Cardiol. 1985; 55(5): 571–6.
7. Robinson DA, Wang P, Chaudry JH. Administration of ATP-MgCl<sub>2</sub> after trauma haemorrhage and resuscitation restores the depressed cardiac performance. J Surg Res. 1997; 69(1): 159–65.
8. Li X, Eisenach JC. Adenosine reduces glutamate release in rat spinal synaptosomes. Anesthesiology 2005; 103(5): 1060–5.
9. Карелов АЕ, Захаров ДА, Лебединский КМ, Семенов ДА. Новые технологии в анестезиологии: пуриновая анальгезия. Вестник Санкт-Петербургского университета 2008; (S1): 77–82. [Karelov AE, Zakharov DA, Lebedinsky KM, Semenov DA. New technologies in anesthesiology: purine analgesia. Vestnik of Saint Petersburg University 2008; (S1): 77–82 (In Russ.)]
10. Robinson DA, Wang P, Chaudry JH. Administration of ATP-MgCl<sub>2</sub> after trauma haemorrhage and resuscitation restores the depressed cardiac performance. J Surg Res. 1997; 69(1): 159–65.
11. Козловский ВА, Шмалий ВИ. АТФ как мессенджер и мессенджер как мишень терапевтического воздействия. Ліки України 2008; (3): 48–52. [Kozlovsky VA, Shmaliy VI. ATP as an instant messenger and a messenger as a target of therapeutic effects. Medicines of Ukraine 2008; (3): 48–52 (In Russ.)]
12. Карелов АЕ, Лебединский КМ. Анальгетические адьюванты или альтернативные анальгетики? Вестник анестезиологии и реаниматологии 2013; 10(6): 72–80. [Karelov AE, Lebedinsky KM. Analgesic adjuvants or alternative analgesics. Messenger of Anesthesiology and Resuscitation 2013; 10(6): 72–80 (In Russ.)]
13. Handa T, Fukuda K, Hayashida M, Koukita Y, Ichinohe T, Kaneko Y. Effects of intravenous adenosine 5'-triphosphate on intraoperative hemodynamics and postoperative pain in patients undergoing major orofacial surgery: a double-blind placebo-controlled study. J Anesth. 2009; 23(3): 315–22.
14. Segerdahl M, Karelov A. Experimentally induced ischaemic pain in healthy humans is attenuated by the adenosine receptor antagonist theophylline. Acta Physiol Scand. 2004; 180(3): 301–6.
15. Карелов АЕ, Алеева РШ, Горохов КА, Патлай ИВ. Эффекты активации и блокады пуриновых рецепторов при сильном ноцицептивном раздражении у бодрствующих добровольцев. Эффективная терапия 2010; 16(3): 86–90. [Karelov AE, Aleeva RSh, Gorokhov KA, Patlay IV. Effects of activation and blockade of the purine receptors with strong nociceptive stimulation in awake volunteers. Efferent Therapy 2010; 16(3): 86–90 (In Russ.)]
16. Belfrage M, Sollevi A, Segerdahl M, Sjolund KF, Hansson P. Systemic adenosine infusion alleviates spontaneous and stimulus evoked pain in patients with peripheral neuropathic pain. Anesth Analg. 1995; 81(4): 713–7.
17. Borsook D, Kussman BD, George E, Becerra LR, Burke DW. Surgically induced neuropathic pain: understanding the perioperative process. Ann Surg. 2013; 257(3): 403–12.
18. Парцева НО, Данилова АВ, Пастарус ЛН. Стратегия комплексного патогенетического лечения диабетической нейропатии. Международный эндокринологический журнал 2012; (7): 33–5. [Partseva NO, Danilova AV, Pastarus LN. The strategy of complex pathogenetic treatment of diabetic neuropathy. International Journal of Endocrinology 2012; (7): 33–5 (In Russ.)]
19. Wang ZB, Gan Q, Rupert RL, Zeng YM, Song XJ. Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron loss. Pain 2005; 114(1–2): 266–77.
20. Тлегиенов АЕ. Эффективность лечения диабетической полинейропатии витаминами группы В. Медицина 2013; (10): 40–2. [Tlegenov AE. The effectiveness of treatment of diabetic polyneuropathy in vitamin B. Medicine 2013; (10): 40–2 (In Russ.)]
21. Умерова АР, Дорфман ИП, Орлова ЕА. Современные подходы к лечению диабетической полинейропатии. Русский медицинский журнал 2015; (26): 1538–42. [Umerova AR, Dorfman IP, Orlova EA. Modern approaches to treatment of diabetic polyneuropathy. Russian Medical Journal 2015; (26): 1538–42 (In Russ.)]
22. Caram-Salas NL, Reyes-Garcia G, Medina-Santillan R, Granados-Soto V. Thiamine and cyanocobalamin relieve neuropathic pain in rats: synergy with dexamethasone. Pharmacology 2006; 77(2): 53–62.

23. Mixcoatl-Zecuatl T, Quinonez-Bastidas GN, Caram-Salas NL, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldana CI, Rocha-Gonzalez HI et al. Synergistic antiallodinic interaction between gabapentin or carbamazepine and either benfotiamine or cyanocobalamin in neuropathic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2008; 30(6): 431–41.
24. Granados-Soto V, Sanchez-Ramirez G, La Torre MR, Caram-Salas NL, Medina-Santillan R, Reyes-Garcia G. Effect of diclofenac on the antiallodinic activity of vitamin B12 in a neuropathic pain model in the rat. *Proc West Pharmacol Soc*. 2004; 47: 92–4.
25. Hung KL, Wang CC, Huang CY, Wang SJ. Cyanocobalamin, vitamin B12, depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> influx in rat cerebrocortical nerve terminals. *Eur J Pharmacol*. 2009; 602(2–3): 230–7.
26. Строков ИА, Ахмеджанова ЛТ, Солоха ОА. Эффективность витаминов группы В при лечении болевых синдромов. *Русский медицинский журнал* 2010; (16): 1014–7. [Strokov IA, Akhmedzhanova LT, Solokha OA. Efficacy of B vitamins in the treatment of pain syndromes. *Russian Medical Journal* 2010; (16): 1014–7 (In Russ.)]
27. Монтеро Дж, Данилов АВ. Роль нуклеотидов в лечении периферических нейропатий: обзор. *Manage Pain* 2015; (4): 33–8. [Montero J, Danilov AV. The role of nucleotides in the treatment of peripheral neuropathy. *Manage Pain* 2015; (4): 33–8 (In Russ.)]

## ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Демидова Ольга Александровна*. Научный сотрудник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук

*Ших Евгения Валерьевна*. Ведущий научный сотрудник отдела персонализированной медицины и клинической фармакогенетики Центра клинической фармакологии, д-р мед. наук, проф.

*Статья поступила 31.10.2017*

*Article was received 31 October 2017*

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Olga A. Demidova*. Research Associate of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre. Candidate of Pharmaceutical Sciences

*Evgenia V. Shikh*. Leading Research Associate of the Department of Personalised Medicine and Clinical Pharmacogenetics of the Clinical Pharmacology Centre. Doctor of Medical Sciences, Professor

*Принята к печати 14.02.2018*

*Accepted for publication 14 February 2018*

## Доклинические и клинические аспекты разработки биомедицинских клеточных продуктов

\* А. В. Тихомирова, Д. В. Горячев, В. А. Меркулов, И. В. Лыскова, А. И. Губенко,  
А. И. Зебрев, А. П. Соловьева, Д. П. Ромодановский, Е. В. Мельникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** Проведен обзор данных литературы, посвященных разработке и внедрению в клиническую практику биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) — нового класса препаратов, реализация и применение которых возможны при условии подробного изучения их специфической активности и безопасности на этапе экспериментальных исследований. Представлена характеристика основных типов БМКП, разрешенных в Российской Федерации, особенности их состава и практического применения. Проанализированы основные этапы проведения доклинических исследований БМКП (требования к моделям животных, исследование общей токсичности, иммуногенности, онкогенности, туморогенности и др.), не включающие оценку качества препарата. Рассмотрены требования, предъявляемые к клиническому этапу разработки БМКП. Отмечено, что для обоснования выбора клинически значимых конечных точек оценки эффективности и безопасности БМКП могут применяться данные соответствующих доклинических исследований препаратов, а также накопленный опыт клинического применения для изучаемой патологии.

**Ключевые слова:** биомедицинский клеточный продукт; клеточная линия; доклинические исследования; клинические исследования; специфический механизм действия; эффективность и безопасность

**Для цитирования:** Тихомирова АВ, Горячев ДВ, Меркулов ВА, Лыскова ИВ, Губенко АИ, Зебрев АИ, Соловьева АП, Ромодановский ДП, Мельникова ЕВ. Доклинические и клинические аспекты разработки биомедицинских клеточных продуктов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 23–35. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-23-35

\* **Контактное лицо:** Тихомирова Анна Владимировна; Tikhomirova@expmed.ru

## Preclinical and Clinical Aspects of the Development of Biomedical Cell Products

\* A. V. Tikhomirova, D. V. Goryachev, V. A. Merkulov, I. V. Lysikova, A. I. Gubenko,  
A. I. Zebrev, A. P. Solovieva, D. P. Romodanovsky, E. V. Melnikova

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** The article reviews literature data on development and clinical use of biomedical cell products (BCPs) — a new class of medicines which could be approved for distribution and use only after their specific activity and safety have been thoroughly examined at the stage of experimental research. The article describes main characteristics of BCPs approved in the Russian Federation, as well as specific aspects of their formulation and use. It analyses the main stages of preclinical studies (requirements for animal models, testing of general toxicity, immunogenicity, oncogenicity, tumorigenicity, etc.) that do not cover medicine quality evaluation. The article also dwells upon requirements for the clinical stage of BCPs development. It was shown that the choice of clinically relevant efficacy and safety endpoints could be substantiated by respective preclinical data and accumulated experience of the clinical use of medicines for a particular condition.

**Key words:** biomedical cell product; cell line; preclinical studies; clinical trials; specific mechanism of action; efficacy and safety  
**For citation:** Tikhomirova AV, Goryachev DV, Merkulov VA, Lysikova IV, Gubenko AI, Zebrev AI, Solovieva AP, Romodanovsky DP, Melnikova EV. Preclinical and Clinical Aspects of the Development of Biomedical Cell Products. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 23–35. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-23-35  
\* **Contact person:** Tikhomirova Anna Vladimirovna; Tikhomirova@expmed.ru

Ряд стратегических программ развития медицинской науки до 2025 г. в области биотехнологий и фундаментальных научных исследований позволили утвердить правила обращения биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) в Российской Федерации. Важным этапом развития отечественного законодательства в области БМКП является вступление в силу с января 2017 г. Федерального закона Российской Федерации от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах», подготовленного с учетом анализа международных стандартов и директив зарубежной правоприменительной практики, который позволяет установить определенные требования, в частности в отношении доклинических и клинических исследований БМКП.

Цель работы — анализ и обобщение основных этапов проведения доклинических и клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов для обоснования оценки их безопасности и эффективности.

На сегодняшний день лидерами в проведении клинических исследований (КИ) препаратов на основе человеческих клеток и тканей, равно как и по проводимым разработкам в данной области, являются США и страны Европы. В странах Европейского союза (ЕС) и США обращение препаратов на основе жизнеспособных клеток человека закреплено на законодательном уровне и подлежит государственному контролю с конца 1990-х гг. Созданы специальные подразделения: на базе ЕМА создан Комитет по передовой терапии (Committee for Advanced Therapies — CAT) [1]; в США подобная группа препаратов называется «клетки и ткани человека, а также препараты, основанные на клетках и тканях» (Human cells, tissues, or cellular and tissue based products, HCT/P) и входит в компетенцию Отдела по тканям и передовой терапии СВЕР — Центра оценки и изучения биологических препаратов [2]. Основные требования к доклиническому изучению лекарственных препаратов на основе клеток и тканей в странах ЕС объединены в регулирующем Руководстве ЕМА [3], в США — в Руководстве для отрасли «Доклиническая оценка экспериментальных препаратов для клеточной и генной терапии» [4].

В Российской Федерации до момента вступления в силу Федерального закона № 180-ФЗ и нормативно-правовых актов, обеспечивающих его действие, отсутствовала законодательная база, регламентирующая разработку, проведение доклинических исследований (ДКИ) и КИ препаратов, содержащих в своем составе жизнеспособные клетки человека, что являлось препятствием для их внедрения в медицинскую практику, помимо научно-исследовательских разработок и «пилотных» исследований, которые проводились различными НИИ и медицинскими центрами. Например, в научной литературе Супотницким М.В. и др. [5] опубликованы результаты применения БМКП при замещении клеток, восстановлении структуры и функций тканей и органов человека, активации собственных восстановительных процессов его организма (ре-

генеративная терапия), создании тканей и органов биоинженерными методами (тканевая инженерия), доставке лекарственных препаратов в организм человека, а также при коррекции иммунных реакций различного типа.

Законодательство в области БМКП находится на этапе становления, и изначально существуют определенные различия в понятиях и механизмах признания результатов разработки препаратов регуляторными органами от зарубежных руководств. Так, БМКП в соответствии с Федеральным законом № 180-ФЗ являются отдельной группой препаратов для медицинского применения (а не биологическим лекарственным средством, в соответствии с определением «биологического лекарственного средства», утвержденным в Федеральном законе № 61-ФЗ); в законодательстве ЕС и США данная группа препаратов относится к биологическим — «biologicals»; существуют значительные отличия и в классификации препаратов [6].

Следует отметить наличие в странах ЕС механизма сертификации препаратов передовой терапии (ППТ) [7]. Сертификации могут подлежать данные о качестве и ДКИ, минимальный набор которых для прохождения научной экспертизы в целях сертификации определен Руководством [8] (рис. 1). Процедура сертификации является независимой от процедуры подачи заявки на получение регистрационного удостоверения и может проводиться для препаратов на любой стадии их разработки (объем данных должен соответствовать стадии разработки). Сертификация призвана упростить в будущем экспертизу заявки на проведение КИ и заявки на получение регистрационного удостоверения, основывающихся на тех же самых данных.

Еще одним важным моментом, касающимся ДКИ препаратов на основе клеток и тканей в странах ЕС, является то, что в соответствии с Постановлением (ЕС) 1394/2007 [9] клинический опыт может замещать собой некоторые части доклинической разработки.

Однако приемлемость данного подхода зависит от качества собранных данных. Подобный подход должен быть обоснован Заявителем, который единолично несет все связанные с этим риски, при этом необходимо подтвердить, что данные, подаваемые взамен данных ДКИ, действительно актуальны в отношении препарата, на который подается заявка. В любом случае, необходимо представить обоснование для исключения из плана исследований любых ДКИ [9, 10]. Например, при регистрации препарата Holoclar® в декабре 2014 г. Комитет по препаратам передовой терапии (CAT), рассмотрев предоставленные разработчиками документы, оценив обоснования о нецелесообразности проведения традиционных ДКИ вследствие отсутствия подходящих экспериментальных моделей и наличия положительного клинического опыта (с 1998 г.), допустил регистрацию данного препарата при наличии сокращенной программы ДКИ. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) ЕМА одобрил выводы CAT [11]. В случае с препаратом Gentuit™ на

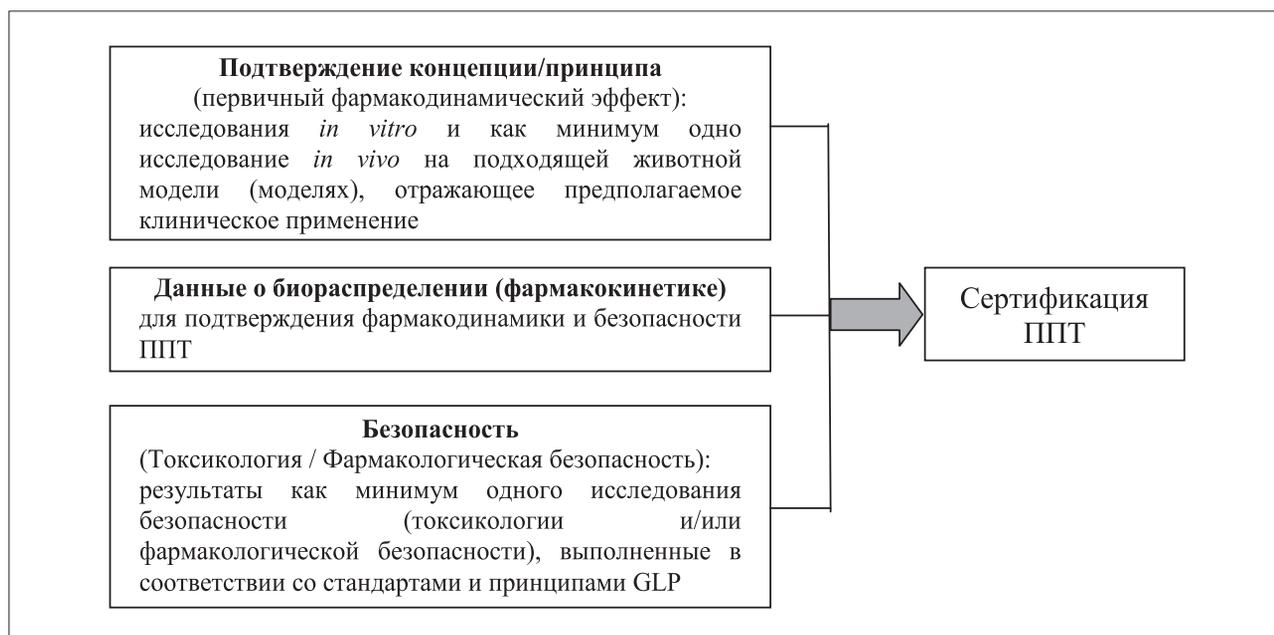


Рис. 1. Минимальный набор данных ДКИ для сертификации ППТ в странах ЕС

основе аллогенных кератиноцитов и фибробластов токсикологических исследований не проводилось, что связано с природой и свойствами препарата и ранее полученным обширным доклиническим и клиническим опытом сходного с Gentuit™ препарата Apligraf®, зарегистрированного ранее и используемого в практике к моменту регистрации Gentuit™ более 10 лет [12].

В Российской Федерации представление данных (отчета) о ДКИ является обязательным при подаче заявления о государственной регистрации БМКП (п. 6, ч. 2, ст. 9 Федерального закона № 180-ФЗ) или при получении разрешения на проведение многоцентровых международных КИ (ст. 30 Федерального закона № 180-ФЗ). Отчет о ДКИ является ключевым документом, на основании которого, а также проектов протоколов проведения КИ эксперты делают заключение о возможности проведения КИ БМКП в ходе экспертизы документов для получения разрешения на проведение КИ. Отсутствует в российском законодательстве и норма возможности замещения каких-либо ДКИ опытом и результатами клинического применения, осуществляемого в рамках разработки или апробации препарата, поданного на государственную регистрацию.

### ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БМКП (НЕ ВКЛЮЧАЮЩИЕ ОЦЕНКУ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТА)

Выбор приемлемых методов доклинических исследований позволит обеспечить создание эффективных и безопасных БМКП с дальнейшим их внедрением в клиническую практику.

ДКИ БМКП должны проводиться в соответствии с Правилами надлежащей практики по работе с БМКП (далее — «Правила...»), которые включают два раздела: Правила надлежащей производственной практики для биомедицинских клеточных продуктов и Правила проведения доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов. Кроме того, для разработчиков предусмотрена возможность консультирования экспертным учреждением по вопросам, связанным в том числе с ДКИ и КИ БМКП, в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения № 542н от 23.08.2017 «Об утверждении Порядка консультирования по вопросам, связанным с проведением доклинических исследований, клинических исследований БМКП, биомедицинской экспертизы БМКП, государственной регистрации БМКП».

В Российской Федерации разрешено использовать три типа БМКП (табл. 1).

Таблица 1

### ТИПЫ БИМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ [1]

№ п/п	Тип БМКП	Особенности состава и применения БМКП
1	Аутологичный	Содержит клеточную линию (клеточные линии), полученную из биологического материала определенного человека, и предназначен для применения этому же человеку
2	Аллогенный	Содержит клеточную линию (клеточные линии), полученную из биологического материала определенного человека, и предназначен для применения другим людям
3	Комбинированный	Содержит клеточные линии, полученные из биологического материала нескольких людей, и предназначен для применения одному из них

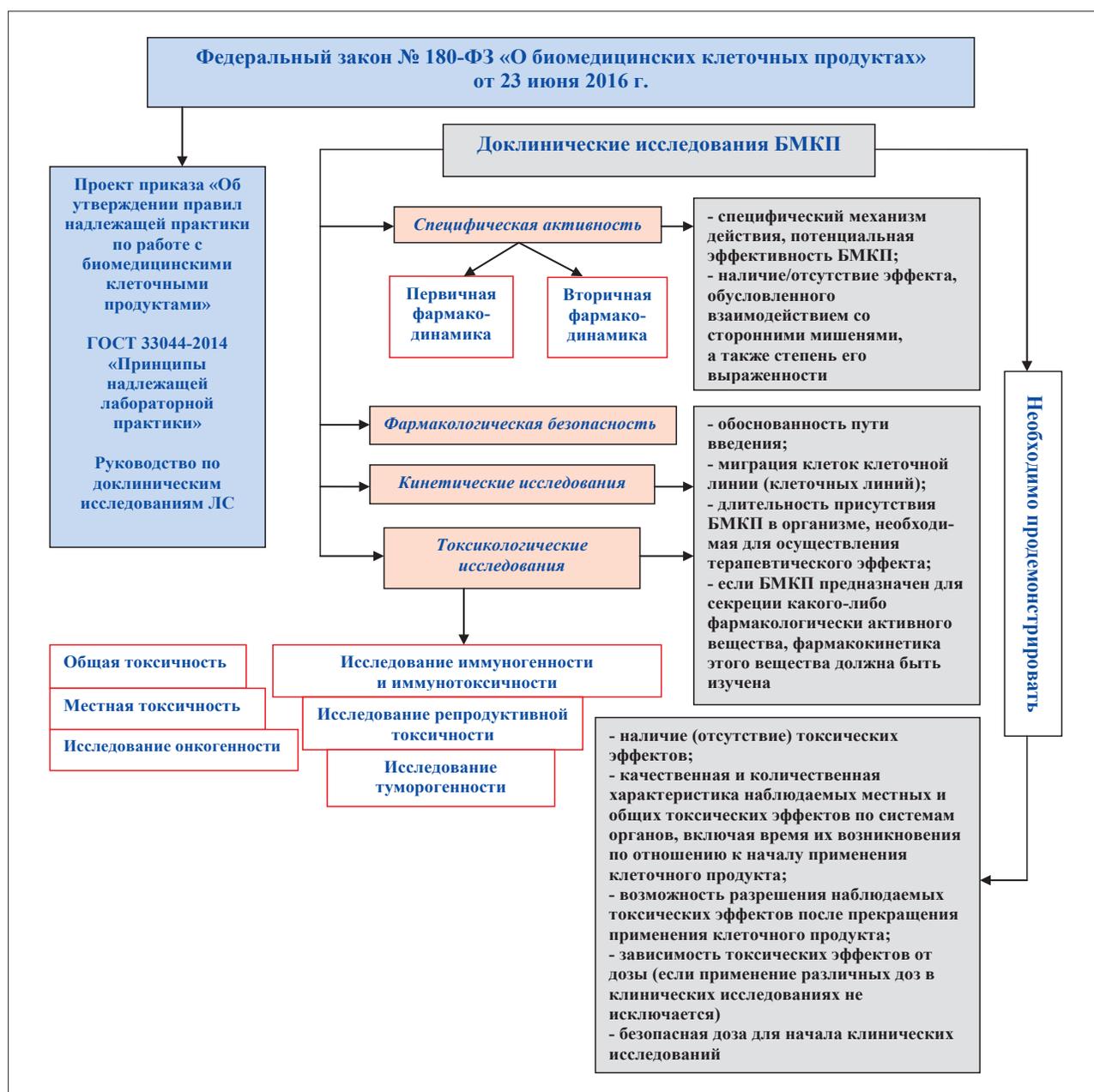


Рис. 2. Этапы оценки БМКП в рамках доклинического исследования

Данные препараты, имеющие различия по сложности состава, происхождению и типам клеток, могут представлять собой самообновляющиеся стволовые клетки, более детерминированные клетки-предшественники или полностью дифференцированные клетки, в частности, со специфическими регенеративными, иммуномодулирующими, секреторными функциями [3, 13]. Ввиду биологического разнообразия клеток, лекарственных препаратов, медицинских изделий, использующихся в составе БМКП, подходы к проведению исследований эффективности и безопасности в ходе проведения ДКИ могут отличаться, поэтому «Правила...» не описывают конкретных методик проведения ДКИ, а содержат общую схему и необходимый (базовый) объем проведения исследований для аутологичных БМКП, дополненный для аллогенных, комбинированных, подвергнутых гене-

тической модификации, содержащих лекарственные препараты или медицинские изделия БМКП (рис. 2). Каждый разработчик должен составить и обосновать программу исследований для своего БМКП, в ходе которой должны быть продемонстрированы безопасность всех структурных компонентов БМКП и их соответствие предполагаемой функции, принимая во внимание их физические, механические, химические и биологические свойства.

Учитывая особенность БМКП (наличие клеточного компонента), одной из самых сложных является проблема выбора модели животных для определения исследований эффективности и безопасности.

В соответствии с «Правилами...» в ходе ДКИ помимо БМКП, предназначенного для использования у человека, для доказательства фармакологических эффектов может быть использован «гомологичный

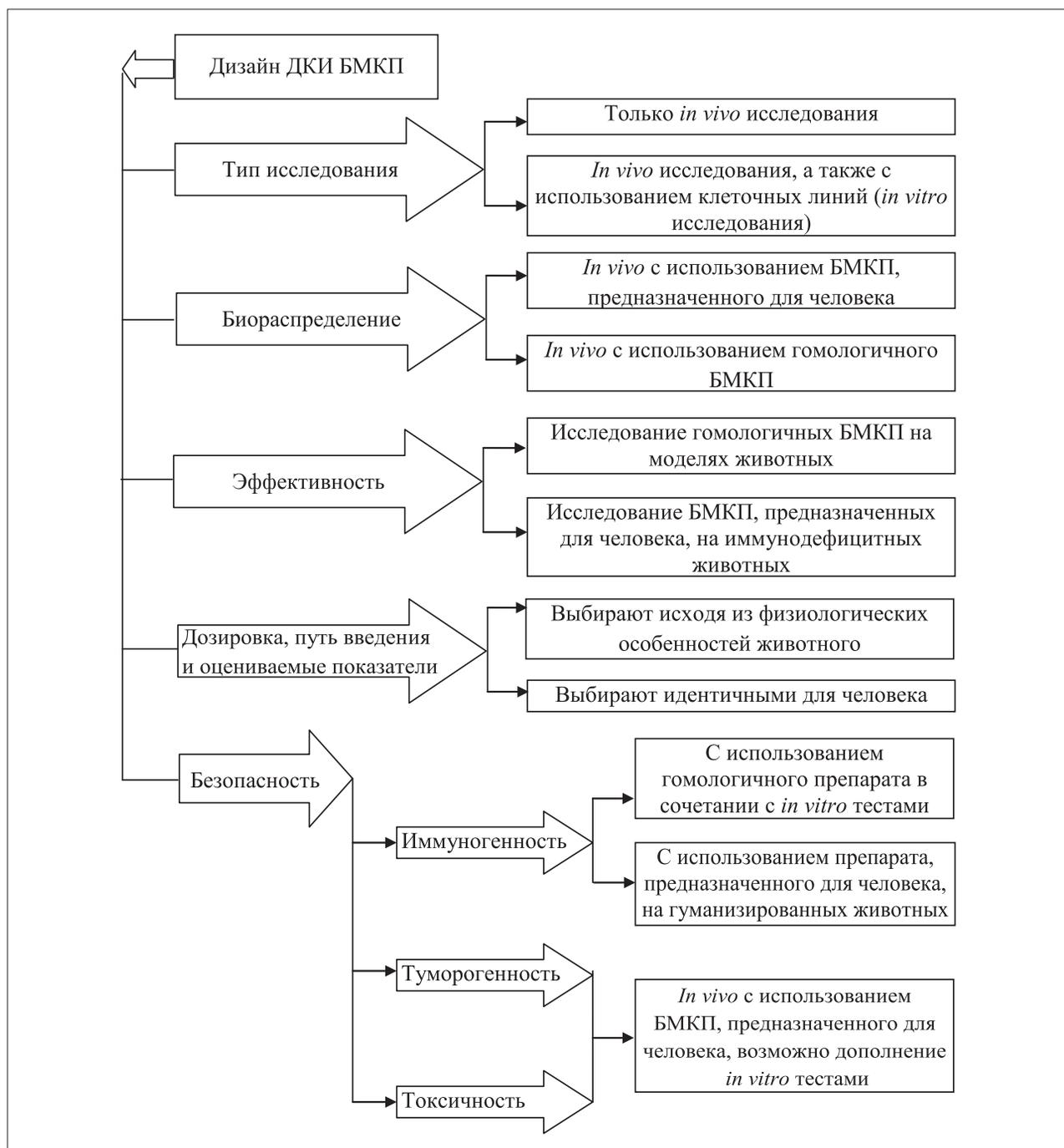


Рис. 3. Выбор моделей при проведении ДКИ БМКП

препарат» — БМКП, полученный из того же типа клеток и тканей животных по аналогичной технологии, что и БМКП, планируемый для применения у человека, что помогает избежать иммунного ответа у животных на клетки человека. Ключевым свойством гомологичной модели является воспроизведение у животного тех же эффектов, которые предполагаются при использовании БМКП, предназначенного для применения у человека. Кроме того, при наличии обоснования о невозможности проведения всех ДКИ на подходящей модели *in vivo* или гомологичного ему продукта животного происхождения, исследования могут быть частично про-

ведены на модели *in vitro*. Доклинические исследования БМКП проводятся на подходящих моделях животных, способных продемонстрировать сходный с ожидаемым у человека биологический ответ на введение БМКП или его гомолога. Подходящая модель должна включать в себя млекопитающих; быть сопоставимой по физиологическим реакциям с организмом человека в части, относящейся к механизму действия БМКП; обладать иммунной толерантностью к вводимому БМКП, позволяющей ему проявить свое биологическое действие; обеспечивать применение предусмотренного у человека пути введения.

На рисунке 3 представлены типы исследований, примеры выбора моделей, а также критерии выбора доз, пути введения и оцениваемых показателей при проведении ДКИ БМКП.

Более подробно модели животных для проведения ДКИ БМКП, включая частные примеры проведения ДКИ для БМКП на основе мезенхимных стволовых клеток (МСК) для стимуляции ангиогенеза при ишемии нижних конечностей, для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, для стимуляции регенерации периферических нервов, для иммуномодуляции при туберкулезной инфекции, БМКП для регенерации суставного хряща, печени и поджелудочной железы описаны в работе [14].

Следующим моментом при планировании экспериментов ДКИ БМКП является выбор модели заболевания/повреждения, необходимый для определения соотношения риска и пользы, связанных с применением БМКП и определения взаимосвязи между дозой БМКП и его активностью и токсичностью.

Примеры моделей заболевания/повреждения животных на исследованиях для различных групп БМКП приведены в работе [15].

Согласно «Правилам...» в отчете о ДКИ, представляемом для формирования регистрационного досье в рамках государственной регистрации, необходимо обосновать «наличие различий и сходств между патофизиологией заболевания или состояния, моделированного в ходе исследования специфического действия БМКП на организм, и патофизиологией заболевания или состояния, наблюдаемого у человека; влияние заболевания (патологического состояния) модели на специфическое действие БМКП на организм; наличие ограничений на перенос данных, полученных в ходе эксперимента на модели на применение БМКП у человека».

Объем доклинических фармакологических исследований, проводимых в условиях *in vivo* или *in vitro*, должен быть достаточным для того, чтобы продемонстрировать механизм действия БМКП для дальнейшего его применения у человека.

В рамках изучения первичной фармакодинамики следует использовать обоснованные маркеры биологической активности, достоверно отражающие специфический механизм действия, потенциальную эффективность БМКП в организме «хозяина».

ДКИ вторичной фармакодинамики проводятся в случае наличия подтвержденных данных о фармакологическом действии или эффектах БМКП, обусловленных связыванием с не являющимися для него основными мишенями.

В рамках ДКИ осуществляется выбор безопасных доз, пути и кратности применения БМКП, выявление нежелательных реакций на фоне применения БМКП, а также идентификация органов-мишеней для оценки токсичности и параметров, которые следует в дальнейшем контролировать у пациентов, получающих БМКП.

В ходе проведения кинетических исследований необходимо обосновать пути введения, исследовать миграцию клеток клеточной линии (клеточных ли-

ний) из состава БМКП из места введения; длительность существования продукта в организме (если предполагается его полная или частичная элиминация) или его присутствие в организме в течение времени, необходимого для осуществления терапевтического эффекта [16]. Если БМКП предназначен для секреции какого-либо фармакологически активного вещества, фармакокинетика этого вещества должна быть изучена.

Токсикологические ДКИ должны быть проведены (максимально приближены) в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (GLP). В ходе исследований должно быть показано:

- наличие (отсутствие) токсических эффектов;
- качественная и количественная характеристика наблюдаемых местных и общих токсических эффектов по системам органов, включая время их возникновения по отношению к началу применения клеточного продукта;
- возможность разрешения наблюдаемых токсических эффектов после прекращения применения клеточного продукта;
- зависимость токсических эффектов от дозы (если применение различных доз в КИ не исключается);
- определена безопасная стартовая доза для начала КИ.

На рисунке 4 представлены схема и требования к проведению исследований по определению общей и местной токсичности БМКП в соответствии с «Правилами...».

Помимо исследований общей и местной токсичности в ходе ДКИ могут проводиться исследования иммуногенности и иммунотоксичности для БМКП, предназначенных для модификации иммунологических реакций различного типа в рамках исследования их фармакологической активности. Также исследования иммуногенности проводятся для БМКП, содержащих генетические модификации и аллогенные клеточные линии. Объем исследований репродуктивной токсичности зависит от показаний к применению и популяции пациентов, для которых предназначается БМКП.

В рамках определения безопасности препарата вероятность возникновения онкогенеза, в отличие от лекарственного средства, оценивают, исследуя туморогенность клеточного материала препарата. Туморогенность — это способность неопластических клеток, растущих в культуре, формировать опухоли при инокуляции животным [17]. В исследованиях туморогенности на животных должен использоваться целевой клинический препарат, а не аналогичные животные клетки.

В зарубежной практике выявлению возможности опухолеобразования большое внимание уделяется при проведении ДКИ препаратов, содержащих в своем составе стволовые и слабодифференцированные клетки, а также клетки, подвергающиеся сильному химическим и физическим воздействиям в процессе производства, например, облучению. Так, стандартное шестинедельное исследование туморогенности на мышах для препарата Prochymal®



Рис. 4. Требования к проведению исследований по определению общей и местной токсичности БМКП

(комплекс культивированных *ex vivo* мезенхимальных стромальных клеток) в случае с препаратом Holoclar®, обычных исследований на канцерогенность/туморогенность не проводилось, они были заменены на оценку трансформационного потенциала и пролиферативной активности [11].

Согласно «Правилам...» исследования туморогенности проводятся на подходящих моделях и включают в себя исследования возможности эктопического приживания клеточного продукта (за пределами целевой области применения). Цель изучения туморогенности состоит в оценке возможности образования опухолевой ткани (как злокачественной, так и доброкачественной) непосредственно из клеточной линии БМКП, а также любых изменений клеточного продукта в организме, которые можно трактовать как предопухолевые [16]. Продолжительность исследования туморогенности

не должна быть меньше продолжительности исследования общей токсичности.

Необходимыми исследованиями безопасности БМКП являются и исследования онкогенности, особенно для БМКП, содержащих неспециализированные клетки или секретирующие факторы, влияющие на рост и дифференцировку клеток, а также подвергнутых генетической модификации, или содержащих лекарственные препараты и секретирующие фармакологически активные вещества при отсутствии сведений об их онкогенности. Срок наблюдения за лабораторными животными при исследованиях онкогенности составляет 24 мес. для крыс и 18 мес. для мышей. Обязательно использование контрольной группы животных, не получающей БМКП. БМКП, в отношении которого не проведено исследований онкогенности, должен рассматриваться как потенциально онкогенный.

Таблица 2

**КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ  
НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ [18]**

№ п/п	Оригинальное название	Статус	Дата начала/завершения исследования	Показания	Содержание исследования	Место проведения
1	Autologous Tolerogenic Dendritic Cells for Treatment of Patients With Rheumatoid Arthritis	Набор пациентов	декабрь 2016 / сентябрь 2018	Ревматоидный артрит	Безопасность/эффективность внутрисуставного введения аутологичных толерогенных дендритных клеток для лечения больных ревматоидным артритом	ФГБУ «Российский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск
2	Allogenic Mesenchymal Stem Cells for the Critical Limb Ischemia Therapy	Набор пациентов	октябрь 2013 / ноябрь 2018	Критическая ишемия конечностей	Лечение критической ишемии конечностей аллогенными МСК	Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва
3	Autologous Antigen-activated Dendritic Cells in the Treatment of Patients With Colorectal Cancer	Набор пациентов	сентябрь 2016 / сентябрь 2019	Колоректальный рак	Исследование клинической и лабораторной эффективности аутогенотерапии, основанной на аутологичных антиген-активированных дендритных клетках для лечения пациентов с колоректальным раком	ФГБУ «Российский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск
4	Tissue-engineered Construct Based on Buccal Mucosa Cells and Matrix From Collagen and Polyactoglycolide Fibers	Набор пациентов	июнь 2017 / июнь 2022	Дефекты (сужение) уретры	Открытое перспективное КИ безопасности и эффективности хирургического лечения больных с дефектами переднего отдела уретры с использованием тканевой конструкции на основе аутологичных буккальных клеток слизистой оболочки и матрицы из восстановленного коллагена и армирующих полилактогликолидных волокон	ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва
5	Autologous Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells for Atrophic Endometrium in Patients With Repeated IVF Failures	Набор пациентов	сентябрь 2017 / февраль 2019	Бесплодие, синдром Ашермана	Открытое рандомизированное исследование клинической эффективности и безопасности клеточного продукта на основе аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления эндометрия у пациентов с повторными нарушениями ЭКО	ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург
6	Autologous Dendritic Cell Vaccine for Treatment of Patients With Chronic HCV Infection	Набор пациентов	май 2015 / май 2018	Гепатит С	Безопасность/эффективность вакцинации аутологичными дендритными клетками активированными рекомбинантными HCV-антигенами (Core и NS3) для лечения больных хронической HCV-инфекцией	ФГБУ «Российский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск
7	Safety and Efficacy of Allogenic Mesenchymal Stem Cells in Patients With Rapidly Progressive Interstitial Lung Disease	Набор пациентов	февраль 2017 / сентябрь 2019	Идиопатический фиброз легких	I и II фазы исследование для оценки безопасности и эффективности аллогенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациентов с быстро прогрессирующим интерстициальным заболеванием легких	Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва
8	Neural Stem Cell Transplantation in Traumatic Spinal Cord Injury	Активная фаза	июль 2014 / декабрь 2019	Травмы спинного мозга	Безопасность и эффективность аутологичной трансплантации нейральных стволовых клеток пациентам с травмой спинного мозга	Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва
9	Effectiveness and Safety of Method of Maxilla Alveolar Process Reconstruction Using Synthetic Tricalcium Phosphate and Autologous MMSCs	Регистрация по запросу	сентябрь 2014 / март 2018	Дефекты челюсти, атрофия альвеолярного отростка	Эффективность и безопасность метода восстановления дефектов верхней челюсти с использованием тканеинженерной конструкции на основе синтетического трикальциевого фосфата и аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, полученных из слизистой оболочки полости рта	ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой медицинского центра управления делами Президента Российской Федерации», Москва; Центр биомедицинских технологий, Москва; Московский государственный медицинский стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва

№ п/п	Оригинальное название	Статус	Дата начала/завершения исследования	Показания	Содержание исследования	Место проведения
10	Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells in the Combined Treatment of Coronary Heart Disease	Активная фаза	февраль 2013 / февраль 2018	Ишемическая болезнь сердца	Влияние введения аутологичных стволовых клеток костного мозга на длительность функционирования аортокоронарных шунтов при хирургическом лечении ишемической болезни сердца	Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург
11	Laryngo-Tracheal Tissue-Engineered Clinical Transplantation	Исследование завершено, результаты опубликованы	декабрь 2013 / декабрь 2016	Заболевания трахеи	КИ биоискусственного каркаса, засеянного стволовыми клетками, у пациентов с доброкачественными и злокачественными заболеваниями трахеи	Клинический региональный госпиталь, г. Краснодар
12	The Study of the Effectiveness of Tissue Equivalent on the Basis of Cultured Cells to Heal Skin Blemishes	Набор пациентов не ведется	февраль 2013 / июль 2018	Нейротрофические язвы, ожоги	Фаза 2 КИ: использование тканевого эквивалента на основе культивируемых клеток для заживления повреждений кожи	Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург
13	Autologous Dendritic Cell Vaccine Loaded With Allogenic Tumor Lysate Expression of Cancer Testis Antigens in Patients With Soft Tissue Sarcoma	Набор пациентов	июнь 2013 / сентябрь 2017	Саркома, новообразования соединительной и мягких тканей	Нерандомизированное одноцентровое исследование II фазы по оценке эффективности и токсичности аутологичной дендритно-клеточной вакцины, нагруженной антигеном — лизатом опухоли рака яичка у пациентов с саркомой мягких тканей	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
14	Proteome-based Immunotherapy of Lung Cancer Brain Metastases	Регистрация по запросу	декабрь 2012 / декабрь 2020	Метастазы при новообразованиях	Протеом-основанная персонализированная иммунотерапия метастазов в головном мозге от рака легких (аутологичные и аллогенные дендритно-клеточные вакцины)	ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «НЕЙРОВИТА», Москва
15	Proteome-based Immunotherapy of Brain Metastases From Breast Cancer	Регистрация по запросу	декабрь 2012 / декабрь 2020	Метастазы при новообразованиях	Протеом-основанная персонализированная иммунотерапия метастазов в головном мозге от рака груди (аутологичные и аллогенные дендритно-клеточные вакцины)	ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «НЕЙРОВИТА», Москва
16	Proteome-based Personalized Immunotherapy of Glioblastoma	Регистрация по запросу	декабрь 2012 / декабрь 2020	Глиобластома	Протеом-основанная персонализированная иммунотерапия злокачественных опухолей головного мозга (аутологичные и аллогенные дендритно-клеточные вакцины)	ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «НЕЙРОВИТА», Москва
17	Plasmonic Photothermal and Stem Cell Therapy of Atherosclerosis Versus Stentina	Остановлено	декабрь 2010 / октябрь 2012	Атеросклероз	Терапия атеросклероза лазером с использованием золотых частиц и стволовыми клетками	Исследовательский фонд «Де Хаар», Роттердам, Нидерланды; Уральский центр современных нанотехнологий, Институт естественных наук, Уральского федерального университета, г. Екатеринбург; Уральский институт кардиологии, г. Екатеринбург
18	Endocardial Stem Cells Approach Efficacy	Завершено	февраль 2007 / декабрь 2011	Ишемия миокарда	Эффективность имплантации эндокардиальных стволовых клеток у больных с ишемической болезнью сердца	НИИ патологии кровообращения им. Е. Н. Мешалкина, г. Новосибирск

*Примечания.* Поиск зарегистрированных в «Реестре...» КИ на территории России осуществлялся по параметрам: ключевые слова — cell therapy and stem cell; статус КИ — набор пациентов (Recruiting), набор пациентов не ведется (Not yet recruiting), активная фаза (Active, not recruiting), завершено (Completed), регистрация по запросу (Enrolling by invitation), остановлено (Terminated); страна проведения — Российская Федерация. Из результатов поиска исключены КИ клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани, не подвергавшихся экспансии и, соответственно, не относящихся к прототипам БМКП. Поиск по ключевым словам (например, chondrocytes, cardiomyoblasts), которые позволяют выявить КИ препаратов на основе клеток человека (не МСК) на территории России, результатов не дал.

## КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ БМКП

На сегодняшний день одним из основных ресурсов в глобальной сети Интернет о проводимых КИ является «Реестр клинических исследований федеральных и частных фармацевтических компаний» (Clinical Trials registry and database, www.ClinicalTrials.gov) (далее «Реестр...»). «Реестр...» был создан FDA в 1997 г. с целью обязательной регистрации проводимых на территории США КИ. КИ, проводимые в других странах, регистрируются в «Реестре...» в добровольном порядке, в настоящее время многие страны мира размещают информацию о проводимых КИ. По состоянию на 25 декабря 2017 г. в «Реестре...» содержатся сведения как минимум о 18 зарегистрированных клинических исследованиях препаратов для клеточной терапии на территории Российской Федерации (табл. 2).

Однако необходимо отметить, что в Российской Федерации регуляторными органами при государственной регистрации ЛС и БМКП, признаются КИ, проводимые в соответствии с разрешениями на проведение КИ, выданными Министерством здравоохранения Российской Федерации.

Из данных, приведенных в таблице 2, следует, что представленные зарегистрированные КИ на территории России проводятся (или проводились) — 3 КИ на сегодняшний день имеют статус «завершено» или «остановлено», 1 КИ (№ 13) — статус «набор пациентов») исключительно с МСК или дендритными клетками, 9 препаратов являются аутологичными, 2 — аллогенными, в 4 КИ исследуются тканеинженерные конструкции; в 6 КИ применяются дендритно-клеточные вакцины (ДКВ) (в трех из которых — как для аутологичного, так и для аллогенного применения), для лечения онкологических заболеваний проводятся 5 КИ ДКВ, одно КИ — для лечения гепатита С.

Учитывая особенность состава, специфику показаний к применению БМКП, а также анализируя результаты приведенного поиска КИ, необходимо отметить следующие особенности проведения КИ БМКП:

- в клинических исследованиях БМКП (в подавляющем большинстве случаев) не будут участвовать здоровые добровольцы (соответственно фазы 1 и 2 КИ будут объединены);

- количество пациентов, участвовавших в разных фазах КИ БМКП, будет меньше по сравнению с КИ лекарственных средств;

- для контроля рисков и нежелательных реакций после применения БМКП включение пациентов в проведение КИ предпочтительно проводить последовательно, а в некоторых случаях поэтапное включение пациентов будет происходить из-за невозможности одновременно подобрать добровольцев в соответствии с определенными критериями включения;

- вариабельность доноров для клеток, входящих в состав БМКП (преимущественно для аллогенных и комбинированных), может привести к различному ответу на терапию в плане эффективности и иммунного ответа, а также в плане возникновения

нежелательных реакций, поэтому критерии стандартизации (диапазон приемлемых значений показателей спецификации) клеточного компонента должны быть определены еще на этапе разработки и исследованы на этапе ДКИ;

- необходимость формирования хорошо спланированной программы мониторинга нежелательных эффектов в процессе КИ БМКП, четких критериев приостановки/прекращения исследований;

- для обоснования выбора клинически значимых конечных точек оценки эффективности и безопасности необходимо применять данные соответствующих ДКИ препарата (а также аналогов, имеющихся на рынке), накопленный опыт клинического применения для изучаемой патологии;

- возможность разного ответа на терапию БМКП и ограниченное число добровольцев, участвовавших в КИ, может привести к затруднению формирования списка нежелательных (серьезных нежелательных, непредвиденных нежелательных) реакций.

В соответствии с Федеральным законом № 180-ФЗ клинические исследования изучаемого БМКП предполагают оценку его профилактических, диагностических, лечебных, реабилитационных свойств в процессе применения БМКП человеку в целях получения доказательств его безопасности и эффективности, данных о побочных действиях такого продукта и нежелательных реакциях, связанных с его применением, а также об эффекте взаимодействия исследуемого БМКП с другими БМКП, лекарственными препаратами и/или медицинскими изделиями, пищевыми продуктами [19].

Клинические исследования БМКП должны проводиться в соответствии с Приказом Минздрава России от 22 сентября 2017 г. № 669н «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики биомедицинских клеточных продуктов», регулирующим отношения по планированию, организации, проведению, мониторингу, аудиту и документированию клинических исследований изучаемого БМКП с участием человека [16]. ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» может использоваться при проведении КИ БМКП совместно с настоящими Правилами в части, им не противоречащей. КИ может проводить только медицинская организация, аккредитованная на право проведения клинических исследований БМКП [20]. Необходимо отметить, что «пилотные» КИ, проведенные в рамках научной разработки и не имеющие разрешения Минздрава России на проведение КИ соответствующего БМКП (данное разрешение выдается в рамках государственной регистрации БМКП после проведения экспертизы качества и экспертизы документов для проведения КИ), не могут быть приняты при государственной регистрации.

План клинического этапа разработки БМКП должен включать изучение фармакодинамических свойств, т.е. оценку эффекта в организме реципиента, и фармакокинетических свойств — оценку мониторинга жизнеспособности, дифференциации, миграции, функциональной активности БМКП в период предполагаемого жизненного цикла про-



Рис. 5. Этапы оценки БМКП в рамках клинического изучения

дукта в организме человека. Следует проводить КИ для определения режима дозирования (как правило, выбранного в процессе ДКИ), оказывающего оптимальный и продолжительный терапевтический эффект, а также для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения с использованием клинически значимых критериев эффективности в соответствии с руководствами по конкретным нозологиям (рис. 5). Существует необходимость и в оценке фармакобезопасности в рамках долгосрочных исследований.

В рамках программы клинической разработки должны быть изучены все особенности применения БМКП, включая метод введения и необходимость проведения сопутствующего лечения, что в дальнейшем должно быть описано в инструкции по применению БМКП. В случае, когда механизм действия БМКП не до конца изучен, основные эффекты препарата должны быть описаны. Когда состав БМКП включает также неклеточный компонент, должна проводиться оценка комбинации с целью определения совместимости, скорости деградации и функциональной активности продукта. Требования к исследованиям фармакокинетики, включая возможную методологию, информативность, должны формулироваться индивидуально.

Выбор дозы при КИ БМКП должен быть основан на данных, полученных при изучении качества и при проведении ДКИ изучаемого БМКП, и связан

с его потенциальной эффективностью. Дизайн исследований дозирования должен быть разработан таким образом, чтобы определить минимальную эффективную дозу БМКП, то есть наименьшую дозу, которая позволит получить желаемый эффект, или диапазон оптимальной эффективной дозы, определяемый как максимальный диапазон доз, необходимый для получения желаемого эффекта на основе результатов КИ эффективности и переносимости БМКП. Если это возможно, также должна быть изучена максимальная безопасная доза, которая определяется как максимальная доза, введение которой, на основании результатов исследования клинической безопасности, возможно без развития нежелательных реакций.

КИ по оценке эффективности должны быть адекватно спланированы для того, чтобы:

- продемонстрировать эффективность БМКП на целевой популяции пациентов, используя клинически значимые конечные точки и обоснованность режима применения, приводящего к достижению оптимального терапевтического эффекта;

- оценить продолжительность терапевтического эффекта назначаемого БМКП и соотношение польза/риск, принимая во внимание существующие терапевтические альтернативы для целевой популяции пациентов.

Выводы о возможности прогнозирования безопасности для целевых популяций должны основываться

ваться на точной и подробной оценке ограничений имеющихся данных КИ либо их отсутствия для каких-либо подгрупп. Любые отклонения от указанных рекомендаций требуют обоснования.

База данных по безопасности должна содержать достаточное количество данных для выявления частых нежелательных реакций. Объем базы данных по безопасности должен определяться с учетом предыдущего опыта клинического применения аналогичных препаратов. Риск, связанный с применением сопутствующих манипуляций или фармакологических воздействий, например, необходимыми хирургическими процедурами для введения БМКП или применения иммунодепрессантов, должен обязательно оцениваться для обоснования КИ, а также для выбора целевой популяции пациентов.

Должны оцениваться все вопросы безопасности применения БМКП, возникающие на этапе доклинической разработки, особенно в случае отсутствия соответствующих моделей у животных для оценки конкретного заболевания или в случае наличия физиологических различий, ограничивающих прогностическую ценность подходящей гомологичной модели у животных.

Особое внимание должно быть обращено на такие биологические процессы, как иммунный ответ, инфекции, возможность злокачественной трансформации клеток, а также на сопутствующее лечение во время этапа разработки и пострегистрационного применения БМКП.

Для БМКП с ожидаемой длительной экспозицией требуется дополнительное наблюдение за пациентами с целью подтверждения долгосрочной эффективности и безопасности. Для оценки БМКП после их регистрации могут потребоваться специальные длительные исследования с целью оценки специфической безопасности, включая потерю эффективности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты доклинических исследований изучаемого БМКП на основе комплексной оценки безопасности, фармакокинетики и специфической фармакологической активности на экспериментальных моделях в условиях *in vitro* и *in vivo*, а также клинические исследования, проводимые на пациентах с различными заболеваниями, являются основополагающими при оценке отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения в рамках государственной регистрации. Для практической реализации положений Федерального закона Российской Федерации от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» в настоящее время совершенствуется система нормативного и правового регулирования БМКП в России, которая позволит регулировать обращение БМКП в соответствие с правилами надлежащих практик.

*Авторы не заявили о конфликте интересов*  
*The authors did not declare a conflict of interest*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Committee for Advanced Therapies (CAT). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about\\_us/general/general\\_content\\_000266.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/about_us/general/general_content_000266.jsp)
2. Human cells, tissues, and cellular and tissue-based products. 21CFR1271. U.S. Department of Health and Human Services. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=1271&showFR=1>
3. Guideline on human cell-based medicinal products. London, 21 May 2008 (EMA/CHMP/410869/2006). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003894.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003894.pdf)
4. Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products. Federal register. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM376521.pdf>
5. Супотницкий МВ, Елапов АА, Борисевич ИВ, Климов ВИ, Лебединская ЕВ, Миронов АН и др. Перспективные методические подходы к доклиническому исследованию биомедицинских клеточных продуктов и возможные показатели их качества. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2015; (1): 36–44. [Supotnitsky MV, Elapov AA, Borisevich IV, Klimov VI, Lebedinskaya EV, Mironov AN, et al. Promising methodological approaches to preclinical studies of biomedical cell-based products and their possible quality characteristics. Biopreparations. Prevention, diagnosis, treatment 2015; (1): 36–44 (In Russ.)]
6. Reflection paper on classification of advanced therapy medicinal products. 21 May 2015 (EMA/CAT/600280/2010). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/06/WC500187744.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/06/WC500187744.pdf)
7. Commission regulation (EC) No 668/2009 of 24 July 2009. Official Journal of the European Union. Available from: [http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg\\_2009\\_668/reg\\_2009\\_668\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg_2009_668/reg_2009_668_en.pdf)
8. Guideline on the minimum quality and non-clinical data for certification of advanced therapy medicinal products. 15 October 2010 (EMA/CAT/486831/2008/corr). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/01/WC500070031.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070031.pdf)
9. Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union. Available from: [http://www.biosafety.be/PDF/1394\\_2007\\_EN.pdf](http://www.biosafety.be/PDF/1394_2007_EN.pdf)
10. Reflection paper on in-vitro cultured chondrocyte containing products for cartilage repair of the knee. London, 08 April 2010 (EMA/CAT/CPWP/568181/2009). European Medicines Agency. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/05/WC500090887.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/05/WC500090887.pdf)
11. European Medicines Agency. Assessment report. Holoclar. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002450/WC500183405.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002450/WC500183405.pdf)
12. Cellular, Tissue and Gene Therapies Advisory Committee Rel Links. U.S. Department of Health and Human Services. Available from: <https://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/CellularTissueandGeneTherapiesAdvisoryCommittee/default.htm>
13. Пятигорская НВ, Тулина МА, Аладышева ЖИ, Береговых ВВ. Международные подходы к регулированию препаратов клеточной терапии. Вестник Российской академии медицинских наук 2013; 68(8): 4–8. [Pyatigorskaya NV, Tulina MA, Aladysheva ZhI, Beregovykh VV. International approaches to the regulation of cell therapy products. Annals of the Russian academy of medical sciences 2013; 68(8): 4–8 (In Russ.)]
14. Ткачук ВА. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов. М.: МГУ им. Ломоносова; 2017. [Tkachuk VA. Methodical recommendations for conducting preclinical studies of biomedical cellular products. Moscow: Lomonosov Moscow State University; 2017 (In Russ.)]
15. Мельникова ЕВ, Меркулова ОВ, Чапленко АА, Меркулов ВА. Дизайн доклинических исследований БМКП: особенности,

- ключевые принципы и требования. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(3): 133–44. [Melnikova EV, Merkulova OV, Chaplenko AA, Merkulov VA. Design of preclinical studies of biomedical cell products: characteristics, key principles and requirements. Biopreparations. Prevention, diagnosis, treatment 2017; 17(3): 133–44 (In Russ.)]
16. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22 сентября 2017 г. № 669н «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики биомедицинских клеточных продуктов». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 22.09.2017, No 669n «On approval of the rules of good practice for working with biomedical cellular products» (in Russ.)] Available from: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_282104](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_282104)
17. Lewis AM Jr. Regulatory implications of neoplastic cell substrate tumorigenicity. U.S. Food and Drug Administration 2005; 31. Available from: <http://slideplayer.com/slide/5673889>
18. ClinicalTrials.gov. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/home>
19. Федеральный закон Российской Федерации от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». [Federal Law of the Russian Federation of 23.06.2016, No. 180-FZ «On Biomedical Cell Products» (In Russ.)] Available from: <https://rg.ru/2016/06/28/produkti-dok.html>
20. Постановление Правительства РФ № 1015 от 25 августа 2017 г. «Об утверждении Правил аккредитации медицинских организаций на право проведения клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов». [Resolution of the Government of the Russian Federation of 25.08.2017, No. 1015 «On the Approval of the Rules for the Accreditation of Medical Organizations for the Right to Conduct Clinical Studies of Biomedical Cell Products» (In Russ.)] Available from: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71654384>

## ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Тихомирова Анна Владимировна.* Ведущий эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. фарм. наук

*Горячев Дмитрий Владимирович.* Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук

*Меркулов Вадим Анатольевич.* Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, проф.

*Лысыкова Ирина Викторовна.* Начальник управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

*Губенко Анна Игоревна.* Заместитель начальника управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

*Забрев Александр Иванович.* Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

*Соловьева Анна Петровна.* Главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

*Ромодановский Дмитрий Павлович.* Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

*Мельникова Екатерина Валерьевна.* Главный эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук

Статья поступила 28.09.2017  
Article was received 28 September 2017

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Anna V. Tikhomirova.* Leading Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Pharmaceutical Sciences

*Dmitry V. Goryachev.* Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences

*Vadim A. Merkulov.* Deputy General Director for Evaluation of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences, Professor

*Irina V. Lysikova.* Head of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

*Anna I. Gubenko.* Deputy Head of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

*Aleksandr I. Zebrev.* Chief Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

*Anna P. Solovieva.* Chief Expert of Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products

*Dmitry P. Romodanovsky.* Chief Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

*Ekaterina V. Melnikova.* Chief Expert of the Laboratory of Biomedical Cell Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

Принята к печати 14.02.2018  
Accepted for publication 14 February 2018

## Надлежащая дистрибьюторская практика: модернизация системы качества дистрибьюции лекарственных средств в России

\* Е. В. Яковлева

Общество с ограниченной ответственностью  
«АстраЗенека Фармасьютикалз»,  
Российская Федерация, 125284, Москва, Беговая улица, д. 3, стр. 1

**Резюме.** В статье представлены основные этапы внедрения надлежащей дистрибьюторской практики (GDP) в России, связанные с вступлением в силу новых законодательных актов об обязательном соблюдении организациями оптовой торговли правил хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения. Выполнен сравнительный анализ требований нормативных документов Европейского союза, Евразийской экономической комиссии и Российской Федерации, регламентирующих создание системы GDP субъектами обращения лекарственных средств. Обозначены основные разделы работы, по которым строится эффективно функционирующая система GDP в организации оптовой торговли. Отмечена роль руководителя и назначаемого им ответственного лица в реализации принципов надлежащей дистрибьюторской практики. Рассмотрена модель риск-ориентированного подхода, используемого Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения, применяемая в отношении организаций оптовой торговли лекарственными средствами при проведении надзорных мероприятий. Показано, что гарантировать соответствие лекарственного препарата критериям эффективности и безопасности можно только при соблюдении стандартов GDP.

**Ключевые слова:** надлежащая дистрибьюторская практика; стандарт GDP; хранение лекарственных средств; система менеджмента качества лекарственных средств; фармацевтическая отрасль

**Для цитирования:** Яковлева ЕВ. Надлежащая дистрибьюторская практика: модернизация системы качества дистрибьюции лекарственных средств в России. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 36–43. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-36-43

\* **Контактное лицо:** Яковлева Екатерина Вадимовна; [ekaterina.yakovleva@astrazeneca.com](mailto:ekaterina.yakovleva@astrazeneca.com)

## Good Distribution Practice: Modernisation of the Medicines Distribution System in Russia

\* E. V. Yakovleva

Limited Liability Company «AstraZeneca Pharmaceuticals»,  
3/1 Begovaya street, Moscow 125284, Russian Federation

**Abstract.** The article describes the main stages of introduction of the Good Distribution Practice (GDP) in Russia following the adoption of new laws making it mandatory for wholesalers to comply with requirements for storage and transportation of medicinal products. The article compares the regulatory requirements of the European Union, Eurasian Economic Commission and the Russian Federation for GDP system development by entities involved in medicines circulation. It highlights the main activities that help a wholesaler create an efficient GDP system. The key role in the implementation of GDP principles is played by the director of the company and the employee in charge. The article analyses the risk-oriented approach that the Federal Service for Surveillance in Healthcare relies upon when supervising wholesalers of medicinal products. It was demonstrated that the compliance of a product with efficacy and safety criteria can only be assured if GDP standards are met.

**Key words:** good distribution practice; GDP standard; storage of medicinal products; pharmaceutical quality management system; pharmaceutical industry

**For citation:** Yakovleva EV. Good Distribution Practice: Modernisation of the Medicines Distribution System in Russia. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 36–43. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-36-43

\* **Contact person:** Yakovleva Ekaterina Vadimovna; [ekaterina.yakovleva@astrazeneca.com](mailto:ekaterina.yakovleva@astrazeneca.com)

Контроль процесса обращения лекарственных средств (ЛС) является одним из важнейших вопросов обеспечения национальной безопасности [1]. Возможность появления на рынке некачественных и малоэффективных ЛС, а также продукции сомнительного происхождения вызывает необходимость законодательного регулирования вопросов производства, контроля качества, транспортировки, хранения и реализации ЛС [2].

Цель работы — провести сравнительный анализ требований основных нормативных документов Европейского Союза, Европейской экономической комиссии и Российской Федерации, регламентирующих построение системы надлежащей дистрибьюторской практики (Good distribution practice, GDP) субъектами обращения лекарственных средств и обозначить этапы внедрения системы GDP в Российской Федерации.

С 1 марта 2017 г. вступил в силу Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31 августа 2016 г. № 646н «Об утверждении Правил надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения» (далее — Приказ № 646н), что является очередным этапом в обеспечении высокого качества, безопасности и эффективности лекарственных препаратов, применяемых в Российской Федерации. С 6 мая 2017 г., после ратификации странами Евразийского экономического союза (ЕАЭС) нормативной базы регулирования обращения лекарств, действует также Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 80 «Об утверждении Правил надлежащей дистрибьюторской практики в рамках Евразийского экономического союза» (далее — Решение № 80, вступило в силу с 1 января 2018 г.). Вступление в силу соответствующей нормы закона определяет начало нового этапа обращения ЛС в нашей стране, приближая еще на один шаг к общемировой практике [3].

Постановлением Правительства Российской Федерации от 22 декабря 2011 г. № 1081 (ред. от 4 июля 2017 г.) «О лицензировании фармацевтической деятельности» (далее — Постановление № 1081) законодательно определены требования к организациям оптовой торговли (имеющим лицензию на оптовую торговлю/хранение/транспортировку ЛС) в отношении обязательного соблюдения Приказа № 646н и Решения № 80. Несоблюдение требований указанных документов определено как «грубое нарушение», ответственность за которое предусмотрена Кодексом об административных правонарушениях, однако порядок контроля за соблюдением указанных требований в Постановлении № 1081 не оговаривается.

Постановлением Правительства Российской Федерации от 31 июля 2017 г. № 907 «О внесении изменений в Положение о федеральном государственном надзоре в сфере обращения лекарственных средств» (далее — Постановление № 907) утвержден порядок применения риск-ориентированного подхода при осуществлении государственного надзора за деятельностью юри-

дических лиц и индивидуальных предпринимателей в сфере обращения лекарственных средств для медицинского применения.

Риск-ориентированный подход предусматривает отнесение субъектов обращения лекарственных средств к определенной категории риска (на основании данных об условиях осуществления деятельности) и проведение плановых проверок в отношении объекта государственного надзора с 1 января 2018 г. в зависимости от присвоенной категории риска со следующей периодичностью:

- для категории значительного риска — один раз в 3 года;

- для категории среднего риска — не чаще одного раза в 5 лет;

- для категории умеренного риска — не чаще одного раза в 6 лет.

В отношении объектов государственного надзора, отнесенных к категории низкого риска, плановые проверки проводиться не будут.

Информация об отнесении субъектов обращения к конкретной категории риска доступна на сайте Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения с 25 августа 2017 г.; субъекты обращения могут также узнать о присвоенной категории риска, обратившись с запросом в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения, либо провести самостоятельную оценку на основании критериев оценки, изложенных в Постановлении № 907.

Для стандартизации требований к проведению проверок Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения были разработаны и утверждены 9 ноября 2017 г. проверочные листы, которые будут использованы при проведении контрольно-надзорных мероприятий (Приказ Росздравнадзора от 9 ноября 2017 г. № 9438 «Об утверждении форм проверочных листов (списков контрольных вопросов), используемых Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и ее территориальными органами при проведении плановых проверок при осуществлении федерального государственного надзора в сфере обращения лекарственных средств»). Для организаций, обладающих лицензиями на осуществление фармацевтической деятельности в области оптовой торговли, хранения, транспортировки ЛС, применимы четыре типа опросных листов:

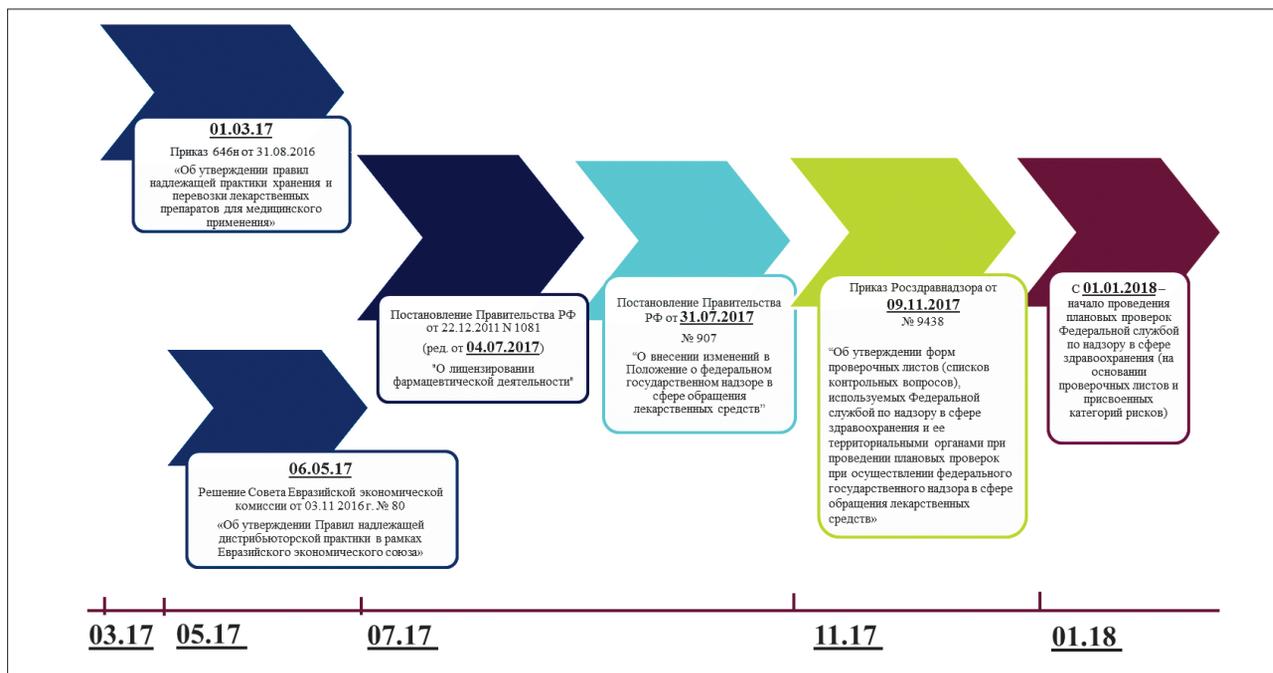
- хранение лекарственных препаратов для медицинского применения в организации оптовой торговли лекарственными средствами для медицинского применения;

- перевозка лекарственных препаратов для медицинского применения в организации оптовой торговли;

- реализация лекарственных средств для медицинского применения организацией оптовой торговли лекарственными средствами для медицинского применения;

- уничтожение лекарственных препаратов для медицинского применения в организации оптовой торговли лекарственными средствами.

Особенностью опросных листов является наличие всего двух вариантов ответов: «да» и «нет».



**Рис. 1.** Нормативно-правовые акты Российской Федерации, определяющие требования к системе качества процессов хранения и транспортировки лекарственных препаратов, необходимость их соблюдения и контроль за функционированием

Алгоритм и последовательность введения требований к процессам хранения и транспортировки лекарственных препаратов для медицинского применения, а также к контролю за исполнением данных требований, приведены на рисунке 1.

Одним из основных требований, содержащихся в опросных листах, является наличие функционирующей системы качества, соответствующей требованиям Приказа № 646н.

Важно понимать, что требования к процессам хранения и перевозки лекарственных средств — не просто законодательное требование, несоблюдение условий транспортировки и хранения ЛС может оказывать влияние на качество, безопасность, эффективность и, как следствие, на здоровье пациента, от снижения эффективности применения лекарственного препарата (ЛП) до гибели пациента в результате приема некачественного ЛП. Производители должны быть уверены, что ЛП, который выпущен в обращение для конечного потребителя, соответствует требованиям нормативной документации. Гарантировать данное соответствие возможно только при соблюдении условий хранения на всех этапах транспортировки ЛП и возможности прослеживания соблюдения данных условий на протяжении всей цепи поставки ЛП потребителю.

#### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫХ ТРЕБОВАНИЙ НАДЛЕЖАЩЕЙ ДИСТРИБЬЮТОРСКОЙ ПРАКТИКИ ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА, ЕВРАЗИЙСКОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА, РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Мировой опыт фармации свидетельствует о том, что для дистрибьютора и логистического провайдера фармацевтической продукции ключевыми аспектами в отношениях с клиентами являются

Правила надлежащей дистрибьюторской практики (GDP) [4]. Данные правила изложены в следующих документах:

- Guidelines of 5 November 2013 on Good Distribution Practice of medicinal products for human use (2013/C 343/01) (далее — GDP EU);
- WHO Good Distribution Practices for Pharmaceutical Products. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010, Annex 5;
- PIC/S Guide to Good Distribution Practice for Medicinal Products PE 011-1, 1 June 2014;
- ISO 13485:2016, Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes;
- ISO 14971:2007, Medical devices — Application of risk management to medical devices.

В странах Европейского Союза исполнение принципов GDP обязательно для организаций, участвующих в хранении и дистрибуции лекарственных средств. Как правило, дистрибьюторские компании и логистические провайдеры имеют государственную аккредитацию, либо сертификацию соответствия принципам надлежащей дистрибьюторской практики, а также включены в систему государственного контроля соблюдения правил GDP.

Определения, а также область применения стандартов GDP, представленные в европейских и отечественных нормативных документах (НД) указаны в таблице 1.

Исходя из определений, представленных в таблице 1, можно сделать вывод о том, что зарубежные и отечественные стандарты включают схожее понимание термина «надлежащая дистрибьюторская практика», а также являются обязательными для всех лиц, участвующих в процессах дистрибуции и хранения лекарственных средств.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СТАНДАРТОВ GDP**

Название нормативного документа	Определение GDP	Область применения
Guidelines of 5 November 2013 on Good Distribution Practice of medicinal products for human use	GDP is that part of quality assurance which ensures that the quality of medicinal products is maintained throughout all stages of the supply chain from the site of manufacturer to the pharmacy or person authorized or entitled to supply medicinal products to the public	Any person acting as a wholesale distributor has to hold a wholesale distribution authorization. Article 80(g) of Directive 2001/83/EC provides that distributors must comply with the principles of and guidelines for GDP
Приказ № 646н «Об утверждении Правил надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения»	Правила надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения устанавливают требования к условиям хранения и перевозки лекарственных препаратов, необходимым для обеспечения качества, безопасности и эффективности лекарственных препаратов, а также минимизации риска проникновения фальсифицированных, недоброкачественных, контрафактных лекарственных препаратов в гражданский оборот	Настоящие Правила распространяются на производителей лекарственных препаратов, организации оптовой торговли лекарственными препаратами, аптечные организации, индивидуальных предпринимателей, имеющих лицензию на фармацевтическую деятельность, медицинские организации и их обособленные подразделения
Решение № 80 «Об утверждении Правил надлежащей дистрибьюторской практики в рамках Евразийского экономического союза»	Часть системы обеспечения качества, гарантирующая качество лекарственных средств на протяжении всех этапов цепи поставки, включая хранение и транспортировку, от производителя до субъектов, осуществляющих производство, оптовую реализацию, розничную реализацию или отпуск населению лекарственных средств, включая организации, осуществляющие медицинскую деятельность	Требования настоящих Правил применяются в отношении всех лиц, участвующих в дистрибуции лекарственных средств в соответствии с выполняемыми ими функциями, включая дистрибьюторов и производителей лекарственных средств, независимо от ведомственной принадлежности и формы собственности

Ключевые составляющие, которые регламентируются отечественными и зарубежными принципами GDP, представлены на рисунке 2.



Рис. 2. Ключевые составляющие GDP

В таблице 2 представлена структура GDP EU в сравнении с Правилами, утвержденными Приказом № 646н и Решением № 80.

Таблица 2

**СРАВНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ТРЕБОВАНИЙ GDP ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА, РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ЕВРАЗИЙСКОЙ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ КОМИССИИ**

GDP EU	Приказ № 646н	Решение № 80
<i>Введение</i>	<i>I. Общие положения</i>	<i>I. Общие положения</i>
<i>Словарь терминов</i>		<i>II. Определения</i>
<i>1. Менеджмент качества</i> 1.1. Принцип; 1.2. Система качества; 1.3. Управление аутсорсингом; 1.4. Анализ со стороны руководства; 1.5. Управление рисками в области качества	<i>II. Система обеспечения качества хранения и перевозки лекарственных средств</i>	<i>III. Основная часть</i> <i>1. Управление качеством</i> 1.1. Принцип; 1.2. Система качества; 1.3. Управление деятельностью, переданной на аутсорсинг; 1.4. Мониторинг и анализ со стороны руководства; 1.5. Управление рисками для качества
<i>2. Персонал</i> 2.1. Принцип; 2.2. Уполномоченное лицо; 2.3. Другие категории сотрудников; 2.4. Обучение; 2.5. Гигиена	<i>III. Персонал</i>	<i>2. Персонал</i> 2.1. Принцип; 2.2. Ответственное лицо; 2.3. Прочий персонал; 2.4. Обучение; 2.5. Гигиена
<i>3. Помещения и оборудование</i> 3.1. Принцип; 3.2. Помещения; 3.3. Оборудование	<i>IV. Помещения и оборудование для хранения лекарственных препаратов</i>	<i>3. Помещения и оборудование</i> 3.1. Принцип; 3.2. Помещения; 3.3. Оборудование
<i>4. Документация</i> 4.1. Принцип; 4.2. Общие требования	<i>V. Документы по хранению и перевозке лекарственных препаратов</i>	<i>4. Документация</i> 4.1. Принцип; Общие требования
<i>5. Виды деятельности</i> 5.1. Принцип; 5.2. Оценка поставщиков; 5.3. Оценка клиентов; 5.4. Приемка лекарственных средств; 5.5. Хранение; 5.6. Уничтожение товаров с истекшим сроком годности; 5.7. Подготовка к отгрузке; 5.8. Поставка; 5.9. Экспорт в третьи страны	<i>VI. Действия субъекта обращения лекарственных препаратов по хранению и перевозке</i>	<i>5. Процесс дистрибуции</i> 5.1. Принцип; 5.2. Оценка поставщиков; 5.3. Оценка заказчиков; 5.4. Приемка лекарственных средств; 5.5. Хранение; 5.6. Уничтожение; 5.7. Подготовка к отгрузке; 5.8. Поставка; 5.9. Экспорт
<i>6. Претензии, возврат, фальсифицированные лекарственные средства и отзыв</i> 6.1. Принцип; 6.2. Претензии; 6.3. Возвращенные лекарственные средства; 6.4. Фальсифицированные лекарственные средства; 6.5. Отзыв лекарственных средств		<i>6. Претензии, возврат, подозрения в фальсификации и отзыв лекарственных средств из обращения</i> 6.1. Принцип; 6.2. Претензии; 6.3. Возвращенные лекарственные средства; 6.4. Фальсифицированные лекарственные средства; Отзыв из обращения
<i>7. Деятельность, передаваемая на аутсорсинг</i> 7.1. Принцип; 7.2. Заказчик; 7.3. Исполнитель	п. 6	<i>7. Деятельность, переданная на аутсорсинг</i> 7.1. Принцип; 7.2. Заказчик; 7.3. Исполнитель
<i>8. Самоинспекции</i> 8.1. Принцип; 8.2. Самоинспекции		<i>8. Самоинспекции дистрибьюторов</i> 8.1. Принцип; 8.2. Самоинспекции
<i>9. Транспортировка</i> 9.1. Принцип; 9.2. Транспортировка; 9.3. Транспортная тара, упаковка, маркировка; 9.4. Продукция со специальными требованиями	<i>VII. Перевозка лекарственных препаратов</i> <i>VIII. Тара, упаковка и маркировка лекарственных препаратов</i>	<i>9. Транспортировка</i> 9.1. Принцип; 9.2. Транспортировка; 9.3. Тара, упаковка и маркировка; 9.4. Лекарственные средства, требующие особого обращения
<i>10. Специальные положения для брокеров</i>		

Сравнивая требования GDP EU с Решением № 80, можно сделать вывод о том, что Правила надлежащей дистрибьюторской практики Евразийского экономического союза практически полностью повторяют структуру европейского стандарта и, следовательно, в той или иной мере содержат ключевые требования GDP. Российский стандарт «Правила надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения», утвержденный Приказом № 646н, отличается от GDP EU как по структуре, так и по содержанию.

### **ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОЦЕССОВ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Нормативно-правовые акты, регламентирующие процессы хранения и транспортировки лекарственных препаратов, требуют внедрения, поддержания и постоянного улучшения системы менеджмента качества, включающей процессы обеспечения и контроля качества выполняемых процессов.

В организации оптовой торговли необходимо наличие специальной структуры, ответственной за обеспечение качества.

Непрерывный процесс обеспечения качества включает:

1. Назначение ответственного за внедрение и обеспечение системы качества руководителем субъекта обращения (организации оптовой торговли).

2. Составление плана внедрения и функционирования системы качества, совместно с представителями подразделений, принимающих участие в процессах хранения и транспортировки лекарственных препаратов.

Важно отметить, что в соответствии с п. 3 Правил, утвержденных Приказом № 646н, именно руководитель субъекта обращения ЛП обеспечивает реализацию комплекса мер, направленных на соблюдение его работниками настоящих Правил, посредством утверждения документов, в которых регламентируются порядок совершения работниками действий при осуществлении хранения и (или) перевозки лекарственных препаратов, порядок обслуживания и поверки измерительных приборов и оборудования, ведение записей, отчетов и их хранение, прием, транспортировка, размещение лекарственных препаратов (стандартные операционные процедуры, далее — СОП), и организации контроля за соблюдением СОП. Также руководитель субъекта обращения утверждает организационную структуру, перечень внутренних нормативных документов, планы внедрения системы качества, программы обучения и другие документы в соответствии с требованиями Приказа № 646н (например, Политика в области качества, Цели в области качества и Руководство по качеству).

3. Управление документацией.

- Разработка и актуализация внутренних нормативных документов (в том числе СОП/Инструкции/стандарты организации и т.д.).

- Контроль за тем, чтобы документирование действий, выполненных в ходе процессов хранения и транспортировки ЛП, было выполнено в момент их выполнения, либо сразу после их завершения.

Обеспечение точности ведения записей и хранения записей, относящихся к делегированным функциям, является обязанностью ответственного лица.

4. Внутренние инспекции.

- Составление программы проведения внутренних инспекций.

- Проведение самоинспекций.

- Составление отчетов о проведении самоинспекций и их анализ.

- Мониторинг выполнения корректирующих и предупреждающих действий, а также анализ эффективности внедрения корректирующих и предупреждающих действий.

Ответственное лицо отвечает за обеспечение проведения самоинспекций в соответствии с установленной периодичностью и подготовленной программой, а также за принятие необходимых корректирующих мер.

5. Внешние аудиты.

- Аудиты поставщиков товаров, работ и услуг.

В случае если часть деятельности, указанной в лицензии на осуществление фармацевтической деятельности, например, фактическое выполнение складских процессов, передана для выполнения провайдеру логистических услуг, либо для транспортировки лекарственных препаратов привлекаются транспортные компании, необходимо проведение первоначальных квалификационных аудитов с целью подтверждения того, что выбранные компании способны выполнять заявленную деятельность в полном объеме с соблюдением применимых законодательных требований, в том числе требований надлежащей дистрибьюторской практики в отношении конкретного вида деятельности. По результатам проведения аудита должен быть составлен отчет.

Также необходимо проведение повторных периодических проверок поставщиков с целью подтверждения соответствия выполняемой деятельности требованиям, указанным в договоре, и нормативно-правовым актам, определяющим требования к проведению работ и (потенциально) влияющих на качество, безопасность и эффективность ЛП организации.

Утверждение поставщиков и получателей, а также утверждение передачи на аутсорсинг деятельности, потенциально влияющей на соблюдение надлежащей дистрибьюторской практики, является обязанностью ответственного лица.

- Аудиты заказчиков (получателей).

Первичные и периодические аудиты заказчиков проводятся с целью удостовериться, что поставка ЛС осуществляется только организациям, имеющим лицензию или иные законные основания для осуществления деятельности, относящейся к обращению лекарственных средств, а также для подтверждения того, что качественные характеристики лекарственных препаратов при передаче и хранении у заказчика будут сохранены.

6. Работа с рекламациями, предположительно фальсифицированной, недоброкачественной продукцией, а также возвратами лекарственных средств.

Одной из функций сотрудников подразделений по качеству является работа с претензиями/возвратами/случаями подозрения в фальсификации и работа с контрафактными ЛП. Все претензии, случаи возврата, подозрения в фальсификации, а также отзыв из обращения должны быть документально оформлены и проанализированы в соответствии с установленными СОП.

Одним из нововведений при внедрении требований надлежащей дистрибьюторской практики можно считать возможность повторной реализации возвращенных лекарственных средств в случае выполнения следующих условий:

- целостность упаковки, отсутствие повреждений;
- подтверждение соблюдения специальных условий транспортировки и хранения ЛП;
- проверка и оценка ответственным лицом;
- лекарственные препараты хранились у одного заказчика;

- ЛП не был отозван, и срок годности ЛП не истек. Возможность повторной реализации не применяется к термолабильным лекарственным препаратам.

В соответствии с требованиями Решения № 80 и GDP EU появилась необходимость ежегодного проведения «Фиктивного отзыва» для оценки эффективности действий организации оптовой торговли в случае отзыва лекарственных средств из обращения.

К обязанностям ответственного лица относятся также:

- принятие решения относительно возвращенных, отозванных, отклоненных ЛС;
- обеспечение эффективной работы с претензиями покупателей;
- координирование и своевременная организация отзыва ЛС из обращения;
- одобрение возвращения ЛС в категорию «Пригодный для реализации».

#### 7. Обучение.

Ответственность за обеспечение внедрения и поддержания программ первичного и последующего обучения для всего персонала, вовлеченного в процесс дистрибуции, несет ответственное лицо.

Важным является тот факт, что в соответствии с Приказом № 646н «руководитель субъекта обращения утверждает план-график (программу) проведения первичной и последующих подготовок персонала, контролирует его исполнение и оценивает эффективность подготовок (инструктажа) с целью их совершенствования».

Одним из требований Решения № 80 и GDP EU является обучение всех работников, вовлеченных в деятельность по дистрибуции лекарственных средств, по вопросам, касающимся надлежащей

дистрибьюторской практики, до начала выполнения своих должностных обязанностей.

8. Анализ функционирования системы качества, осуществляемый руководством.

Исходные данные для выполнения анализа функционирования системы качества могут быть подготовлены подразделением по качеству (ответственным лицом) совместно с представителями подразделений организации, участвующих в дистрибуции лекарственных средств.

Анализ включает в себя:

- оценку степени достижения целей системы качества;
- оценку заданных показателей эффективности процессов (KPI);
- оценку влияния изменений в нормативно-правовых актах, а также возникновение новых обстоятельств, связанных с качеством, которые могут оказать влияние на систему менеджмента качества;
- изменения в деловой среде и поставленных целях.

Результаты данного анализа документируют и доводят до сведения персонала. На основании выполненного анализа составляют план по улучшению/устранению выявленных несоответствий системы менеджмента качества.

Стоит дополнительно обратить внимание на тот факт, что в структуре дистрибуции в соответствии с принципами GDP должно быть выделено лицо, ответственное за внедрение и поддержание системы качества в организации. Ответственное лицо является инициатором, катализатором и контролером осуществляемых операций, но необходимо участие в создании, поддержании и улучшении системы качества GDP всех сотрудников компании, от технического персонала до администрации субъекта обращения лекарственных средств. Также важно отметить, что при проведении GDP-инспекций внимание аудиторов включает в себя, как правило, оценку не только руководящего персонала и ответственного лица, а также интервью и оценку сотрудников, вовлеченных в различные этапы процессов хранения и дистрибуции.

Соблюдение правил надлежащей дистрибьюторской практики является одним из условий обеспечения высокого качества, безопасности и эффективности лекарственных препаратов, а также позволяет организациям оптовой торговли лекарственными средствами для медицинского применения соответствовать лицензионным требованиям и успешно проходить проверки надзорных органов. Рассмотренные в настоящей статье вопросы регламентирования требований и обеспечения качества процессов хранения и транспортировки лекарственных препаратов представляют лишь небольшой фрагмент модернизации сферы обращения лекарственных средств в нашей стране.

*Авторы не заявили о конфликте интересов  
The authors did not declare a conflict of interest*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кугач ВВ, Мاستыков АН. Перспективы развития нормативных правовых актов в сфере регулирования оптовой реализации лекарственных средств. Часть 1. Надлежащая практика оптовой реализации. Вестник фармации 2006; (4): 23–33. [Kugach VV, Mastikov AN. Prospects for the Development of Regulatory Legal Acts in the Sphere of Regulation of Wholesale Sale of Medicines. Part 1. Good Wholesale Practice. Bulletin of Pharmacy 2006; (4): 23–33 (In Russ.)]
2. Реутская ЛА. Нормативно-правовая база, регулирующая обращение лекарственных средств в Республике Беларусь. Экспресс-информация и анализ рынка 2004; (4): 3–10. [Reutskaya LA. The Regulatory and Legal Framework Governing the Circulation of Medicines in the Republic of Belarus. Express Information and Market Analysis 2004; (4): 3–10 (In Russ.)]
3. Васильев АН, Гавришина ЕВ, Ниязов РР, Корнеева ЛВ. GMP как элемент обеспечения качества, безопасности и эффективности лекарственных препаратов. Ремедиум 2014; (3): 18–24. [Vasiliev AN, Gavrishina EV, Niyazov RR, Korneeva LV. GMP as an Element of Ensuring the Quality, Safety and Efficacy of Drugs. Remedium 2014; (3): 18–24 (In Russ.)]
4. Балашов АИ. «Неадекватная производственная практика»: модернизация системы обеспечения качества производства лекарственных средств в России. Известия высших учебных заведений 2014; (1): 72–7. [Balashov AI. «Inadequate Production Practice»: Modernization of the Quality Assurance System for the Production of Medicines in Russia. News of Higher Educational Institutions 2014; (1): 72–7 (In Russ.)]

## ОБ АВТОРЕ

Общество с ограниченной ответственностью «АстраЗенека Фармасьютикалз». Российская Федерация, 125284, Москва, Беговая улица, д. 3, стр. 1

Яковлева Екатерина Вадимовна. Специалист по качеству и сертификации лекарственных препаратов

Статья поступила 17.08.2017  
Article was received 17 August 2017

## AUTHOR

Limited Liability Company «AstraZeneca Pharmaceuticals», 3/1 Begovaya street, Moscow 125284, Russian Federation

Ekaterina V. Yakovleva. Specialist on Quality and Certification of Medicinal Products

Принята к печати 14.02.2018  
Accepted for publication 14 February 2018

## Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований

\* К. Л. Крышень, А. Е. Кательникова, А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,  
Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл.,  
Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245

**Резюме.** В связи с текущим переходом национальных требований к регистрации лекарственных средств на требования Евразийского экономического союза (ЕАЭС) вопрос оценки аллергизирующих свойств в рамках доклинических исследований носит дискуссионный характер. В работе рассмотрены механизмы и факторы, влияющие на развитие лекарственной гиперчувствительности, основные требования отечественных и зарубежных нормативных документов. Представлены результаты собственных исследований аллергизирующих свойств ряда препаратов с молекулярной массой действующего вещества более 1000 Да, и менее 1000 Да в стандартных тестах на морских свинках, таких как реакция системной анафилаксии и активной кожной анафилаксии. Анализ полученных данных подтверждает, что количество зарегистрированных случаев положительных реакций для низкомолекулярных соединений (>1000 Да) статистически значимо выше частоты случаев положительных реакций для высокомолекулярных соединений (<1000 Да). В ряде случаев были выявлены ложноположительные результаты. Результаты зарубежных исследований подтверждают отсутствие корреляции экспериментальных данных, полученных в аналогичных тестах на морских свинках, и клинических данных. Таким образом, использование стандартных тестов на морских свинках не дает возможности сделать адекватный прогноз развития аллергических реакций. Отрицательные и положительные результаты теста не следует расценивать как подтверждение потенциального отсутствия или наличия анафилактических реакций в клинической практике.

**Ключевые слова:** побочные реакции; аллергия; аллергизирующие свойства; лекарственные средства; доклинические исследования

**Для цитирования:** Крышень КЛ, Кательникова АЕ, Мужикян АА, Макарова МН, Макаров ВГ. Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55

\* **Контактное лицо:** Крышень Кирилл Леонидович; kryshen.kl@doclinika.ru

## Regulatory and Methodological Aspects of Studying Allergenic Properties of New Medicines at the Preclinical Stage

\* K. L. Kryshen, A. E. Katelnikova, A. A. Muzhikyan, M. N. Makarova, V. G. Makarov

JSC Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»,  
3/245 Zavodskaya street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolzhsky district,  
Leningrad region 188663, Russian Federation

**Abstract.** The assessment of allergic risk at the preclinical stage of drug development has been a debatable issue due to the integration of national requirements for medicines authorisation with those of the Eurasian Economic Union (EAEU). The article summarises mechanisms and factors involved in the development of drug hypersensitivity, as well as the main national and foreign regulatory requirements. It also cites the results of allergic risk assessment studies involving standard guinea pig tests, such as systemic anaphylactic reactions and active cutaneous anaphylaxis, for a number of medicines with the molecular weight of the active substance of more than 1000 Da and less than 1000 Da. Data analysis confirms that the number of positive reactions for high molecular weight compounds (>1000 Da) is significantly higher than the number of positive reactions for low molecular weight compounds (<1000 Da). There were some false-positive results detected. The results of foreign studies confirm the lack of correlation between the experimental data obtained in similar tests in guinea pigs and the clinical data. Thus, standard tests in guinea pigs cannot adequately predict the risk of immediate hypersensitivity reactions to new medicines in clinical practice. Negative or positive results should not be regarded as confirmation of potential absence or presence of anaphylactic reactions in clinical practice.

**Key words:** adverse reactions; allergy; allergenic properties; medicines; preclinical trials

**For citation:** Kryshen KL, Katelnikova AE, Muzhikyan AA, Makarova MN, Makarov VG. Regulatory and Methodological Aspects of Studying Allergenic Properties of New Medicines at the Preclinical Stage. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55

\* **Contact person:** Kryshen Kirill Leonidovich; kryshen.kl@doclinika.ru

Развитие фармацевтического рынка является одним из основных отраслевых приоритетов государственной политики последних лет. С появлением большого количества новых лекарственных средств (ЛС), воспроизведенных ЛС и биоаналогов, комбинированных и гибридных ЛС возрастает потребность в проведении доклинических и клинических исследований.

Для успешной регистрации ЛС ключевым этапом является разработка программы исследований, которая должна включать в себя хорошо продуманное поэтапное описание всех планируемых видов доклинических и клинических исследований на основании регламентирующих документов и спецификации отдельно взятого лекарственного средства.

На сегодняшний день в обязательную программу доклинических исследований входит оценка аллергизирующих свойств новых ЛС на лабораторных животных [1]. Однако в связи с текущим переходом национальных требований к регистрации лекарственных средств на требования Евразийского экономического союза (ЕАЭС) вопрос оценки аллергизирующих свойств в рамках доклинических исследований носит дискуссионный характер. Так, в главе 1 тома 1 «Руководства по экспертизе лекарственных средств», подготовленной на основании ICH M3(R2), не содержится упоминания о необходимости изучения аллергизирующих свойств [2, 3]. Аналогично вопрос изучения аллергизирующих свойств не затрагивается в ГОСТ 56701–2015 по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств [4].

Лекарственная аллергия или гиперчувствительность является важной социально значимой проблемой. По данным Всемирной организации по аллергии (WAO), побочные реакции на лекарства возникают примерно у 10 % жителей планеты, у 20 % пациентов, находящихся на стационарном лечении, и из них 10 % побочных реакций представляют собой непрогнозируемые реакции лекарственной гиперчувствительности [5].

Проблема гиперчувствительности состоит еще и в том, что невозможно точно спрогнозировать аллергические реакции исходя из структуры, молекулярной массы и механизмов действия лекарственной субстанции. Лекарственная аллергия может развиваться на любой лекарственный препарат. Чаще всего аллергенами являются антибиотики, витамины, нестероидные противовоспалительные средства, местные анестетики, рентгеноконтрастные вещества, плазмозаменители, гормоны, вакцины и сыворотки, а также вспомогательные средства, используемые в приготовлении лекарственных препаратов [5–7]. По данным ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России», в структуре всех амбулаторно выявленных аллергических реакций в России 43 % реакций приходится на местные анестетики, 19 % на антибиотики, НПВС — 10 %, другие ЛС — 28 % [8].

Цель работы — описание механизмов и факторов, влияющих на развитие лекарственной гипер-

чувствительности, рассмотрение основных регуляторных аспектов для доклинических исследований, оценка существующих экспериментальных подходов по изучению реакций немедленного типа к лекарственным препаратам с учетом собственного и зарубежного опыта.

### КЛАССИФИКАЦИЯ РЕАКЦИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Реакциями гиперчувствительности называют специфические нежелательные иммунитет-ассоциированные аллергические реакции, которые приводят к повреждению тканей. Некоторые авторы используют термин «гиперчувствительность», подразумевая возникновение любой неблагоприятной реакции, независимо от того, имеет ли она иммунную этиологию или нет, что не совсем корректно [9].

Общепринятой и широко применяемой классификацией реакций гиперчувствительности является классификация по Gell и Coombs [10]:

- реакции немедленного типа (I тип, IgE-опосредованные);
- цитотоксические реакции (II тип, IgG- или IgM-опосредованные);
- иммунокомплексные реакции (III тип, IgG-опосредованные);
- реакции замедленного типа (IV тип, опосредованные T-лимфоцитами).

Указанные типы реакций гиперчувствительности не являются взаимоисключающими. Например, по клиническим данным и лабораторным исследованиям известные реакции к пенициллину можно отнести ко всем четырем категориям [9].

Некоторые исследователи и врачи предпочитают использовать другую классификацию, которая основывается на клинических проявлениях гиперчувствительности. Выделяют системные (анафилаксия, лекарственная лихорадка, сывороточная болезнь) и органоспецифические варианты лекарственных аллергических реакций. Основным органом-мишенью при лекарственной гиперчувствительности является кожа. В патологический процесс могут быть вовлечены и другие системы: система кроветворения (эозинофилия, цитопения, гемолитическая анемия), респираторная система (ринит, бронхоспазм, отек гортани, эозинофильный легочный инфильтрат), мочевыделительная система (гломерулонефрит, нефротический синдром, интерстициальный нефрит), гепатобилиарная система (гепатоцеллюлярные поражения, холестаза) [6].

По этой причине можно классифицировать реакции гиперчувствительности с точки зрения их клинического проявления, а затем рассматривать роль специфических антител (IgE, IgG или IgM) или цитотоксических T-клеток, и/или воспалительных клеток в патогенезе побочной реакции.

### МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Глубокое понимание механизма развития гиперчувствительности к лекарственным средствам может помочь найти новые подходы в прогнозировании

вании алергизирующих свойств новых лекарственных средств еще на этапе доклинических исследований. Подробно механизмы развития лекарственной гиперчувствительности рассматриваются в обзорах D.J. Naisbitt и др. и В. Schnyder [9, 11]. По современным представлениям, развитие гиперчувствительности включает в себя метаболизм лекарственного средства, ковалентное связывание с белками, процессинг антигена и пролиферацию Т-клеток.

Основной гипотезой, описывающей механизм развития гиперчувствительности к химическим веществам, является гаптенная гипотеза, впервые предложенная еще К. Landsteine и J. Jacobs в 1935 году [12]. Для того чтобы вещество или его производное было иммуногеном, оно должно быть признано иммунной системой как чужеродное. В случае если иммунная система распознает вещество в исходном виде, то вещество называют прямым иммуногеном. К таким веществам относится, например, стрептокиназа [13]. Иммунная система способна распознать соединения с молекулярной массой свыше 1000 Да [14], и поэтому большинство малых молекул ксенобиотиков не являются прямыми иммуногенами и распознаются иммунной системой в виде гаптена — конъюгата химического соединения с высокомолекулярным белком-носителем. Минимальная сила связывания, необходимая для образования иммуногенного белкового конъюгата, неизвестна. Связи могут быть ковалентными или нековалентными. Например, множественные координационные связи с аминокислотами достаточны для иммунного ответа на металлы. Сульфаметоксазол может быть представлен Т-клеткам в нековалентной связи с главным комплексом гистосовместимости. Чем выше плотность гаптена, то есть количество молекул химического соединения, связанных с высокомолекулярным белком-носителем, тем больше антител распознают лекарственное средство [15].

Известно, что только небольшая часть химических веществ напрямую реагирует с белками клеток или плазмы, проявляя как фармакологическую эффективность, так и токсическое воздействие на организм. Большинство химических веществ подвергаются метаболизму, при котором образуются

активные соединения. Химические вещества или их метаболиты способны взаимодействовать как со свободными, циркулирующими в крови молекулами, так и с клеточными мембранными белками и липополисахаридами [16].

Следующим этапом в развитии иммунного ответа является процессинг гаптена в антиген-презентирующих клетках (АПК). Процессинг представляет собой механизм, посредством которого антиген-презентирующие клетки (дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты) гидролизует белки на простые пептиды перед представлением Т-лимфоцитам. Белки главного комплекса гистосовместимости (МНС или HLA), экспрессируемые на всех антиген-презентирующих клетках, ответственны за представление антигенов лимфоцитам.

Высокомолекулярные белковые соединения (вакцины, моноклональные антитела и др.) в основном распознаются фолликулярными В-лимфоцитами лимфоузлов. В-лимфоциты способны специфически связывать, усваивать и обрабатывать белок с последующим представлением в виде пептида на своих молекулах МНС класса II Т-хелперам через Т-клеточный рецептор. Т-хелперы, в свою очередь, вырабатывают определенный пул цитокинов, и запускается клонообразование и созревание В-лимфоцитов до плазматических клеток. В зависимости от поляризации Т-хелперов (или соотношения T<sub>H</sub>1/T<sub>H</sub>2) плазматические клетки вырабатывают IgG или IgE, что, в свою очередь, определяет основные эффекторные механизмы развития гиперчувствительности (табл. 1).

Аллергические реакции на белковые препараты в основном опосредуются антителами. Связывание двух или более клеточных поверхностно-связанных IgE молекул с лекарством гаптенем приводит к активации тучных клеток и высвобождению медиаторов, таких как гистамин, лейкотриены, простагландины и цитокины. Это вызывает вазодилатацию, повышение проницаемости сосудов, усиление выработки слизи, бронхостеноз, приводящий к клиническим проявлениям крапивницы, или анафилаксии (тип I реакций). Образование иммунных комплексов между лекарственными средствами и специфическими антителами к лекарственному

Таблица 1

### ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКЦИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ [11]

ЛС	Механизм	Субмеханизм
Высокомолекулярные	Тип I IgE-опосредованный	Дегрануляция тучных клеток/базофилов
	Тип III иммуннокомплексный IgG-опосредованный	Активация комплемента
Низкомолекулярные	Тип I IgE-опосредованный	Дегрануляция тучных клеток/базофилов
	Тип II IgG-опосредованная цитотоксичность	Лизис клеток
	Тип III иммуннокомплексный IgG-опосредованный	Активация комплемента
	Тип IV, опосредованный Т-клетками	Гаптен-опосредованное или прямое фармакологическое взаимодействие препарата с рецепторами иммунной системы

средству является частым. Клинические симптомы реакции типа III включают сывороточную болезнь, системную красную волчанку, геморрагический васкулит и др.

В случае низкомолекулярных соединений АПК представляет антиген в виде гаптена в региональных лимфоузлах как правило незрелым или наивным Т-лимфоцитам через взаимодействие МНС рецептора и Т-клеточного рецептора (TCR) с последующим запуском клонообразования и дифференцировки Т-хелперов (Тх, CD4<sup>+</sup>) или цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеры, CD8<sup>+</sup>). При этом возможно развитие всех типов аллергических реакций в зависимости от типа сенсibilизации, поляризации Т-хелперов, микроокружения цитокинов, генетических факторов и др. Подробнее об эффекторных механизмах реакций гиперчувствительности к низкомолекулярным лекарственным средствам и клинических симптомах сказано в обзорной публикации В. Schnyder и др. (рис. 1) [11].

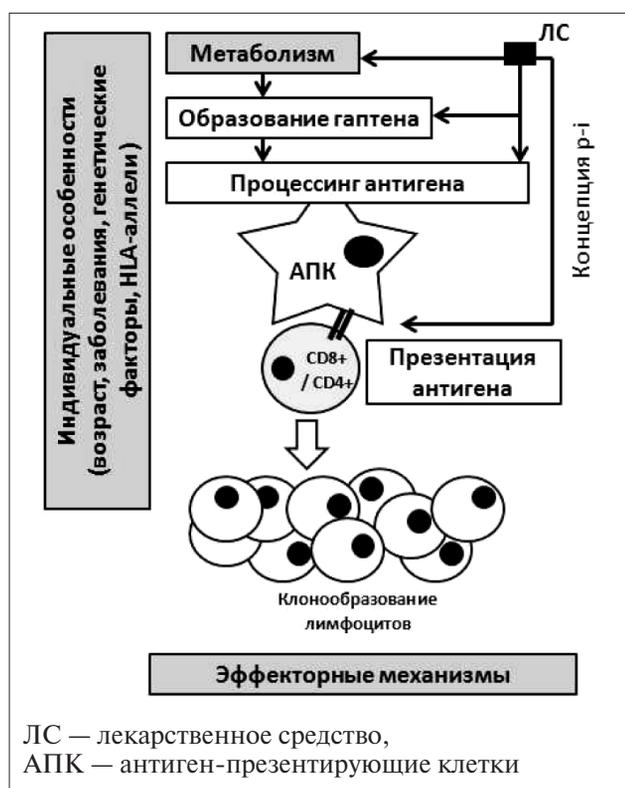


Рис. 1. Схематическое описание механизма развития аллергических реакций на лекарственные средства

Не так давно был описан дополнительный эффекторный механизм развития лекарственной аллергии к низкомолекулярным лекарственным средствам, а именно непосредственное нековалентное взаимодействие нативных низкомолекулярных ЛС с рецепторами иммунной системы (*p-i* концепт, концепция *p-i*) [17]. Эти нековалентные взаимодействия могут модифицировать средство между главным комплексом гистосовместимости (МНС), презентированными пептидами и рецепторами Т-клеток (TCR), и тем самым стимулировать

Т-клетки. Эта концепция объясняет иммунный ответ на инертное вещество, проявление аллергии на препараты в органах без их метаболизма, селективную стимуляцию Т-клеток (рис. 1). Модель *p-i* описана для сульфаметоксазола, лидокаина, мепивакаина, цефекоксиба, карбамазепина и ответственна за развитие эритемы, контактного дерматита, острого экзантематозного пустулеза и токсического эпидермального некролиза [15].

Таким образом, препараты с небольшим молекулярным весом могут стать алергенными, если они ковалентно связываются с белками в качестве исходного химического вещества или его метаболитов. Иммуногенные лекарственно-белковые конъюгаты могут быть или не быть алергенными. Стимуляция реакции гиперчувствительности лекарственно-белковым конъюгатом зависит от многих факторов, таких как степень иммуногенности конъюгата (например, плотность гаптена), способ введения (пероральный, внутримышечный, внутривенный, местный), фармакокинетика и метаболизм лекарственного средства, генетические факторы хозяина и тип Т-клеток и/или тип вырабатываемых антител [15].

### ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ АЛЕРГИИ

Как было описано выше, молекулярная масса химического вещества является одним из основных факторов сенсibilизации. В целом чем выше молекулярная масса, тем мощнее иммунный ответ.

Баланс между метаболической активацией (образование реактивных форм) и детоксикацией (образование стабильных метаболитов) является одним из важных компонентов индивидуальной восприимчивости [9], который зависит от многих факторов, включая генетические особенности отдельного организма, окружающую среду, питание, прием других лекарственных средств, сопутствующие заболевания [16].

Существенным в развитии сенсibilизации является путь введения лекарственного средства. Например, местное применение пенициллина ассоциировано с высоким риском развития аллергических реакций. Поэтому пенициллин не используется при подкожном пути введения. Инъекции пенициллина в качестве депо также характеризуются высокой частотой сенсibilизации. А наименьшая частота аллергических реакций на пенициллин наблюдается после пероральной терапии.

Пол и возраст — факторы, которые также влияют на развитие аллергических реакций. Больше мужчин, чем женщин, как правило, страдают от аллергии. Например, у детей и пожилых людей аллергические реакции встречаются значительно реже, чем у молодых людей [15].

Здоровье и клиническая история пациента могут влиять на развитие реакций гиперчувствительности к лекарственным средствам. Например, вирусные и аутоиммунные заболевания могут быть причиной высокой чувствительности. Существует так называемая гипотеза опасности, используемая

для объяснения механизма развития толерантности или, наоборот, выраженного иммунного ответа [9].

### РЕГУЛЯТОРНЫЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

На текущий момент при формировании программы доклинических исследований производителей лекарственных средств и исследовательские центры опираются главным образом на «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», согласно которому изучению алергизирующих свойств подлежат субстанции и все лекарственные формы вновь разрабатываемых ЛС. Там же описаны тесты по оценке анафилактической активности, ряд кожных тестов, тесты по оценке реакций гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций [1].

С 6 мая 2017 г. национальные рынки обращения лекарственных средств пяти государств — членов ЕАЭС (Российская Федерация, Республика Беларусь, Кыргызская Республика, Республика Армения, Республика Казахстан) объединились и начали работу в формате единого пространства. В настоящее время Евразийской экономической комиссией по вопросам обеспечения качества ЛС разрабатывается множество регуляторных документов, включая фармакопею, гармонизированных с международными требованиями (документы ВОЗ, FDA, ЕМА и др.). До 31 декабря 2020 г. регистрация лекарственного препарата может осуществляться по национальной процедуре или процедуре ЕАЭС, а после 31 декабря 2020 г. только по процедуре ЕАЭС.

Среди международных рекомендаций относительно оценки алергизирующих свойств (реакций гиперчувствительности) новых лекарственных средств можно выделить два документа [18, 19]. Реакции гиперчувствительности рассматриваются этими руководствами только в контексте проявления иммунотоксичности — иммуносупрессии (угнетения иммунного ответа) или иммуностимуляции (усиления иммунного ответа). Усиление иммунного ответа может приводить к увеличению риска развития аутоиммунных заболеваний и/или проявления гиперчувствительности (аллергических реакций).

В руководстве ICH S8 [18] описана основная программа и схема изучения иммунотоксических свойств новых ЛС. Подчеркивается, что стандартных подходов к оценке риска проявления системных алергических реакций (кроме реакций кожной сенсibilизации) или риска развития аутоиммунных патологий не существует. Отдельно оценка алергических реакций не рассматривается. При этом оценку влияния ЛС на иммунный ответ предлагается проводить в рамках изучения хронической токсичности по изменению гематологических показателей крови, иммунокомпетентных органов, уровню глобулинов крови, увеличению случаев инфекционных заболеваний животных или частоты встречаемости опухолей. И только в случае наличия существенных изменений рекомендуется проводить дополнительные, детальные исследования иммунитета, что, безусловно, верно с точки зрения этиче-

ских принципов и сокращения количества животных в эксперименте.

В документе [19] достаточно подробно обобщена информация по существующим методам изучения иммунотоксических свойств, в том числе по оценке алергических реакций всех четырех типов, а также псевдоаллергических реакций. Описанные в этом руководстве методы могут дать полезную информацию при планировании доклинических исследований. В частности, ряд методов рекомендуется для оценки риска развития реакций I типа для ингаляционных лекарственных средств.

Особое внимание уделено методологическим подходам по оценке реакций замедленного типа (IV тип реакций), рекомендованных для оценки сенсibilизирующего потенциала химических веществ и накожных лекарственных средств на предмет риска развития контактного дерматита (контактной сенсibilизации). Причем для некоторых из них существуют руководства OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) Guidelines for testing of chemicals:

- 1) Test № 406: Skin Sensitisation;
- 2) Test № 429: Skin Sensitisation Local Lymph Node Assay;
- 3) Test № 442A: Skin Sensitization Local Lymph Node Assay: DA;
- 4) Test № 442B: Skin Sensitization Local Lymph Node Assay: BrdU-ELISA.

Руководству OECD № 406 соответствует межгосударственный стандарт [20], где описаны два широко используемых теста — максимизационный тест на морских свинках Магнуссона и Клигмана, который является адьювантным, и неадьювантный тест Бюхлера.

Экспериментальные животные подвергаются воздействию исследуемого вещества путем подкожной инъекции и/или накожного нанесения (индукционная экспозиция). Животные обрабатываются провокационной дозой в течение 10–14 сут (индукционный период), когда может развиваться иммунная реакция. Кожная реакция на провокационную дозу у подопытного животного сравнивается с реакцией у животных, которые подвергались фиктивному воздействию в индукционный период и получили провокационную дозу вещества.

При определенных обстоятельствах для получения необходимой информации о сенсibilизации использование других методов также является возможным. Иммунная система мыши исследована более подробно, чем иммунная система морской свинки. Были разработаны модели для оценки сенсibilизационного потенциала на мышах, обладающие рядом преимуществ, в частности, возможностью объективной оценки конечного результата испытания, короткой продолжительностью и минимальным курсом введения тестируемых объектов. Тест измерения отека уха мыши (mouse ear swelling test, MEST) и метод локальных лимфатических узлов (LLNA) считаются перспективными [20]. Оба метода прошли проверку в разных лабораториях, в результате было доказано, что с их помощью могут

выявляться умеренные и сильные сенсибилизаторы. Методы LLNA или MEST могут использоваться в качестве первого этапа оценки сенсибилизационного потенциала. Если в обоих испытаниях получен положительный результат, исследуемое вещество может быть признано потенциальным сенсибилизатором, и для него не потребуется проведение дальнейшего испытания на морских свинках. Однако, если в LLNA или MEST получают отрицательный результат, испытания на морских свинках (максимизационный тест или тест Бюхлера) должны проводиться с использованием процедуры, приведенной в OECD № 406 [20].

Стоит отметить, что широко применяемые в Российской Федерации методы по оценке аллергических реакций немедленного типа (тип I), такие как пассивная кожная анафилаксия (ПКА), активная кожная анафилаксия (АКА) и системная анафилаксия (СА) не являются стандартными и не рекомендуются документом [19] для рутинной оценки безопасности ЛС. На основании этих методов представлены результаты собственных исследований, проводимых в ходе рутинной практики испытательного центра.

#### СУЩЕСТВУЮЩИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ПО ИЗУЧЕНИЮ РЕАКЦИЙ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

##### *Системная анафилаксия*

Системная анафилаксия развивается в течение нескольких минут после повторного введения антигена. Она может быть индуцирована почти у всех видов лабораторных животных, например крыс, мышей и морских свинок [15].

Морская свинка, как правило, является предпочтительным видом, так как легкие этого вида являются чрезвычайно чувствительным органом-мишенью. Так же как у человека, у морских свинок активация гистаминовых H<sub>1</sub>-рецепторов вызывает спазм гладких мышц трахеи и бронхов, увеличивает сосудистую проницаемость. Аллергическое воспа-

ление легких у морских свинок соответствует астматическому состоянию у человека [21].

Чтобы вызвать системную анафилактическую реакцию, морских свинок сенсибилизируют посредством однократного или курсового введения испытуемого вещества.

Сенсибилизированные животные подвергаются испытанию после периода покоя разной продолжительности путем внутривенного или внутрисердечного введения химического вещества.

В руководстве [1] описана следующая методология проведения реакции системной анафилаксии: морским свинкам вводят исследуемый препарат в эффективной терапевтической дозе (1-я группа) и в дозе, в 10 раз ее превышающей (2-я группа); первая инъекция подкожно, две последующие внутримышечно через день в область бедра. Разрешающая инъекция — внутрисердечно или внутривенно на 14–21-е сут после сенсибилизирующей инъекции. Разрешающая доза должна быть равна суммарной сенсибилизирующей дозе. Разрешающая инъекция на 14–21-е сут вводится и контрольной группе животных, которым вводили только растворитель. Учет интенсивности анафилактического шока — в индексах по Weigle [22].

##### *Активная кожная анафилаксия*

Механизм развития активной кожной анафилаксии практически полностью соответствует механизму реакции общей анафилаксии: при сенсибилизации организма аллергеном происходит выработка антител, которые при повторном попадании аллергена в организм образуют комплекс «аллерген — антитело», провоцирующий активацию тучных клеток и выброс ими биологически активных веществ, медиаторов аллергии. Разница в указанных тестах заключается в том, что повторное введение препарата производится не системно (внутрисердечно), а локально (внутрикожно). В результате аллергическая реакция охватывает не весь организм, а проявляется местно в виде увеличения проницаемости сосудов в области повторного введения препарата (рис. 2).

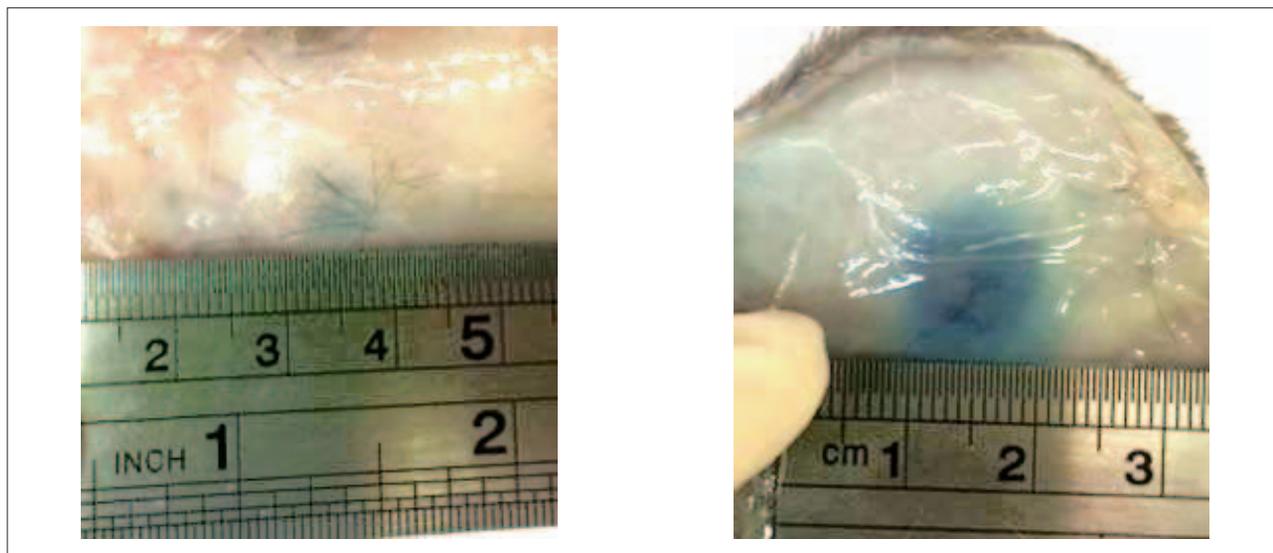


Рис. 2. Пример отрицательной (слева) с диаметром пятна <6 мм и положительной реакции с диаметром пятна 10 мм (справа)

Таблица 2

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕАКЦИЙ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА В РЕАКЦИЯХ СИСТЕМНОЙ (СА) И АКТИВНОЙ КОЖНОЙ АНАФИЛАКСИИ (АКА) НА МОРСКИХ СВИНКАХ**

Тестируемый объект (МНН)	Лекарственная форма	Молекулярная масса	Способ сенсibilизации (трехкратно, один раз в сут)	СА*	АКА*
Действующее вещество >1000 Да					
Вакцина для профилактики кори и паротита	Лиофилизат для приготовления раствора для п/к введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	0/24	2/24
Вакцина полиомиелитная инактивированная	Суспензия для внутримышечного и подкожного введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	0/24	0/24
Вакцина гриппозная инактивированная расщепленная	Раствор для внутримышечного введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	8/24	8/24
Лизаты бактерий	Таблетки	>1000 Да	в/ж, в/ж, в/ж	–	33/40
Урофоллитропин	Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения	≈23 000 Да	п/к, в/м, в/м	–	6/40
Гонадотропин хорионический	Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения	≈36 000 Да	в/м, в/м, в/м	15/40	13/40
Фоллитропин	Лиофилизат для приготовления раствора для п/к введения	≈22 700 Да	п/к, п/к, п/к	6/24	19/24
Инсулин аспарт	Раствор для п/к и в/в введения	≈5831 Да	п/к, п/к, п/к	3/24	2/24
Инсулин гларгин	Раствор для п/к введения	≈6062 Да	п/к, п/к, п/к	2/24	0/24
Альфа-1-кислый гликопротеин	Раствор для инфузий	≈41 000–43 000 Да	в/б, в/б, в/б	6/12	24/24
Пэгинтерферон альфа-2а	Раствор для п/к введения	≈40 000 Да	п/к, п/к, п/к	6/24	3/24
Простаты экстракт сухой	Суппозитории	>1000 Да	Ректально, ректально, ректально	0/12	0/12
Эноксапарин натрия	Раствор для инъекций	≈4500 Да	п/к, п/к, п/к	–	0/40
Ванкомицина гидрохлорид	Капсулы	≈1450 Да	в/ж, в/ж, в/ж	19/24#	–
В сумме				<b>65/256</b>	<b>110/364</b>
Действующее вещество <1000 Да					
Убидекаренон	Таблетки	≈863 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/12	0/12
Бициклом	Таблетки	≈390 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/12	0/12
Рифабутин	Порошок для ингаляций	≈847 Да	Эндотрахеально	8/24	20/24
Терифлуномид	Субстанция	≈270 Да	в/ж, в/ж, в/ж	–	2/20
Спарфлоксацин	Таблетки	≈392 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/24	0/24
Бетагистин	Таблетки для рассасывания	≈136 Да	в/ж, в/ж, в/ж	–	2/24
Мебеверин	Суспензия для приема внутрь	≈429 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/40	0/40
Урсодезоксихолевая кислота в комбинации с глицирризиновой кислотой	Капсулы	≈392 Да + 823 Да	в/ж, в/ж, в/ж	6/24	3/24
Рифампицин + изониазид	Таблетки	≈822 Да + 137 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/24	0/24
Аторвастатин	Таблетки	≈558 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/20	0/20
Ацетилсалициловая кислота	Таблетки	≈180 Да	в/ж, в/ж, в/ж	5/40	19/40
Валсартан	Таблетки	≈435 Да	в/ж, в/ж, в/ж	–	7/40
Аторвастатин + валсартан	Таблетки	≈558 Да + 435 Да	в/ж, в/ж, в/ж	–	6/40

Тестируемый объект (МНН)	Лекарственная форма	Молекулярная масса	Способ сенсibilизации (трехкратно, один раз в сут)	СА*	АКА*
Действующее вещество <1000 Да					
Нифедипин в комбинации	Мазь для ректального применения	≈346 Да	Ректально, ректально, ректально	0/12#	—
Ибупрофен	Таблетки	≈206 Да	в/ж, в/ж, в/ж	9/40	—
Хлорзоксазон	Субстанция	≈170 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	9/40
Левосетиризин + монтелукаст	Таблетки	≈389 Да + 586 Да	в/ж, в/ж, в/ж	4/20	—
Ибупрофен + кофеин	Таблетки	≈206 Да + 194 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	0/20
Гадопентетовая кислота	Раствор для в/в введения	≈938 Да	в/в, в/в, в/в	0/20	—
В сумме				32/312	68/404

Примечания. \* — количество животных с положительной реакцией к общему количеству животных (самцы и самки), использованных для проведения реакции; # — были зарегистрированы ложноположительные результаты; п/к — подкожно, в/м — внутримышечно, в/б — внутрибрюшинно, в/ж — внутривенно.

#### Пассивная кожная анафилаксия

Объединенные сыворотки сенсibilизированных животных инъецируют интрадермально intactным животным, а испытуемое вещество, смешанное с красителем (обычно синим Эвансом), вводят внутривенно или внутрисердечно (обычно через 12–18 ч).

Результат взаимодействия антигена с антителом приводит к резкому локальному увеличению проницаемости сосудов. Поскольку тестируемое вещество смешивается с красителем, местная кожная реакция проявляется окрашенным синим пятном на коже морской свинки. Пассивная кожная анафилаксия может быть проведена как у морских свинок, так и у грызунов.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

За последние несколько лет на базе НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» было проведено более 120 экспериментальных работ по оценке алергизирующих свойств новых лекарственных средств в рамках подготовки досье для их регистрации на территории Российской Федерации. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями [1].

В таблице 2 приведены результаты исследований алергизирующих свойств препаратов (включая комбинированные ЛС), различных по молекулярной массе, фармакологической группе и лекарственной форме, в тестах АКА и СА на морских свинках. Всего в таблице представлены результаты 33 экспериментальных работ, из них 18 исследований препаратов с молекулярной массой действующего вещества более 1000 Да и 15 — с молекулярной массой менее 1000 Да. Все исследования были одобрены для проведения биоэтической комиссией НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Способ сенсibilизации выбирали на основании предполагаемого клинического пути примене-

ния с учетом готовой лекарственной формы и рекомендаций [1].

Для жидких лекарственных форм и лиофилизатов стадию разрешения (через 18–21 сут после сенсibilизации) проводили внутрисердечным (реакция СА) и внутрикожным (реакция АКА) введением готового раствора. В случае твердых и мягких лекарственных форм использовали раствор субстанции или комбинацию субстанций. Растворитель субстанций для внутрисердечного или внутрикожного введения, а также концентрацию подбирали отдельно.

Для проведения ретроспективного анализа полученных данных провели сравнение частоты положительных результатов по сумме для высокомолекулярных соединений и низкомолекулярных с помощью частотного критерия  $\chi^2$ , рассчитанного при помощи программного обеспечения Statistica 10.0. Можно уверенно заключить, что количество зарегистрированных случаев положительных реакций, как в тесте СА, так и в тесте АКА для высокомолекулярных соединений, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) выше частоты случаев положительных реакций для низкомолекулярных соединений.

Наиболее чувствительным способом сенсibilизации с точки зрения проявления реакции анафилаксии являлись парентеральные пути введения — подкожный, внутримышечный, внутрибрюшинный.

В некоторых случаях, например для лизата бактерий (фармакологическая группа иммуностимуляторов) при внутрибрюшном пути введения (аналог клинического пути перорального), регистрировали высокий процент положительных реакций в тесте АКА, связанный, прежде всего, с их прямым фармакологическим действием, что свидетельствует об антигенных свойствах бактериального лизата.

Высокую частоту проявления положительных реакций наблюдали для биотехнологических про-

дуктов, таких как фоллитропин и урофоллитропин, гонадотропин хорионический. Полученные результаты имеют низкое prognostic значение, поскольку эти препараты как белки человека естественно являются антигенами для иммунной системы морской свинки.

Сенсибилизация морских свинок ванкомицином (трициклический антибиотик группы гликопептидов) характеризовалась высокой частотой развития реакции анафилактического шока у морских свинок. Однако развитие реакции, сопровождающейся признаками анафилактического шока, наблюдалось также и у несенсибилизированных животных после внутрисердечного введения раствора субстанции ванкомицина (контрольная группа). Обнаруженные эффекты, видимо, были связаны с развитием псевдоаллергической реакции.

Псевдоаллергические реакции имеют схожие клинические проявления, но их развитие связано с прямым или опосредованным высвобождением гистамина из тучных клеток и базофилов, происходящим под влиянием введенного лекарственного средства без вовлечения специфических иммунных механизмов. Известно, что ванкомицин способен вызывать дегрануляцию тучных клеток и базофилов с развитием симптомокомплекса, напоминающего клинические проявления классических аллергических реакций [23].

Среди низкомолекулярных соединений высокую частоту положительных реакций наблюдали после сенсибилизации животных ацетилсалициловой кислотой. Известно, что ацетилсалициловая кислота сдвигает метаболизм арахидоновой кислоты в сторону 5-липоксигеназного пути с последующим синтезом лейкотриеновых сульфидопептидов (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>), которые, как известно, обладают сильным бронхосуживающим эффектом. Кроме

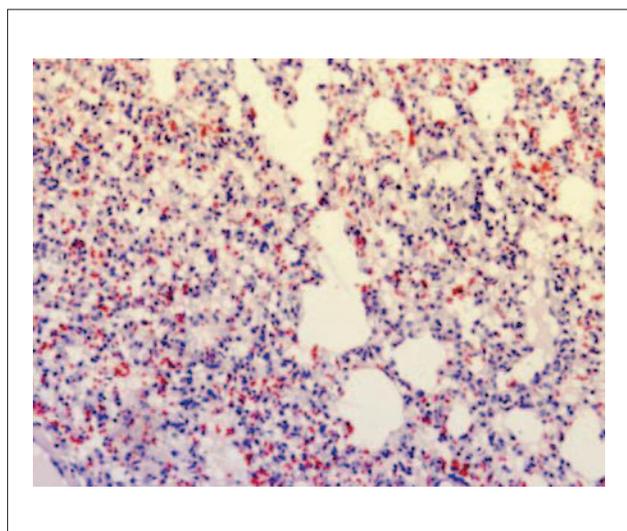
того, после приема аспирина увеличивается уровень простагландинов D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), который отражает активацию тучных клеток, повышение уровня гистамина и триптаза, играющих ключевую роль в развитии аллергических реакций немедленного типа [24].

Отдельно хотелось бы выделить исследование алергизирующих свойств мази для ректального применения, содержащей в своем составе блокатор кальциевых каналов нифедипин. На этапе разрешения после внутрисердечного введения раствора субстанции нифедипин в экспериментальных группах у ряда животных отмечали беспокойство, судороги, атаксию с заваливанием на бок и затруднение дыхания. Был зарегистрирован один случай летального исхода.

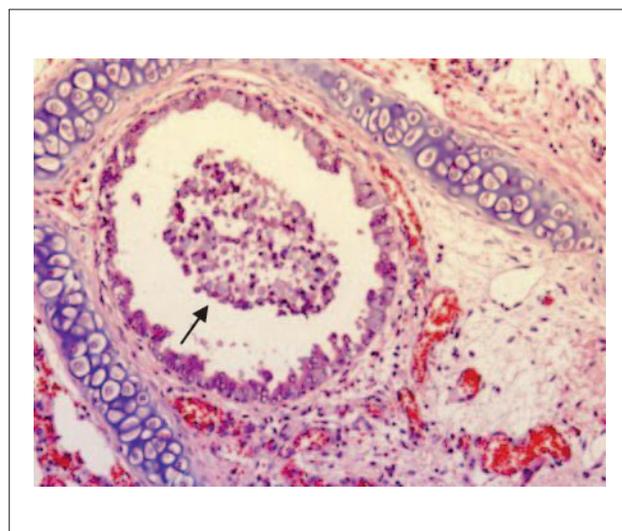
Для исключения ложноположительных реакций у морских свинок с выявленными реакциями было изучено гистологическое строение легких, поскольку легкие являются главным органом-мишенью при развитии системной анафилаксии [21].

При анализе гистологических срезов у животных позитивного контроля (овальбумин) были обнаружены изменения, характерные для анафилактического шока: дисциркуляторные изменения в сосудах легких, формирование гиалиновых тромбов, развитие периваскулярного и диффузного отека легких, умеренная гистиоплазмочитарная и лимфоплазмочитарная инфильтрация периваскулярных пространств и обтурация просвета мелких и средних бронхов (рис. 3–5). В большинстве случаев отмечали спастические явления в сосудах легких. У животных с признаками анафилаксии после внутрисердечной инъекции нифедипина подобные изменения отсутствовали (рис. 6).

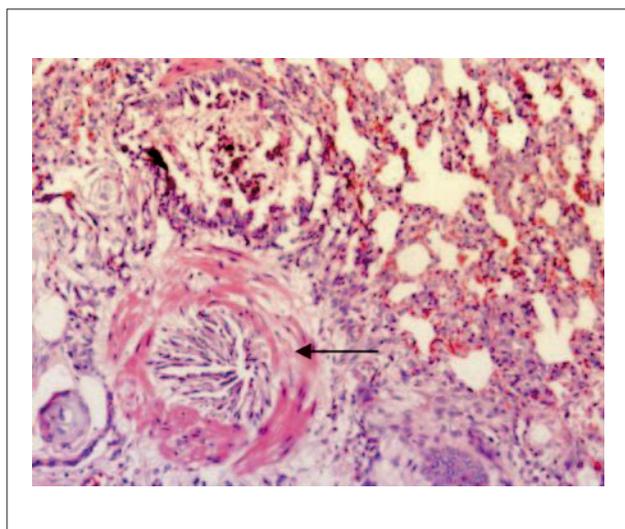
По результатам гистологического исследования выявленные реакции не были охарактеризованы как анафилактические и предположительно связаны с гипотензивным шоком при внутрисердечном



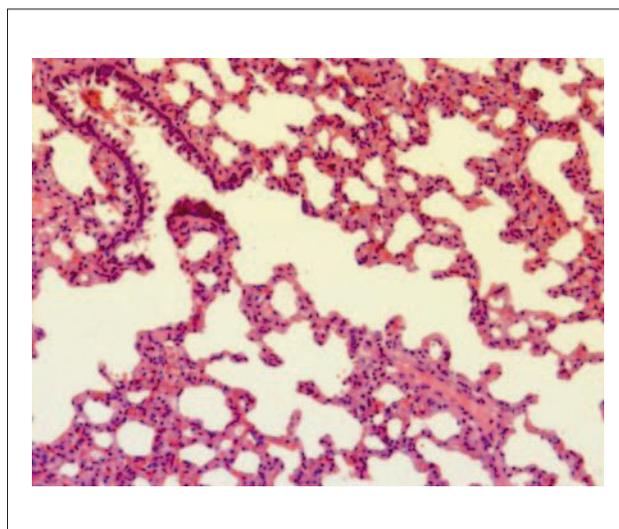
**Рис. 3.** Срез легкого. Положительный контроль — сенсибилизация и разрешение овальбумином. Отек и диффузная лимфоплазмочитарная инфильтрация. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение 100



**Рис. 4.** Срез легкого. Положительный контроль — сенсибилизация и разрешение овальбумином. Обтурация просвета бронха серозно-слизистыми массами с небольшим количеством плазмочитов (стрелка). Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение 100



**Рис. 5.** Срез легкого. Положительный контроль — сенсibilизация и разрешение овальбумином. Спазмированная артерия (стрелка). Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение 100



**Рис. 6.** Срез легкого. Сенсibilизация — мазь, содержащая в составе нифедипин. Разрешение — внутрисердечное введение нифедипина. Отсутствие изменений, характерных для анафилактического шока. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение 100

Таблица 3

**СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТОВ НА МОРСКИХ СВИНКАХ И КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ/СУБСТАНЦИЙ / ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ [26]**

Лекарственное средство/субстанция / вспомогательные вещества	Чувствительность в тестах на морских свинках	Клинические данные
Альтезин	+	++
Клоксациллин	+++	+
Пенициллин G	+++	+++
Хинин	+++	++
Хлорамин Т	+++	+++
Диизоцианат	+++	+++
Тримеллитик ангидрид	++	++
Салициловая кислота	0	0
Миконазол	0	0
Нафтидрофурил	0	0
Ацетон	0	0
Акролеин	0	0
Гентамицин	0	+
Канамицин	0	+
Феназон	0	+
Фенобарбитал	0	+
Пропиленгликоль	0	+
Соли меди	0	+
Клиохинол	+	0
Пропилгаллат	+++	0
Акрилонитрил	+++	0
Амилацетат	+	0
Анилин	+++	0

введении нифедипина, механизмом действия которого является блокада кальциевых каналов гладкой мускулатуры и кардиомиоцитов.

Таким образом, результаты собственных исследований демонстрируют ограниченность использования стандартных тестов, таких как АКА и СА, для оценки сенсибилизирующего потенциала как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных соединений (за исключением высокореактивных веществ), высокую вероятность ложноположительных результатов. Стандартные тесты оказываются наиболее эффективными при изучении сенсибилизирующих (антигенных) свойств белковых препаратов с молекулярной массой активного компонента более 1000 Да. К подобному выводу приходят и зарубежные исследователи [25–27].

Авторами J.L. Weaver и др. [27] убедительно показано отсутствие корреляции экспериментальных и клинических данных. В работе авторов G. Choquet-Kastylevsky и J. Descotes [26] приведен сравнительный анализ экспериментальных и клинических данных некоторых лекарственных средств, субстанций и вспомогательных компонентов (табл. 3).

На текущий момент обязательной является оценка алергизирующих свойств готовых лекарственных средств в виде таблеток, капсул, растворов для инъекций, мазей и др. Но остается много методических вопросов к оценке системных аллергических реакций (реакций анафилаксии) в тестах на морских свинках. В частности, способ сенсибилизации (путь введения, курс), используемые дозы и концентрации при сенсибилизации и разрешении реакций, соответственно.

Очевидно, что использование стандартных тестов на морских свинках не дает возможности сделать адекватный прогноз развития аллергических реакций. Отрицательные и положительные результаты не следует расценивать как подтверждение потенциального отсутствия или наличия анафилактических реакций в клинической практике.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что на сегодняшний день не существует адекватных моделей на животных, позволяющих корректно оценить риск развития реакций немедленного типа в клинической практике. Стандартные тесты на морских свинках, такие как реакция системной анафилаксии (анафилактический шок), активная и пассивная кожная анафилаксия, могут быть полезными, например, для сравнительного изучения антигенных свойств высокомолекулярных соединений, главным образом белковых молекул. Можно сделать вывод об ограниченности использования этих тестов для оценки безопасности новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. Представляется важным пересмотр методических стандартов к изучению алергизирующих свойств с учетом международных рекомендаций и этических принципов.

*Авторы не заявили о конфликте интересов*  
*The authors did not declare a conflict of interest*

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М: Гриф и К; 2012. [Guidance on preclinical evaluation of medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012 (In Russ.)]
2. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013. [Guidance on evaluation of medicines. V. I. Moscow: Grif i K; 2013 (In Russ.)]
3. ICH M3(R2) Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals M3(R2); 2009.
4. ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств. М.: Стандартиформ; 2016. [State Standard R 56701-2015. Medicinal products for medical use. Guidelines for the planning of preclinical safety studies for the purpose of subsequent clinical trials and registration of drugs. Moscow: Standartinform; 2016 (In Russ.)]
5. Сепиашвили РИ, Славянская ТА. Белая книга WAO по аллергии 2011–2012: резюме. М.: Медицина-Здоровье; 2011. [Sepiashvili RI, Slavyanskaya TA. WAO White book of Allergy 2011–2012: Resume. Moscow: Meditsina-Zdorovie; 2011 (In Russ.)]
6. Елисеева ТИ, Балаболкин ИИ. Аллергические реакции на лекарственные средства: современные представления (обзор). Современные технологии в медицине 2016; 8(1): 159–72. [Eliseeva TI, Balabolkin II. Allergic reactions to medicines: modern views (review). Modern Technologies in Medicine 2016; 8(1): 159–72 (In Russ.)]
7. Колодийчук ЕВ, Грудина ЕВ, Малашенкова ТЕ. Лекарственная аллергия. Медицинский вестник Северного Кавказа 2007; (2): 70–5. [Kolodijchuk EV, Grudina EV, Malashenkova TE. Drug Allergy. The Medical Bulletin of the North Caucasus 2007; (2): 70–5 (In Russ.)]
8. Хайтов РМ, Ильина НИ. Аллергология и иммунология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. [Haitov RM, Ilyina NI. Allergology and Immunology: National Guideline. Moscow: GEOTAR-Media; 2009 (In Russ.)]
9. Naisbitt DJ, Gordon SF, Pirmohamed M, Park BK. Immunological Principles of Adverse Drug Reactions: the Initiation and Propagation of Immune Responses Elicited by Drug Treatment. Drug Saf 2000; 23(6): 483–507.
10. Gell PGH, Coombs RRA. Clinical Aspects of Immunology. Oxford-Edinburg; 1975.
11. Schnyder B, Brockow K. Pathogenesis of Drug Allergy — Current Concepts and Recent Insights. Clin Exp Allergy 2015; 45(9): 1376–83.
12. Landsteiner K, Jacobs J. Studies on the Sensitization of Animals with Simple Chemical Compounds. J Exp Med 1935; 61(5): 643–56.
13. Bugelski PJ. Genetic Aspects of Immune-Mediated Adverse Drug Effects. Nature 2005; (4): 59–69.
14. Park BK, Coleman JW, Kitteringham NR. Drug Disposition and Drug Hypersensitivity. Biochem Pharmacol. 1987; 36(5): 581–90.
15. Ratajczak HV. Drug-Induced Hypersensitivity. Toxicol Rev. 2004; 23(4): 265–80.
16. Новиков ПД, Новиков ДК. Механизмы аллергии на лекарства-гптены. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2000; (4): 48–64. [Novikov PD, Novikov DK. Mechanisms of allergy to drugs-haptens. Immunopathology, Allergology, Infectology 2000; (4): 48–64 (In Russ.)]
17. Pichler WJ. Delayed Drug Hypersensitivity Reactions. Ann Intern Med. 2003; 139(8): 683–93.
18. ICH S8 Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER); 2006.
19. Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drugs. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2002.
20. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32375-2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации. М.: Стандартиформ; 2014. [Interstate Standard GOST 32375-2013.

- Test methods for the effects of chemical products on the human body. Tests for the evaluation of skin sensitization. Moscow: Standartinform; 2014 (In Russ.)]
21. Ацапкина АА, Крышень КЛ, Касторнова АЕ, Макарова МН, Макаров ВГ. Иммунологический статус лабораторных животных при моделировании состояний гиперчувствительности немедленного типа. *Международный вестник ветеринарии* 2014; (1): 91–9. [Atsapkina AA, Kryshen KL, Kastornova AE, Makarova MN, Makarov VG. Immunological status of laboratory animals in the modeling of immediate-type hypersensitivity. *International Veterinary Journal* 2014; (1): 91–9 (In Russ.)]
  22. Weigle WO, Cochrane CG, Dixon FJ. Anaphylactogenic Properties of Soluble Antigen-Antibody Complexes in the Guinea Pig and Rabbit. *J Immunol.* 1960; 85: 469–77.
  23. Овчинникова ЕА, Овчинникова ЛК. Спектр безопасности ванкомицина. *Качественная клиническая практика* 2004; (2): 36–48. [Ovchinnikova EA, Ovchinnikova LK. Safety profile of vancomycin. *Qualitative Clinical Practice* 2004; (2): 36–48 (In Russ.)]
  24. Jenneck C, Juergens U, Buecheler M, Novak N. Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Aspirin Intolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2007; 99(1): 13–21.
  25. Chazal I, Verdier F, Virat M, Descotes J. Prediction of Drug-Induced Immediate Hypersensitivity in Guinea Pigs. *Toxicol In Vitro* 1994; 8(5): 1045–7.
  26. Choquet-Kastylevsky G, Descotes J. Value of Animal Models for Predicting Hypersensitivity Reactions to Medicinal Products. *Toxicology* 1998; 129(1): 27–35.
  27. Weaver JL, Staten D, Swann J, Armstrong G, Bates M, Hastings KL. Detection of Systemic Hypersensitivity to Drugs Using Standard Guinea Pig Assays. *Toxicology* 2003; 193(3): 203–17.

## ОБ АВТОРАХ

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245  
*Крышень Кирилл Леонидович.* Руководитель отдела токсикологии и микробиологии, канд. биол. наук  
*Кательникова Анастасия Евгеньевна.* Руководитель группы иммунобиологических лекарственных препаратов  
*Мужикян Арман Артушович.* Руководитель лаборатории гистологии и патоморфологии, канд. вет. наук  
*Макарова Марина Николаевна.* Директор, д-р мед. наук  
*Макаров Валерий Геннадьевич.* Заместитель директора по науке, д-р мед. наук, проф.

*Статья поступила 17.11.2017*  
*Article was received 17 November 2017*

## AUTHORS

Joint Stock Company Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», 3/245 Zavodskaya street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation  
*Kirill L. Kryshen.* Head of the Toxicology and Microbiology Department. Candidate of Biological Sciences  
*Anastasia E. Katelnikova.* Head of the Immunobiological Medicines Group  
*Arman A. Muzhikyan.* Head of the Histology and Pathomorphology Laboratory. Candidate of Veterinary Sciences  
*Marina N. Makarova.* Director. Doctor of Medical Sciences  
*Valery G. Makarov.* Deputy Director for Science. Doctor of Medical Sciences, Professor

*Принята к печати 14.02.2018*  
*Accepted for publication 14 February 2018*

## Применение хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа парабенов

А. С. Осипов, О. А. Попова, С. Е. Милкина, Т. Н. Грецкая, \* А. И. Сулименкова

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** На основании опыта использования метода жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа соединений различной природы исследована возможность применения хроматографической колонки XBridge Amide 150×4,6 мм для разделения эфиров 4-гидроксибензойной кислоты (парабенов). Сравнивались времена удерживания, порядок выхода и разрешение между пиками парабенов и примеси А (4-гидроксибензойная кислота) при использовании подвижных фаз ацетонитрил — фосфатный буфер с содержанием ацетонитрила 7–10 % и подвижных фаз ацетонитрил — вода с содержанием ацетонитрила 96–99 % на указанной колонке. На основании полученных данных установлено, что для разделения гомологов парабенов между собой предпочтительно использование обращенно-фазового варианта хроматографии, а для анализа примеси 4-гидроксибензойной кислоты — хроматографии гидрофильных взаимодействий. При анализе возможных механизмов удерживания соединений на колонке XBridge Amide сделано предположение, что в отличие от аминок групп амидные группы сорбента не обладают сродством к фенольным гидроксильным группам парабенов в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий.

**Ключевые слова:** ВЭЖХ; жидкостная хроматография гидрофильных взаимодействий; эфиры 4-гидроксибензойной кислоты (парабены); амидный сорбент; определение примесей

**Для цитирования:** Осипов АС, Попова ОА, Милкина СЕ, Грецкая ТН, Сулименкова АИ. Применение хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа парабенов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 56–60. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-56-60

\* **Контактное лицо:** Сулименкова Александра Ильинична; Sulimenkova@expmed.ru

## The Use of a Chromatographic Column Packed with Amide Sorbent for the Analysis of Parabens

A. S. Osipov, O. A. Popova, S. E. Milkina, T. N. Gretskaia, \* A. I. Sulimenkova

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** The article investigates the applicability of the amino column XBridge Amide 150×4.6 mm for separation of 4-hydroxybenzoic acid esters (parabens) — based on experience with hydrophilic interaction liquid chromatography used for analysis of various compounds. The study analysed the retention times, elution order and resolution between the peaks of parabens and impurity A (4-hydroxybenzoic acid) while using acetonitrile : phosphate buffer mobile phases containing 7–10 % of acetonitrile and acetonitrile : water mobile phases containing 96–99 % of acetonitrile, and the above-mentioned column. It was demonstrated that reversed-phased chromatography was preferable for separation of paraben homologues, while hydrophilic interaction chromatography was preferable for analysis of 4-hydroxybenzoic acid impurity. When analysing potential mechanisms of retention of compounds by the XBridge Amide column it was suggested that, unlike amino groups, amide groups of the sorbent do not have affinity for phenolic hydroxyl groups of parabens in hydrophilic interaction liquid chromatography.

**Key words:** HPLC; hydrophilic interaction liquid chromatography; 4-hydroxybenzoic acid esters (parabens); amide sorbent; impurities determination

**For citation:** Osipov AS, Popova OA, Milkina SE, Gretskaia TN, Sulimenkova AI. The Use of a Chromatographic Column Packed with Amide Sorbent for the Analysis of Parabens. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 56–60. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-56-60

\* **Contact person:** Sulimenkova Aleksandra Ilyinichna; Sulimenkova@expmed.ru

Парабены, или эфиры пара-гидроксibenзойной кислоты, применяют как антимиикробные консерванты при изготовлении мягких и жидких лекарственных форм (суспензий, микстур, мазей и кремов). В составе твердых желатиновых капсул парабены могут применяться для предотвращения разрушения желатина микроорганизмами. Наиболее часто в составе лекарственных средств используют метилпарабен (нипагин) и пропилпарабен (нипазол) как отдельно, так и в сочетании друг с другом. Кроме того, следует отметить, что наряду с нейтральными (фенольными) формами парабенов в Фармакопее США описаны натриевые (растворимые) формы парабенов [1, 2].

В монографиях Европейской фармакопеи и Фармакопеи США приведены условия анализа для метил-, этил- и пропилпарабенов в режиме обращенно-фазовой хроматографии на колонках C18 150×4,6 мм (5 мкм). В качестве подвижной фазы применяют смесь водного раствора 6,8 г/л дигидрофосфата калия (KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>) с метанолом (35:65), детектирование при длине волны 272 нм. При анализе бутилпарабена, как более массивного гомолога, на той же колонке соотношение компонентов подвижной фазы иное — 50:50, что связано с определенным специфичной примесью изобутилпарабена [3]. Во всех монографиях на парабены нормируется содержание 4-гидроксibenзойной кислоты (примеси А). Необходимо отметить, что в описанных условиях 4-гидроксibenзойная кислота элюируется с колонки до парабенов. В большинстве случаев небольшое время удерживания соединения затрудняет его количественный анализ из-за плохого разделения с пиками «мертвого» объема.

Ранее было показано, что хроматографические колонки с фенольными и нитрильными сорбентами могут быть использованы для определения парабенов в лекарственных препаратах в условиях обращенно-фазовой хроматографии [4]. В условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий на колонке Zorbax NH<sub>2</sub> не удается достичь такой же степени разделения гомологов парабенов между собой, однако появляется возможность уверенно определять примесь 4-гидроксibenзойной кислоты, поскольку в этих условиях анализа [5] данная примесь элюируется с хроматографической колонки после парабенов.

Присутствие фенольных гидроксильных групп в молекулах анализируемых соединений, а также в антиоксидантах бутилгидроксианизоле и бутилгидрокситолуоле [6, 7] объясняет определенную схожесть поведения парабенов и этих антиоксидантов на колонках с аминсорбентами в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий [8]. Можно ожидать такую же схожесть поведения парабенов и на колонке с амидным сорбентом.

Цель работы — исследовать возможность применения хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа парабенов, а также уточнить механизм их хроматографического разделения на данных колонках.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на хроматографе Agilent 1100 с диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, США). Разделение парабенов осуществляли на колонках XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм) (Waters, Ирландия) и Zorbax NH<sub>2</sub> 150×4,6 мм (5 мкм) (Agilent Technologies, США). Детектирование при длине волны 260 нм. Скорость потока элюента составляла 1,0 мл/мин. Объем ввода пробы 5 мкл.

Составы использованных подвижных фаз приведены в таблицах и подписях к рисункам.

В работе использовали стандартные образцы метилпарагидроксibenзоата и этилпарагидроксibenзоата Европейской фармакопеи, стандартный образец пропилпарабена Фармакопеи США, а также *n*-бутил-4-гидроксibenзоат (бутилпарабен) (ABC R GmbH, Германия), 4-гидроксibenзойной кислоты *n*-гептиловый эфир (*n*-гептилпарабен) (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия) и 4-гидроксibenзойную кислоту (Sigma-Aldrich, США). Пробы растворяли в смеси ацетонитрил — вода (95:5) (хроматография гидрофильных взаимодействий) либо ацетонитрил — вода (30:70) (обращенно-фазовая хроматография). Перед введением в хроматограф все пробы центрифугировали при 11 тыс. об/мин в течение 7 мин (центрифуга Eppendorf minispin, Германия).

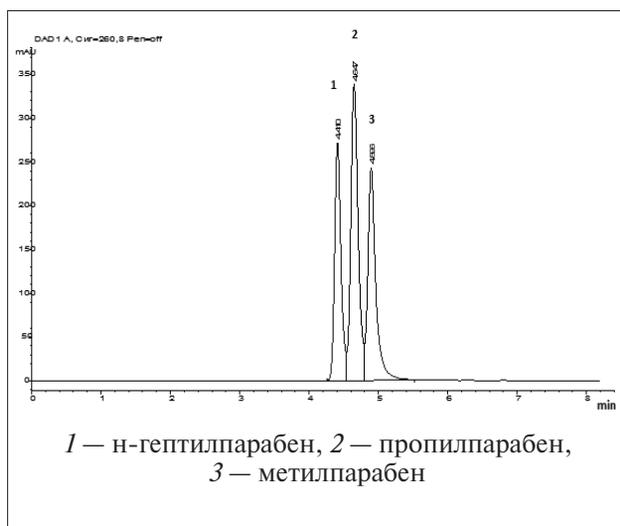
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий свойства колонок с амидными сорбентами могут быть, в зависимости от анализируемых соединений, как близки (разделение мочевины и гидроксикарбамида, анализ координационных соединений платины) [9–12], так и значительно отличаться от колонок с аминсорбентами (разделение изомеров бутилгидрокситолуола, анализ органических нитратов) [8, 13, 14].

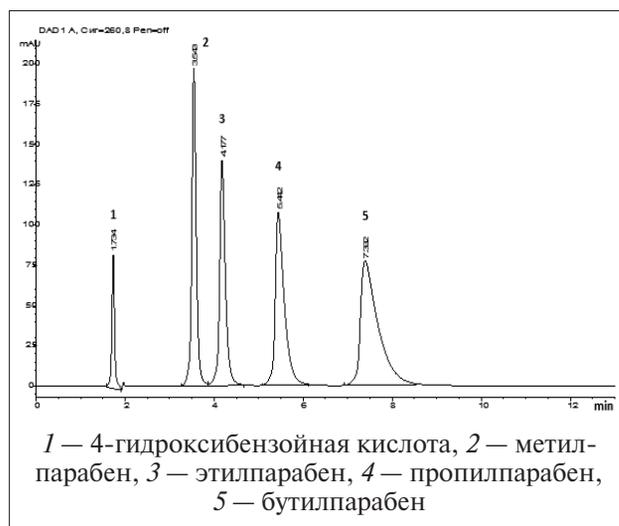
На рисунке 1 представлена хроматограмма разделения модельной смеси парабенов в условиях хроматографии гидрофильных взаимодействий на колонке XBridge Amide. Следует отметить, что при этом меняется очередность элюирования анализируемых соединений по сравнению с обращенно-фазовой хроматографией (рис. 2) и уменьшается разрешающая способность колонки.

В таблице 1 приведены некоторые результаты хроматографирования модельной смеси парабенов в условиях обращенно-фазовой хроматографии на амидной колонке XBridge Amide. С уменьшением содержания ацетонитрила в подвижной фазе закономерно возрастают времена удерживания анализируемых парабенов. Нормируемая в парабенах примесь (4-гидроксibenзойная кислота) элюируется с колонки в этом режиме до парабенов (рис. 2).

При сравнении полученных результатов с результатами предыдущих исследований [5] становится очевидно, что колонка с амидным сорбентом по степени разделения парабенов, которая может быть достигнута в режиме хроматографии гидрофильных



**Рис. 1.** Хроматограмма разделения модельной смеси стандартных образцов парабенов. Условия анализа: колонка XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм); подвижная фаза: ацетонитрил—1 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> (99:1); скорость потока — 1,0 мл/мин; детектирование 260 нм



**Рис. 2.** Хроматограмма разделения модельной смеси стандартных образцов парабенов и 4-гидроксibenзойной кислоты. Условия анализа: колонка XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм); подвижная фаза: ацетонитрил—4 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> в воде (7:93); скорость потока — 1,0 мл/мин; детектирование 260 нм

Таблица 1

**ВРЕМЕНА УДЕРЖИВАНИЯ И РАЗРЕШЕНИЕ МЕЖДУ ПИКАМИ МЕТИЛ-, ЭТИЛ-, ПРОПИЛ- И БУТИЛПАРАБЕНА НА КОЛОНКЕ XBridge Amide В УСЛОВИЯХ ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ\***

Состав подвижной фазы	Разрешение между пиками метил- и этилпарабена	Разрешение между пиками пропил- и бутилпарабена	Время удерживания метилпарабена, мин	Время удерживания пропилпарабена, мин	Время удерживания бутилпарабена, мин
Ацетонитрил—4 мМ КН <sub>2</sub> РO <sub>4</sub> (10:90)	2,33	3,34	3,02	4,04	5,02
Ацетонитрил—4 мМ КН <sub>2</sub> РO <sub>4</sub> (7:93)	3,36	3,85	3,54	5,45	7,40

\* Средняя величина пяти определений для каждого условия хроматографирования.

взаимодействий, уступает в этом колонке с аминоксорбентом (рис. 3).

Таким образом, применение хроматографии гидрофильных взаимодействий на колонке с амидным сорбентом XBridge Amide для анализа гомологического ряда парабенов оказывается практически невозможным. Однако в описанных условиях амидная колонка пригодна для определения примеси 4-гидроксibenзойной кислоты в парабенах. Данная примесь в этих условиях элюируется позже парабенов, которые в режиме гидрофильных взаимодействий очень слабо удерживаются хроматографической колонкой (рис. 4). Анализ 4-гидроксibenзойной кислоты на колонке с амидным сорбентом XBridge Amide в условиях хроматографии гидрофильных взаимодействий может быть предложен как альтернативный вариант определения этой примеси в парабенах.

В таблице 2 приведены сравнительные результаты времени удерживания, эффективности колонки и коэффициента асимметрии 4-гидрок-

сibenзойной кислоты в зависимости от соотношения ацетонитрил—вода в подвижной фазе. Следует отметить, что с увеличением доли ацетонитрила увеличивается время удерживания 4-гидроксibenзойной кислоты, данный факт характерен для жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий.

При анализе 4-гидроксibenзойной кислоты проявляется различие в свойствах хроматографических колонок с амино- и амидными сорбентами. Аминсорбент Zorbax NH<sub>2</sub> представляет собой ионообменник, на котором для элюирования 4-гидроксibenзойной кислоты необходимо применять подвижные фазы, содержащие 20–30 водных частей 1 % уксусной кислоты [5]. Амидный сорбент XBridge Amide не обладает подобными свойствами и практически не обладает сродством к фенольным гидроксильным группам парабенов. На этом сорбенте для элюирования 4-гидроксibenзойной кислоты в составе подвижной фазы достаточно только 1–2 % воды (табл. 2).

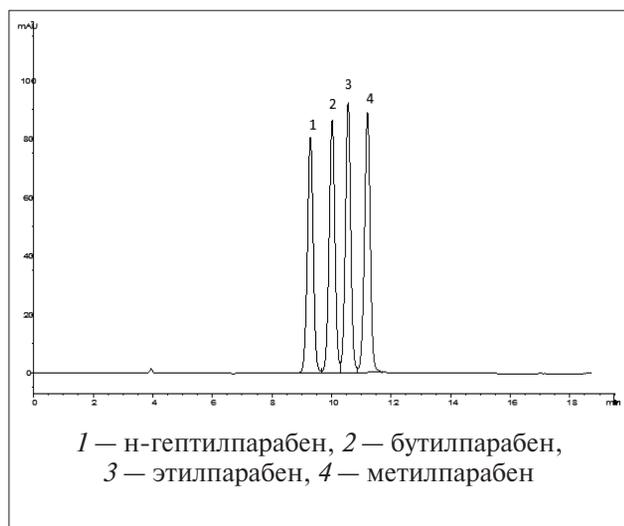


Рис. 3. Хроматограмма разделения модельной смеси стандартных образцов парабенов [5].

Условия анализа: колонка Zorbax NH<sub>2</sub> 150×4,6 мм (5 мкм); подвижная фаза: ацетонитрил—2 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> (98:2); скорость потока — 1,0 мл/мин; детектирование 260 нм

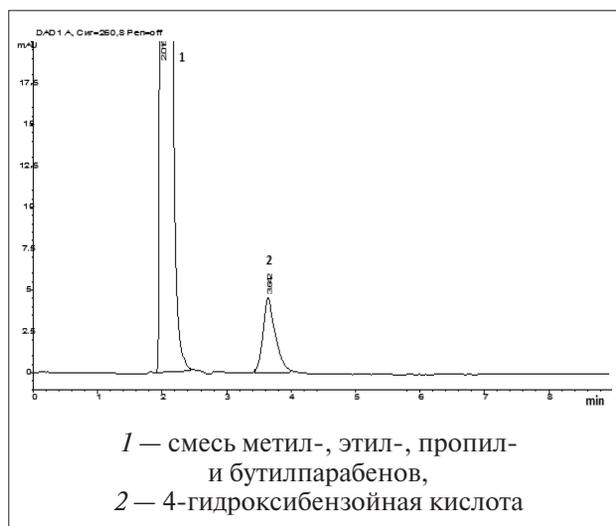


Рис. 4. Хроматограмма разделения модельной смеси стандартных образцов парабенов и 4-гидроксibenзойной кислоты.

Условия анализа: колонка XBridge Amide 150×4,6 мм (3,5 мкм); подвижная фаза: ацетонитрил—вода (97:3); скорость потока — 1,0 мл/мин; детектирование 260 нм

Таблица 2

**ПАРАМЕТРЫ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ 4-ГИДРОКСIBENЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ НА КОЛОНКЕ XBridge Amide\***

Состав подвижной фазы	Время удерживания 4-гидроксibenзойной кислоты (мин)	Эффективность колонки по пику 4-гидроксibenзойной кислоты (ГТ)	Коэффициент асимметрии пика 4-гидроксibenзойной кислоты
Ацетонитрил—вода (96:4)	2,96	4300	1,28
Ацетонитрил—вода (98:2)	5,22	2630	1,56
Ацетонитрил—вода (99:1)	6,55	2180	1,95

\* Средняя величина пяти определений для каждого условия хроматографирования.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате проведенного исследования установлено, что жидкостная хроматография гидрофильных взаимодействий на колонке XBridge Amide оказывается неэффективной для анализа гомологического ряда парабенов. Разрешение между пиками парабенов в этих условиях существенно меньше, чем при использовании обращенно-фазовой хроматографии. Однако указанная колонка с амидным сорбентом пригодна в условиях жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для определения примеси 4-гидроксibenзойной кислоты в парабенах. Смена режима элюирования приводит к смене порядка выхода компонентов с колонки, и нормируемая примесь удерживается дольше парабенов, которые, практически не разделяясь, элюируются в начале хроматограммы.

*Авторы не заявили о конфликте интересов  
The authors did not declare a conflict of interest*

**ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES**

1. Monograph: Methyl Parahydroxybenzoate. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017. Available from: <http://online.edqm.eu/EN/entry.htm>
2. Monograph: Methylparaben Sodium. United States Pharmacopoeia. 40th ed. USP 40-NF 35; 2017. Available from: <http://app.uspnf.com/uspnf/pub/index?usp=40&nf=35&s=2&officialOn=December 1, 2017>
3. Monograph: Butyl Hydroxybenzoate. British Pharmacopoeia 2013. London: Stationery Office; 2012.
4. Осипов АС, Попова ОА, Сулейманов РР, Нездольева МВ. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа эфиров 4-гидроксibenзойной кислоты. Успехи современного естествознания 2016; 11(2): 256–60. [Osipov AS, Popova OA, Suleymanov RR, Nezdozieva MV. Application of HPLC Analysis Esters of 4-hydroxybenzoic Acid. Advances in Current Natural Sciences 2016; 11(2): 256–60 (In Russ.)]
5. Осипов АС, Попова ОА, Сулименкова АИ, Нездольева МВ. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа парабенов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2017; (1): 104–7. [Osipov AS, Popova OA, Sulimenkova AI, Nezdozieva MV. The Use of Liquid Chromatography of Hydrophilic Interactions for the Analysis of Parabens. Drug Development and Registration 2017; (1): 104–7 (In Russ.)]

6. Ноздрин КВ, Великородный АА, Осипов АС, Родионова ГМ. Оптимизация условий хроматографирования бутилгидроксианизола и бутилгидрокситолуола при совместном присутствии. Фармация 2007; (5): 7–10. [Nozdryn KV, Velikородnyi AA, Osipov AS, Rodionova GM. Optimization of Chromatographic Conditions for Butylhydroxyanisole and Butylhydroxytoluene in the Joint Presence. Pharmacy 2007; (5): 7–10 (In Russ.)]
7. Осипов АС, Орлов ЕН. Применение колонок с оптически-активными сорбентами для разделения позиционных изомеров. Химико-фармацевтический журнал 2012; 46(5): 28–31. [Osipov AS, Orlov EN. Separation of Positional Isomers Using Chiral Chromatography Columns. Pharmaceutical Chemistry Journal 2012; 46(5): 288–91]
8. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Миронова ММ, Ковалева ЕЛ. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения изомеров бутилгидроксианизола. Химико-фармацевтический журнал 2015; 49(3): 50–2. [Osipov AS, Nechaeva EB, Mironova MM, Kovaleva EL. Use of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography to Separate Butylhydroxyanisole Isomers. Pharmaceutical Chemistry Journal 2015; 49(3): 203–5]
9. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Победин ОА. Применение хроматографической колонки с диольным сорбентом для анализа координационных соединений платины. Химико-фармацевтический журнал 2013; 47(6): 51–3. [Osipov AS, Nechaeva EB, Pobedin OA. Application of a Chromatographic Column with a Diol Sorbent for the Analysis of Platinum Coordination Compounds. Pharmaceutical Chemistry Journal 2013; 47(6): 51–3]
10. Осипов АС, Попова ОА, Рослякова НВ, Кожемякина ЛЛ. Применение хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа координационных соединений платины. Разработка и регистрация лекарственных средств 2017; (2): 152–5. [Osipov AS, Popova OA, Roslyakova NV, Kozhemyakina LL. The Use of an Amide Sorbent Chromatographic Column for Analysis of Platinum Coordination Compounds. Drug Development and Registration 2017; (2): 152–5 (In Russ.)]
11. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Победин ОА. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа гидроксикарбамида. Разработка и регистрация лекарственных средств 2015; (2): 140–4. [Osipov AS, Nechaeva EB, Pobedin OA. Application of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography for the Analysis Hydroxycarbamide. Drug Development and Registration 2015; (2): 140–4 (In Russ.)]
12. Осипов АС, Попова ОА, Ларионова СГ, Тимошина ЕЮ. Применение хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения гидроксикарбамида и мочевины. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017; 7(2): 81–4. [Osipov AS, Popova OA, Larionova SG, Timoshina EYu. Hydrophilic Interaction Chromatography Used for Separation Hydroxycarbamide and Urea. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017; 7(2): 81–4 (In Russ.)]
13. Осипов АС, Нечаева ЕБ, Трухачева ЛА. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для анализа органических нитратов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2016; (3): 108–11. [Osipov AS, Nechaeva EB, Truhacheva LA. Application of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography for Analysis of Organic Nitrates. Drug Development and Registration 2016; (3): 108–11 (In Russ.)]
14. Осипов АС, Попова ОА, Ларионова СГ, Грецкая ТН, Милкина СЕ. Применение жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий для разделения позиционных изомеров бутилгидроксианизола и изосорбида мононитрата. Фармация 2017; 66(5): 14–8. [Osipov AS, Popova OA, Larionova SG, Gretskaia TN, Milkina SE. The Use of Liquid Chromatography of Hydrophilic Interactions to Separate the Positional Isomers of Butylhydroxyanisole and Isosorbide Mononitrate. Pharmacy 2017; 66(5): 14–8 (In Russ.)]

## ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Попова Ольга Анатольевна.* Начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

*Осипов Алексей Сергеевич.* Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук

*Милкина Светлана Евгеньевна.* Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

*Грецкая Татьяна Николаевна.* Главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

*Сулименкова Александра Ильинична.* Ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Статья поступила 24.10.2017

Article was received 24 October 2017

## AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Olga A. Popova.* Head of the Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

*Alexey S. Osipov.* Chief Expert of the Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

*Svetlana E. Milkina.* Chief Expert of the Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

*Tatiana N. Gretskaia.* Chief Expert of the Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

*Aleksandra I. Sulimenkova.* Leading Expert of the Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Preparations No. 2 of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Принята к печати 14.02.2018

Accepted for publication 14 February 2018

## Сравнительный анализ требований к оценке качества лекарственных препаратов, содержащих этинилэстрадиол и левоноргестрел

В. И. Середенко, А. В. Королев, \* Л. Г. Маслов, Т. Ю. Белова, Н. Н. Долгушина

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

**Резюме.** Представлены результаты сравнительной оценки методов контроля и уровня требований, предъявляемых ведущими зарубежными фармакопеями и нормативными документами производителей к качеству комбинированных лекарственных препаратов, содержащих левоноргестрел и этинилэстрадиол, применяемых в качестве пероральных контрацептивов. В ходе исследования анализировали препараты, содержащие комбинацию левоноргестрела и этинилэстрадиола (Везантра, Меллева, Микрогинон, Минизистон, Модэль Либеры и др.), которые поступали на экспертизу качества в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. На основании сопоставления полученных данных установлено, что методы контроля качества препаратов, содержащих левоноргестрел и этинилэстрадиол, приведенные в зарубежных фармакопеях и нормативных документах производителей, соответствуют современному уровню развития фармацевтического анализа и позволяют в полной мере оценить качество лекарственных препаратов данной группы, зарегистрированных в Российской Федерации. Нормативные документы производителей включают оценку дополнительных показателей: «Родственные примеси», «Микробиологическая чистота», а в отдельных случаях — «Подлинность красителей» (титана диоксида, железа оксида), «Средняя масса», «Распадаемость», «Вода», «Остаточные органические растворители». Полученные результаты свидетельствуют о том, что требования нормативных документов производителей соответствуют уровню требований ведущих зарубежных фармакопей, а по показателю «Количественное определение» превосходят его.

**Ключевые слова:** левоноргестрел; этинилэстрадиол; пероральные контрацептивы; контроль качества; сравнительный анализ

**Для цитирования:** Середенко ВИ, Королев АВ, Маслов ЛГ, Белова ТЮ, Долгушина НН. Сравнительный анализ требований к оценке качества лекарственных препаратов, содержащих этинилэстрадиол и левоноргестрел. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 61–65. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-61-65

\* **Контактное лицо:** Маслов Леонид Германович; maslov@expmed.ru

## Comparative Analysis of Requirements for Quality Control of Ethinyl Estradiol and Levonorgestrel Containing Medicinal Products

V. I. Seredenko, A. V. Korolev, \* L. G. Maslov, T. Yu. Belova, N. N. Dolgushina

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

**Abstract.** The article compares test methods and levels of requirements laid out in the world's leading pharmacopoeias and in manufacturers' specifications with regard to the quality of levonorgestrel and ethinyl estradiol containing medicinal products used as oral contraceptives. The study analysed medicines containing a combination of levonorgestrel and ethinyl estradiol (Vezantra, Melleva, Microgynon, Minisiston, Modelle Libera etc.) that were tested at the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of the Russian Federation as part of premarketing evaluation. The comparison of the obtained data revealed that the test methods recommended by foreign pharmacopoeias and manufacturers' specifications for quality control of medicines containing levonorgestrel and ethinyl estradiol are in line with the current trends in the pharmaceutical analysis and make it possible to adequately assess the quality of this group of medicines that are authorised in the Russian Federation. Manufacturers' specifications include additional parameters, such as «Related impurities», «Microbiological purity», and, in some cases, «Identification of colouring agents» (titanium dioxide, iron oxide), «Average weight», «Disintegration», «Water», and «Residual organic solvents». The study showed that the requirements included into manufacturers' specifications meet the requirements of the world's leading pharmacopoeias or even exceed them, as in the case of the «Assay» parameter.

**Key words:** levonorgestrel; ethinyl estradiol; oral contraceptives; quality control; comparative analysis

**For citation:** Seredenko VI, Korolev AV, Maslov LG, Belova TYu, Dolgushina NN. Comparative Analysis of Requirements for Quality Control of Ethinyl Estradiol and Levonorgestrel Containing Medicinal Products. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 61–65. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-61-65

\* **Contact person:** Maslov Leonid Germanovich; maslov@expmed.ru

Лекарственные препараты, содержащие в качестве действующих веществ левоноргестрел (химическое наименование по номенклатуре IUPAC — 17-гидрокси-18а-гомо-19-нор-17а-прегн-4-ен-20-ин-3-он) и этинилэстрадиол (химическое наименование по номенклатуре IUPAC — 19-нор-17а-прегна-1,3,5(10)-триен-20-ин-3,17-диол), относятся к комбинированным контрацептивным средствам (эстроген + гестаген) и применяются в качестве пероральных контрацептивов.

Ранее сотрудниками ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проведены исследования, целью которых в том числе была унификация метода количественного анализа комбинированных препаратов, содержащих этинилэстрадиол и ципротерона ацетат [1]. В результате проведенных исследований была разработана и валидирована методика ВЭЖХ, выполняемая в изократическом режиме элюирования, с детектированием при одной длине волны УФ-детектора, для одновременного определения содержания этинилэстрадиола и ципротерона ацетата в препарате Диане-35, пригодная для использования лабораториями, занимающимися выявлением фальсифицированных лекарственных средств (ЛС). Анализ данных научной литературы, посвященной контролю качества и изучению биоэквивалентности контрацептивных ЛС, содержащих этинилэстрадиол и левоноргестрел [2–4], показал, что метод ВЭЖХ, благодаря высокой специфичности и правильности, может успешно применяться для количественного определения этинилэстрадиола и левоноргестрела, перешедших в раствор при проведении теста «Растворение», выполняемого с целью оценки биоэквивалентности воспроизведенных препаратов референтным путем расчета коэффициента подобия и коэффициента различия кривых растворения.

В монографиях ведущих зарубежных фармакопей на препараты, содержащие этинилэстрадиол и левоноргестрел, описаны требования к их качеству. В действующей фармакопее Российской Федерации требования к оценке качества указанных препаратов отсутствуют. Оценка качества препаратов, содержащих этинилэстрадиол и левоноргестрел, осуществляют в соответствии с нормативной документацией производителей.

Цель работы — сравнительная оценка требований зарубежных фармакопей и нормативных документов производителей на лекарственные препараты, содержащие этинилэстрадиол и левоноргестрел, к их качеству.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ проводился с использованием препаратов, зарегистрированных в Российской Федерации и прошедших экспертизу качества в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России с 2009 по 2017 г. Контролировали качество образцов всех лекарственных препаратов, перечисленных в таблице 1. Анализировали препараты с различными дозировками действующих веществ левоноргестрела и этинилэстрадиола [5].

В процессе экспертизы качества ЛС использованы аналитические методы:

- ВЭЖХ на приборах Agilent 1100, 1200 с УФ-детектором с изменяемой длиной волны или с диодной матрицей, с флуориметрическим детектором;
- тонкослойной хроматографии (ТСХ) и денситометрии;
- газожидкостной хроматографии на приборе Agilent 7890А с пламенно-ионизационным детектором;

Таблица 1

### ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛ И ЭТИНИЛЭСТРАДИОЛ

Торговое наименование	Лекарственная форма	Дозировка действующего вещества, мг	
		левоноргестрел	этинилэстрадиол
Везантра	Таблетки, покрытые оболочкой	0,1	0,02
Меллева	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	0,1	0,02
Микрогинон	Таблетки, покрытые оболочкой	0,15	0,03
Минизистон	Таблетки, покрытые оболочкой	0,1	0,02
Модэлла либера	Набор таблеток, покрытых пленочной оболочкой	0,1 —	0,02 0,01
Оралкон	Таблетки, покрытые оболочкой	0,15	0,03
Ригевидон	Таблетки, покрытые оболочкой	0,15	0,03
Тригестрел	Таблетки, покрытые оболочкой	0,05 0,075 0,125	0,03 0,04 0,03
Триквилар	Таблетки, покрытые оболочкой	0,05 0,075 0,125	0,03 0,04 0,03
Три-Регол	Таблетки, покрытые оболочкой	0,05 0,075 0,125	0,03 0,04 0,03

- титрования воды методом К. Фишера с использованием автоматического титратора фирмы Metrohm.

Для приготовления растворов использовали весы аналитические Mettler Toledo, систему очистки воды Milli-Q Integral 5 фирмы Merck-Millipore.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все рассматриваемые лекарственные препараты выпускаются в виде твердых дозированных лекарственных форм — таблеток, покрытых пленочной оболочкой; таблеток, покрытых оболочкой.

Таблетки, содержащие в качестве действующих веществ левоноргестрел и этинилэстрадиол, описаны в Британской фармакопее [6], Фармакопее США [7], Международной фармакопее [8].

Международная фармакопея и Фармакопея США предусматривают также возможность контроля таблеток, не покрытых оболочкой.

Во всех препаратах определяются:

- «Описание» препарата (форма таблеток и вид поверхности таблеток, цвет оболочки, вид на поперечном разрезе);

- «Подлинность» действующих веществ, определяется методами ВЭЖХ по совпадению времен

удерживания пиков действующих веществ; тонкослойной хроматографии (ТСХ) по положению пятен; как правило, подлинность действующих веществ проверяют двумя методами: ВЭЖХ и ТСХ (для некоторых препаратов — ТСХ, включающая сравнение спектров эмиссии с помощью сканера), но для отдельных препаратов применение метода ТСХ не предусмотрено, а Фармакопея США рекомендует вместо ТСХ определять температуру плавления выделенного левоноргестрела (метод отличается высокой трудоемкостью и длительностью выполнения, поэтому в нормативной документации производителей не встречается); в трех препаратах, дополнительно к ВЭЖХ и ТСХ, применяют хиральную ВЭЖХ с целью проверки подлинности оптически активного изомера левоноргестрела (D-норгестрела) (табл. 2);

- «Растворение» на приборе «лопастная мешалка» (определение количества левоноргестрела и этинилэстрадиола, перешедших в раствор), в качестве среды растворения используются: вода, 0,01 М раствор хлористоводородной кислоты, вода с добавлением поверхностно-активных веществ (полисорбата 80); независимо от состава среды, достаточное извлечение действующих веществ происходит в течение 30–60 мин (нормы в различных нор-

Таблица 2

### ТРЕБОВАНИЯ ФАРМАКОПЕЙ И НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТАМ, СОДЕРЖАЩИМ ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛ И ЭТИНИЛЭСТРАДИОЛ

Наименование показателя, метод	Наименование фармакопеи			Наименование лекарственного препарата									
	Британская Фармакопея	Фармакопея США	Международная Фармакопея	Ригевидон	Три-регол	Триквилар	Модель Либера	Везантра	Оралкон	Тригестрел	Минизистон 20 фем	Микрогинон	Меллева
Подлинность, ВЭЖХ	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Подлинность, ТСХ	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–
Подлинность левоноргестрела, $t_{\text{плавления}}$	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Подлинность левоноргестрела, хиральная ВЭЖХ	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	+	+	–
Подлинность красителей: титана диоксида, железа оксида	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	+	+	–
Средняя масса	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+	–	–	+
Распадаемость	–	–	–	+	+	–	–	–	+	+	–	–	–
Растворение	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Родственные примеси	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Вода	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–
Остаточные органические растворители	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–
Количественное определение, ВЭЖХ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. «+» — показатель присутствует; «–» — показатель отсутствует.

мативных документах производителей разные по времени испытания и по степени высвобождения, но одинаковые для обоих действующих веществ; в Фармакопее США и Международной фармакопее допускается меньшая степень высвобождения для этинилэстрадиола по сравнению с левоноргестрелом — на 5 %; очень важно отметить, что для фильтрования испытуемого раствора необходимо использовать предварительно валидированные фильтры, то есть такие, для которых заранее доказано отсутствие значимого влияния на концентрацию определяемого вещества, так как действующие вещества способны адсорбироваться на фильтрах из некоторых материалов;

- «Однородность дозирования» (левоноргестрела и этинилэстрадиола) — норма в соответствии с фармакопейными требованиями:  $\pm 15\%$  от среднего содержания [6, 8], или коэффициент приемлемости AV не более 15 [7];

- «Количественное определение»: в нормативных документах производителей нормы содержания этинилэстрадиола и левоноргестрела колеблются в пределах от 90–110 до 95–105 % от заявленного количества, причем нормы подобраны так, чтобы нижний предел содержания был ниже результата вычитания предельно допустимой суммы примесей из 100 % по меньшей мере на 5 %; в фармакопеях [6–8] указана норма 90–110 % и, следовательно, требования ряда нормативных документов производителей по данному показателю превосходят уровень требований ведущих зарубежных фармакопей; как и «Однородность дозирования», данный показатель определяется только методом ВЭЖХ, на колонках с привитой фазой C18 (очень редко — C8 [7]);

- «Родственные примеси»: методом ВЭЖХ на колонках с привитой фазой C18 (очень редко — фенилгексильной фазой) в градиентном режиме определяются как идентифицированные, так и неидентифицированные примеси действующих веществ. Идентификация примесей этинилэстрадиола проводится как по стандартным образцам (СО) примесей (везантра, микрогинон, минизистон 20 фем, модэлла либера, оралкон, тригестрел, триквилар, три-регол — предусмотрен СО одной примеси; меллева — двух примесей этинилэстрадиола), так и по их относительным временам удерживания (везантра, меллева, микрогинон, минизистон 20 фем, модэлла либера, оралкон, тригестрел, триквилар); детектируют примеси по флуоресценции и по поглощению в УФ-свете; идентификация примесей левоноргестрела проводится как по СО примесей (меллева, оралкон, тригестрел — предусмотрен СО одной примеси, три-регол — двух примесей левоноргестрела), так и по их относительным временам удерживания (везантра, меллева, модэлла либера, оралкон, тригестрел, триквилар); детектируют примеси по поглощению в УФ-свете; набор идентифицируемых примесей различен для препаратов разных производителей; неидентифицируемые примеси, детектируемые и в условиях детекции примесей этинилэстрадиола (например, по поглощению при длине волны 220 нм), и в условиях детекции

примесей левоноргестрела (например, по поглощению при длине волны 240 нм), относят к примесям того действующего вещества, для которого процентное содержание примеси будет больше (наихудший случай); суммарное содержание примесей каждого действующего вещества нормируется на уровне, не превышающем 5 %;

- «Микробиологическая чистота» в соответствии с требованиями фармакопей (Государственной фармакопей Российской Федерации XII изд. [9], Государственной фармакопей Российской Федерации XIII изд. [10], Европейской фармакопей [11]) для препаратов для внутреннего применения.

Для препаратов триквилар, минизистон 20 фем, микрогинон определяется показатель «Подлинность» красителей (титана диоксида, железа оксида), качественными реакциями; ригевидон, трирегол, оралкон, тригестрел — «Распадаемость», определение проводится с использованием дисков; ригевидон, три-регол, везантра, оралкон, тригестрел, меллева — «Средняя масса» — норма в зависимости от состава препарата и номинальной массы таблетки.

Для препаратов везантра, оралкон, тригестрел, представляющих собой таблетки, покрытые оболочкой, определяется содержание остаточного органического растворителя — изопропанола; для препаратов везантра, модэлла либера — содержание воды методом К. Фишера.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы контроля качества препаратов, содержащих левоноргестрел и этинилэстрадиол, приведенные в зарубежных фармакопеях и нормативных документах производителей, соответствуют современному уровню развития фармацевтического анализа и позволяют в полной мере оценить качество образцов лекарственных препаратов, зарегистрированных в Российской Федерации. Требования нормативных документов производителей соответствуют или превосходят уровень ведущих зарубежных фармакопей по показателю «Количественное определение» и дополнительно включают требования по показателям «Родственные примеси», «Микробиологическая чистота», а в отдельных случаях — «Подлинность красителей» (титана диоксида, железа оксида), «Средняя масса», «Распадаемость», «Вода», «Остаточные органические растворители».

*Авторы не заявили о конфликте интересов*  
*The authors did not declare a conflict of interest*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Денисова ТА, Нечаева ЕБ, Садчикова НП. Определение содержания этинилэстрадиола и ципротерона ацетата в комбинированном препарате методом ВЭЖХ. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013; (4): 4–7. [Denisova TA, Nechaeva EB, Sadchikova NP. Determination of the Content of Ethinyl Estradiol and Cyproterone Acetate in a Combined Preparation by HPLC. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013; (4): 4–7 (In Russ.)]
2. Денисова ТА, Садчикова НП. Исследование высвобождения и однородности дозирования этинилэстрадиола и левоноргестрела из таблетированных форм гормональных контрацептивных

- средств. Проблемы репродукции 2010; (3): 117–24. [Denisova TA, Sadchikova NP. Study of the Release and Homogeneity of Dosing of Ethinylestradiol and Levonorgestrel from Tableted Forms of Hormonal Contraceptives. Reproduction Problems 2010; (3): 117–24 (In Russ.)]
- Денисова ТА, Чистяков ВВ, Садчикова НП. Количественное определение компонентов комбинированных гормональных контрацептивных средств методом ВЭЖХ. Химико-фармацевтический журнал 2008; 42(5): 40–2. [Denisova TA, Chistyakov VV, Sadchikova NP. Quantitative HPLC Determination of the Components of Combined Oral Contraceptives. Pharmaceutical Chemistry Journal 2008; 42(5): 40–2 (In Russ.)]
  - Денисова ТА, Садчикова НП, Нечаева ЕБ. Сравнительная оценка высвобождения этинилэстрадиола и левоноргестрела из таблетированных форм. Вестник Воронежского государственного университета 2008; (1): 131–5. [Denisova TA, Sadchikova NP, Nechaeva EB. Comparative Evaluation of the Release of Ethinyl Estradiol and Levonorgestrel from Tableted Forms. The Bulletin of Voronezh State University 2008; (1): 131–5 (In Russ.)].
  - Государственный реестр лекарственных средств. Тригестрел, РУ ЛСР-008559/10 от 23.08.2010, номер решения 20-3-4048825/ИД/ИЗМ-Б7 от 23.08.2017. [State Register of medicinal products. Trigestrel, RU LSR-008559/10 of 23.08.2010, No. 20-3-4048825/ID/IZM-B7 of 23.08.2017 (In Russ.)] Available from: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=19276a32-59a3-4e41-a0a9-6138673aab8f&t=b2cccc4c-d81f-4e5d-abce-a2df5970034a](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=19276a32-59a3-4e41-a0a9-6138673aab8f&t=b2cccc4c-d81f-4e5d-abce-a2df5970034a)
  - British Pharmacopoeia 2016. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com/downloads/bp/2016/>
  - United States Pharmacopoeia. 39th ed. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>
  - The International Pharmacopoeia. 4th ed. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>
  - Государственная фармакопея Российской Федерации. XII изд. Ч. 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения; 2008. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 12th ed. Part I. Moscow: Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products; 2008 (In Russ.)]
  - Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1. Moscow; 2015. (In Russ.)] Available from: <http://www.femb.ru/feml>
  - European Pharmacopoeia. 8th ed. Available from: <http://online.edqm.eu/EN/entry.htm>

### ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

*Середенко Вера Ивановна.* Начальник лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук

*Королев Андрей Викторович.* Главный эксперт лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

*Маслов Леонид Германович.* Главный эксперт лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

*Белова Татьяна Юрьевна.* Эксперт 1-й категории лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

*Долгушина Надежда Николаевна.* Эксперт 1-й категории лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Статья поступила 17.05.2017  
Article was received 17 May 2017

### AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

*Vera I. Seredenko.* Head of the Laboratory of Vitamins, Hormones and Synthetic Analogues of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Chemical Sciences

*Andrey V. Korolev.* Chief Expert of the Laboratory of Vitamins, Hormones and Synthetic Analogues of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

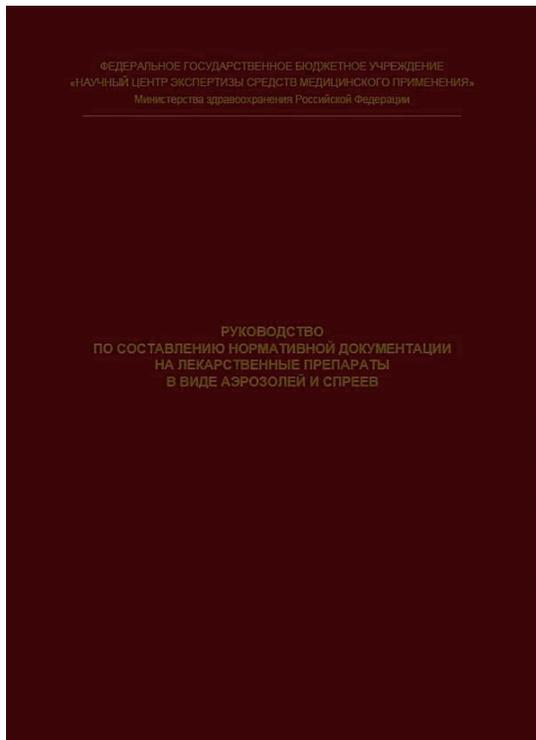
*Leonid G. Maslov.* Chief Expert of the Laboratory of Vitamins, Hormones and Synthetic Analogues of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

*Tatiana Yu. Belova.* 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Vitamins, Hormones and Synthetic Analogues of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

*Nadezhda N. Dolgushina.* 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Vitamins, Hormones and Synthetic Analogues of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Принята к печати 14.02.2018  
Accepted for publication 14 February 2018

## ОПУБЛИКОВАННЫЕ ИЗДАНИЯ ФГБУ «НЦЭСМП» МИНЗДРАВА РОССИИ



**Руководство по составлению нормативной документации на лекарственные препараты в виде аэрозолей и спреев. — М.: ООО «Типография «Миттель Пресс», 2017. — 76 с.**

Целью разработки настоящего руководства является совершенствование подходов к стандартизации препаратов в лекарственных формах «Спреи» и «Аэрозоли», повышение требований к их качеству, унификация изложения разделов нормативной документации на отечественные и зарубежные лекарственные средства.

В руководстве приведены общие требования к аэрозолям для ингаляции.

**Руководство по составлению нормативной документации на препараты в лекарственных формах для парентерального применения. — М.: ООО «Типография «Миттель Пресс», 2017. — 88 с.**

Настоящее руководство устанавливает общие требования к составлению, изложению и оформлению нормативной документации на препараты в жидких и твердых лекарственных формах для парентерального применения.

Руководство предназначено для экспертов, осуществляющих экспертизу качества лекарственных средств в рамках государственной регистрации, а также для специалистов, занятых в области производства и регистрации лекарственных средств.



Информацию о порядке приобретения можно получить по телефонам:  
+7 (499) 241-90-73, +7 (499) 241-36-85  
или на официальном сайте ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [www.regmed.ru](http://www.regmed.ru)



**Оформить подписку на журнал  
можно в любом почтовом отделении России.**

Подписной индекс издания:  
в каталоге Агентства «Роспечать»  
**«Газеты. Журналы» — 25122**

С любого номера  
в региональных агентствах подписки:  
**Урал-Пресс ([www.ural-press.ru](http://www.ural-press.ru))**  
**Информнаука ([www.informnauka.ru](http://www.informnauka.ru))**

По объединенному каталогу  
**«Пресса России» ([www.pressa-rf.ru](http://www.pressa-rf.ru)) — Ц10586**

