

Volume 9, No. 2 2019

ISSN 1991-2919 (Print)

ISSN 2619-1172 (Online)

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

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

www.vedomostincesmp.ru

Том 9, № 2 2019

Архив журнала размещен в российских и международных реферативных и индексных базах данных: «Российский индекс цитирования» (РИНЦ), «КиберЛенинка», «Соционет», Российской государственной библиотеке, Академии Google (Google Scholar), BASE (Bielefeld Academic Search Engine), Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, WorldCat.

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ — 0,429 (без самоцитирования).

К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала 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.

Материалы заочных конференций не публикуются.

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в **2005** году

Главный редактор доктор медицинских наук Ю. В. Олефир

Москва

«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: 14.01.00 Клиническая медицина, 14.03.00 Медико-биологические науки, 14.04.00 Фармация.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Олефир Юрий Витальевич, д-р мед. наук, старший научный сотрудник,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Романов Борис Константинович, д-р мед. наук, доцент,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Аляутдин Ренат Николаевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Дурнев Андрей Дмитриевич, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., НИИ фармакологии им. В. В. Закусова (Москва, Россия)

Иванов Максим Борисович, д-р мед. наук, Институт токсикологии (Санкт-Петербург, Россия)

Киселева Нина Михайловна, д-р биол. наук, проф., РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук, НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (Ленинградская область, Россия)

Прокофьев Алексей Борисович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Прокофьева Вера Ивановна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Пятигорская Наталья Валерьевна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Саканян Елена Ивановна, д-р фарм. наук, проф. (Москва, Россия)

Сюбаев Рашид Даутович, д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., РМАНПО (Москва, Россия)

Титова Анна Васильевна, д-р фарм. наук, ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (Москва, Россия)

Ягудина Роза Исмаиловна, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Якушева Елена Николаевна, д-р мед. наук, проф., РязГМУ (Рязань, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Алешкин Владимир Андрианович, д-р биол. наук, проф., МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (Москва, Россия)

Бобизода ГуломкоDIR Мукамал, д-р биол. наук, д-р фарм. наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе, Таджикистан)

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Звартау Эдвин Эдуардович, д-р мед. наук, проф., Первый СПбГМУ им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия)

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Лепяхин Владимир Константинович, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Муляр Александр Георгиевич, д-р мед. наук, проф., МГМСУ им. А. И. Евдокимова (Москва, Россия)

Петров Владимир Иванович, академик РАН, д-р мед. наук, проф., ВолгГМУ (Волгоград, Россия)

Хохлов Александр Леонидович, д-р мед. наук, проф., ЯГМУ (Ярославль, Россия)

Шимановский Николай Львович, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., РНИМУ им. Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Яворский Александр Николаевич, д-р мед. наук, проф., ПушГЕНИ (Пушино, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

Корсун Лилия Владимировна, канд. биол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКТОР:

Калиничев Сергей Анатольевич, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

Молчан Нина Валерьевна, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Хрушева Мария Леонидовна, канд. хим. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКТОР ПЕРЕВОДА:

Губарева Ольга Николаевна, канд. филол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, 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 of medicines, control and licensing 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: 14.01.00 Clinical Medicine, 14.03.00 Medico-Biological Sciences, 14.04.00 Pharmacy.

EDITOR-IN-CHIEF:

Yuri V. Olefir, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate,
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:

Boris K. Romanov, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD:

Renad N. Alyautdin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Andrey D. Durnev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Zakusov Institute of Pharmacology (Moscow, Russia)

Maxim B. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Institute of Toxicology (Saint Petersburg, Russia)

Nina M. Kiseleva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY» (Leningrad Oblast, Russia)

Alexey B. Prokofiev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vera I. Prokofieva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Natalia V. Pyatigorskaya, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Elena I. Sakanyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof. (Moscow, Russia)

Rashid D. Syubaev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry A. Sychev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

Anna V. Titova, Dr. Sci. (Pharm.), Information and Methodological Center for Expertise, Accounting and Analysis of the Circulation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Roza I. Yagudina, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Elena N. Yakusheva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Ryazan State Medical University (Ryazan, Russia)

EDITORIAL COUNCIL:

Vladimir A. Aleshkin, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology (Moscow, Russia)

Gulomkodir M. Bobizoda, Dr. Sci. (Biol.), Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Ayni Tajik State Pedagogical University (Dushanbe, Tajikistan)

Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Edwin E. Zvartau, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vladimir K. Lepakhin, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Alexander G. Mulyar, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

Vladimir I. Petrov, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

Alexander L. Khokhlov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia)

Nikolay L. Shimanovsky, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Alexander N. Yavorsky, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia)

EXECUTIVE EDITOR:

Lilia V. Korsun, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITOR:

Sergey A. Kalinichev, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

SCIENCE EDITORS:

Nina V. Molchan, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Maria L. Khrushcheva, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

TRANSLATION EDITOR:

Olga N. Gubareva, Cand. Sci. (Philology), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 9, № 2 2019

ОБЗОРЫ

Н. П. Рукавицына, Е. И. Саканян, О. В. Евдокимова

Разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения 72

Д. В. Горячев, Н. Е. Уварова

Обоснование возможности проведения исследований терапевтической эквивалентности 79

Т. А. Батуашвили, Л. В. Симутенко, П. В. Шадрин, Н. П. Неугодова

Современные подходы к определению биологической активности инсулина и его аналогов 85

О. Б. Талибов

Сравнительные исследования аналогов биотехнологических лекарственных препаратов 93

В. В. Архипов, Е. А. Сокова, Г. И. Городецкая, О. А. Демидова, Т. В. Александрова

Новые антиконвульсанты: проблемы взаимозаменяемости и применения
воспроизведенных лекарственных препаратов в клинической практике 101

Л. И. Митькина, А. К. Еричева

Современные требования к информационному и графическому сопровождению
потребительской упаковки лекарственных препаратов 108

Д. П. Андреев, А. В. Козлов, С. С. Андреев, И. Г. Раков

Опыт практического использования автоматизированной информационной системы
«Документооборот поставок научно-технической продукции» 118

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

А. Н. Иоутси, М. А. Сумцов, Д. А. Артюшенко, Д. В. Быченков, А. Н. Блинов

Возможность применения капиллярной газожидкостной хроматографии
в фармацевтическом анализе при определении парабинов 123

В. В. Писарев, М. М. Уляшова, Г. Н. Гильдеева

Валидация иммуноферментной тест-системы
для доклинических исследований фармакокинетики ритуксимаба 131

ИНФОРМАЦИЯ

Научное издание международного уровня — 2019 140

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

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Научный центр экспертизы средств меди-
цинского применения» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Адрес редакции: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

E-mail: vedomosti@expmed.ru

Тел.: +7 (495) 625-43-48, доб. 63-33, 63-34, 63-41

Сайт: www.vedomostinccsmp.ru

Издатель: ООО «НЭИКОН ИСП»

Юридический адрес: 115114, Москва,
ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4

Тел./факс: +7 (499) 754-99-94

E-mail: isupport@neicon.ru

Сайт: https://neicon.ru/

Подписано в печать: 24.05.2019

Формат 60×90/8. Печ. л. 9,25

Бумага мелованная. Печать офсетная

VEDOMOSTI NAUCHNOGO TSENTRA EKSPERTIZY SREDSTV MEDITSINSKOGO PRIMENENIYA

[The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products]

CONTENTS

Volume 9, No. 2 2019

REVIEWS

- N. P. Rukavitsyna, E. I. Sakanyan, O. V. Evdokimova**
Development of a New Dosage Form of Herbal Medicinal Products 72
- D. V. Goryachev, N. E. Uvarova**
Assessment of the Feasibility of Therapeutic Equivalence Studies 79
- T. A. Batuashevili, L. V. Simutenko, P. V. Shadrin, N. P. Neugodova**
Modern Approaches to Determination of the Biological Activity of Insulin and its Analogues 85
- O. B. Talibov**
Comparative Studies of Biosimilar Medicinal Products 93
- V. V. Arkhipov, E. A. Sokova, G. I. Gorodetskaya, O. A. Demidova, T. V. Aleksandrova**
New Anticonvulsants: Interchangeability Issues and the Use of Generic Anticonvulsants in Clinical Practice . . . 101
- L. I. Mit'kina, A. K. Elicheva**
Current Requirements for Information Content and Graphic Design of a Medicinal Product Package. 108
- D. P. Andreev, A. V. Kozlovich, S. S. Andreev, I. G. Rakov**
Experience of Practical Application of the Automated Information System
«Document Management of Scientific and Technical Product Deliveries» 118

ORIGINAL ARTICLES

- A. N. Ioutsi, M. A. Sumtsov, D. A. Artyushenko, D. V. Bychenkov, A. N. Blinov**
Applicability of Capillary Gas-Liquid Chromatography
for Determination of Parabens in Pharmaceutical Analysis 123
- V. V. Pisarev, M. M. Ulyashova, G. N. Gildeeva**
Validation of Enzyme Immunoassay for Preclinical Pharmacokinetic Trials of Rituximab 131

INFORMATION

- Scientific Publication of International Standing — 2019 140

Mass media registration certificate: PI No. FS77-53169 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 Blvd, Moscow 127051
E-mail: vedomosti@expmed.ru
Tel.: +7 (495) 625-43-48, ext. 63-33, 63-34, 63-41
Website: www.vedomostinccsmp.ru

Publisher: «NEICON ISP» LLC
Registered office: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow
115114, Russian Federation
Tel./fax: +7 (499) 754-99-94
E-mail: isupport@neicon.ru
Website: https://neicon.ru/

Passed for printing: May 24, 2019
Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 9,25
Enamel-paper. Offset printing



Разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения

Н.П. Рукавицына, Е.И. Саканян, О.В. Евдокимова*

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

Резюме. Лекарственная форма «Гранулы резано-прессованные» разрабатывалась для улучшения технологических свойств измельченного и порошкового лекарственного растительного сырья (ЛРС), чтобы компенсировать его недостаточную сыпучесть, облегчить возможность дозирования, снизить загрязнение производственного оборудования пылью и загрязнение водных вытяжек балластными веществами. На основании проведенного информационно-аналитического исследования была выбрана наиболее оптимальная технология получения гранул резано-прессованных для некоторых видов ЛРС (Шиповника плодов, Толокнянки обыкновенной листьев, Чабреца травы, Мелиссы лекарственной травы, Душицы обыкновенной травы, Пустырника травы, Ромашки аптечной цветков). Проведена стандартизация новой лекарственной формы, разработан перечень показателей качества, методы испытаний и нормативные требования к качеству лекарственных препаратов, учитывающие технологические особенности новой лекарственной формы. Гранулы резано-прессованные не следует производить из содержащего эфирные масла и кумарины ЛРС, так как установлено, что количественное содержание этих соединений может снижаться в процессе влажной грануляции. Для определения возможности получения гранул резано-прессованных из конкретного вида сырья необходимо проведение сравнительных экспериментальных исследований, подтверждающих, что качество водных извлечений, полученных из порошкового ЛРС в форме выпуска фильтр-пакеты, не отличается от настоев или отваров, полученных из гранул резано-прессованных в той же форме выпуска. Материалы проведенного исследования использованы при составлении ОФС.1.4.1.0022.15 «Гранулы резано-прессованные». В зарубежных фармакопеях подобная лекарственная форма не представлена.

Ключевые слова: лекарственные средства растительного происхождения; гранулы резано-прессованные; лекарственное растительное сырье; новая лекарственная форма; общая фармакопейная статья; показатели качества

Для цитирования: Рукавицына Н.П., Саканян Е.И., Евдокимова О.В. Разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):72–78. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-72-78>

***Контактное лицо:** Евдокимова Ольга Владимировна; evdokimovaov@expmed.ru

Development of a New Dosage Form of Herbal Medicinal Products

N.P. Rukavitsyna, E.I. Sakanyan, O.V. Evdokimova*

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The «cut-and-pressed granules» dosage form was developed to improve the technological properties of cut and powdered herbal substances in order to compensate for their insufficient flowability, as well as to facilitate dosing, reduce the contamination of the production equipment with dust and contamination of water extracts with dietary fibers. Based on the results of the information research the authors chose an optimal technology for the production of cut-and-pressed granules from some types of herbal substances (Rose hips, Bearberry leaf, Thyme herb, Melissa herb, Oregano herb, Motherwort grass, Matricaria flower). The authors standardised the new dosage form, developed the list of test parameters, test methods, and regulatory requirements for the quality of medicinal products based on the technological features of the new dosage form. Cut-and-pressed granules should not be produced from herbal substances that contain essential oils and coumarins, as it was demonstrated that the content of these compounds may decrease in the process of wet granulation. To determine whether it is possible to produce cut-and-pressed granules from a particular type of raw material, it is necessary to conduct comparative experimental studies confirming that the quality of aqueous extracts obtained from powdered herbal substances in sachets is comparable to that of tinctures or decoctions obtained from cut-and-pressed granules packed in sachets. The materials of the study were used to draft the general chapter OFS.1.4.1.0022.15 «Cut-and-pressed granules». This dosage form is not described in any foreign pharmacopoeias.

Key words: herbal medicinal products; cut-and-pressed granules; herbal substances; new dosage form; general chapter; test parameters

For citation: Rukavitsyna NP, Sakanyan EI, Evdokimova OV. Development of a new dosage form of herbal medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):72–78. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-72-78>

***Corresponding author:** Olga V. Evdokimova; evdokimovaov@expmed.ru

Расширение стратегических задач развития отечественной фармацевтической промышленности предполагает насыщение отечественного фармацевтического рынка качественными, эффективными и безопасными лекарственными средствами (ЛС) собственного производства. Наряду с разработкой и внедрением в медицинскую практику различных лекарственных препаратов (ЛП) синтетического и биологического происхождения рынок ЛС растительного происхождения также претерпевает позитивные изменения в плане его расширения. Это обусловлено различными причинами, включая безопасность их применения, особенно в лечении заболеваний хронического характера, а также относительную дешевизну и доступность [1].

Эффективность и безопасность производимых ЛП как синтетического происхождения, так и на основе растительного сырья обеспечивается качеством исходных субстанций и соблюдением требований, предъявляемых к лекарственной форме, в которой они выпускаются. В настоящее время фармацевтические субстанции растительного происхождения, используемые для получения ЛП на их основе, подвергаются предварительной обработке и могут быть представлены как в виде цельного, так и измельченного или порошкового лекарственного растительного сырья (ЛРС). Лекарственные формы (ЛФ), в которых используются ЛС растительного происхождения, не отличаются большим разнообразием и являются традиционными. К числу наиболее востребованных и распространенных ЛФ следует отнести настои и отвары, а также сборы. В целом на отечественном фармацевтическом рынке представлены ЛС растительного происхождения в виде как минимум сорока трех ЛФ. На практике используются всего лишь некоторые из них [2], что является основанием для проведения комплексных исследований по расширению ассортимента ЛФ, перспективных для разработки ЛС растительного происхождения (табл. 1).

Как отмечалось выше, одними из наиболее распространенных и популярных экстемпоральных ЛФ являются настои и отвары. Максимальный выход биологически активных веществ (БАВ) в водные извлечения достигается при соблюдении ряда факторов, влияющих на процесс экстрагирования. К числу наиболее значимых относятся температурный режим экстрагирования, время экстрагирования, измельченность экстрагируемого материала, гидромодуль и т. п.

В случае излишне крупных частиц ЛРП достичь требуемого выхода БАВ будет невозможно, а при излишнем измельчении наблюдается существенное загрязнение водных вытяжек как балластными веществами, так и обрывками растительных тканей. Кроме того, измельченному

и порошкованному сырью присущи низкие технологические свойства, например плохая сыпучесть сырья, которая может затруднить его дозирование, особенно при работе на современных производственных линиях. Поэтому для технологического обеспечения производства большинства видов ЛРП из порошкового ЛРС, отпускаемых, в частности, в виде фильтр-пакетов, необходимо проведение его специальной предварительной обработки [3–5].

Данные аспекты привели к необходимости разработки новой, не имеющей аналогов в мире ЛФ — гранулы резано-прессованные (ГРП), которая должна улучшить технологические характеристики ЛРП, отпускаемых в фильтр-пакетах.

Цель работы — разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения и ее стандартизация.

Для достижения поставленной цели было необходимо разработать технологию получения гранул резано-прессованных, разработать перечень показателей качества, методы испытаний и нормативные требования к качеству лекарственных препаратов, представленных в виде ЛФ «Гранулы резано-прессованные».

В качестве объектов исследования были использованы образцы ЛП в виде гранул резано-прессованных: Шиповника плодов (*Rosae fructus*); Толокнянки обыкновенной листьев (*Uvae ursi folia*); Чабреца травы (*Thymi serpylli herba*); Мелиссы лекарственной травы (*Melissae officinalis herba*); Душцы обыкновенной травы (*Origani vulgaris herba*); Пустырника травы (*Leonuri herba*); Ромашки аптечной цветков (*Chamomillae recutita flores*).

Гранулы резано-прессованные были получены в процессе грануляции, часто используемой в технологии твердых ЛФ и способствующей улучшению технологических свойств смесей. В настоящее время в фармацевтической практике используются различные способы грануляции: влажная, сухая или брикетирование, структурная и др.

Информационно-аналитическое исследование различных технологий гранулирования позволило установить, что наиболее оптимальной для производства гранул растительных является влажная грануляция. Она заключается в увлажнении порошка ЛРС водяным паром при определенном давлении и получении гранул методом прямой грануляции с последующей стадией приведения их к требуемому размеру. Следует отметить, что никакие дополнительные вспомогательные вещества, за исключением водяного пара, при производстве этих гранул не используются. Исходное ЛРС должно соответствовать требованиям фармакопейной статьи (ФС) и/или нормативной документации (НД) [3, 5].

Таблица 1. Лекарственные формы и лекарственные средства растительного происхождения, описанные в отечественных и зарубежных фармакопеях [2]**Table 1.** Herbal medicinal products and dosage forms described in the Russian and foreign pharmacopoeias [2]

Наименование ЛФ и ЛС растительного происхождения Herbal medicinal products and dosage forms	Фармакопея Pharmacopoeia							
	ГФ X	ГФ XI	ГФ XIII	ГФ РБ	USP	Ph. Eur.	BP	ГФ РК
ЛРС цельное фасованное Packed whole herbal substances	—	—	—	+	—	—	—	—
ЛРС измельченное фасованное Packed fragmented herbal substances	—	—	—	+	—	—	—	—
Сборы / Medicinal herbs mixtures	+	+	+	+	—	—	—	—
Растительные чаи / Herbal teas	—	—	—	+	—	+	+	+
Настои и отвары / Infusions and decoctions	+	+	+	+	—	—	—	+
Экстракты / Extracts	+	+	+	+	+	+	+	+
Смолы / Resins	—	—	—	+	—	+	+	—
Настойки / Tinctures	+	+	+	+	+	+	+	+
Эликсиры / Elixirs	—	—	—	+	+	—	—	—
Медицинские вина / Medicinal wines	—	—	—	—	—	—	—	+
Эфирные масла / Essential oils	+	—	+	—	—	+	+	—
Ароматные воды / Aromatic waters	—	—	—	—	+	—	+	+
Растительные жирные масла / Herbal fatty oils	+	—	+	+	+	+	+	—
Подготовленное ЛРС Processed herbal substances	—	—	—	—	—	—	+	+
Гранулы резано-прессованные Cut-and-pressed granules	—	—	+	—	—	—	—	—

Примечание. ГФ X — Государственная фармакопея СССР X изд.; ГФ XI — Государственная фармакопея СССР XI изд.; ГФ XIII — Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд.; ГФ РБ — Государственная фармакопея Республики Беларусь I изд., 2009; USP — Фармакопея США 29-NF 24; Ph. Eur. — Европейская фармакопея, 9th ed.; BP — Британская фармакопея, 2014; ГФ РК — Государственная фармакопея Республики Казахстан I изд., 2014; ЛФ — лекарственная форма; ЛС — лекарственное средство; ЛРС — лекарственное растительное сырье; знак «—» — ЛФ или ЛС не описано в данной фармакопее.

Note. ГФ X — State Pharmacopoeia of the USSR, X ed.; ГФ XI — State Pharmacopoeia of the USSR, XI ed.; ГФ XIII — State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII ed.; ГФ РБ — State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, I ed., 2009; USP — United States Pharmacopoeia 29-NF 24; Ph. Eur. — European Pharmacopoeia, 9th ed.; BP — British Pharmacopoeia, 2014; ГФ РК — State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan, I ed., 2014; «—» — the dosage form or medicinal product is not described in the pharmacopoeia.

Однако для производства ГРП могут использоваться только те виды ЛРС, в которых не снижается качественное и количественное содержание активных соединений в процессе гранулирования. Гранулы резано-прессованные не следует производить из ЛРС, для которого основными группами БАВ являются эфирные масла, кумарины и ряд других соединений, так как процесс его получения может влиять на содержание перечисленных соединений. В каждом конкретном случае целесообразность использования гранулирования для того или иного вида ЛРС определяется индивидуально, путем проведения экспериментальных исследований. Эти исследования должны показать, что качество водных извлечений, полученных из ЛРС в виде порошка, фасованного в фильтр-пакеты, не отличается от настоев

или отваров, полученных из ГРП, также фасуемых в фильтр-пакеты¹.

Для введения в практику отечественного фармацевтического производства были определены показатели качества ЛФ «Гранулы резано-прессованные», а также подготовлена общая фармакопейная статья (ОФС) на эту ЛФ. В этой ОФС приведено определение ЛФ и перечислены особенности технологии ее получения, а также приведен перечень показателей качества, методы и методики испытаний, определены нормируемые значения показателей качества с учетом особенностей ЛРС [6]. Сравнение перечня показателей качества для лекарственных растительных препаратов в однодозовых упаковках (фильтр-пакетах) и гранул резано-прессованных в той же форме выпуска представлено в таблице 2.

¹ ОФС.1.4.1.0022.15 Гранулы резано-прессованные. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Таблица 2. Сравнение показателей качества лекарственных растительных препаратов и гранул резано-прессованных в однократных упаковках

Table 2. Comparison of test parameters of herbal medicinal products and cut-and-pressed granules in single unit packages

Показатели качества Test parameters	ЛРП (фильтр-пакеты) Herbal medicinal products (sachets)	Гранулы резано-прессованные (фильтр-пакеты) Cut-and-pressed granules (sachets)
Описание / Characters	—	+
Подлинность (внешние признаки, микроскопические признаки, определение основных групп биологически активных веществ) Identification (appearance, microscopic characters, determination of biologically active substances)	+	+
Измельченность Degree of fineness	+(цельное, измельченное — размер частиц не более 7; 5 или 3 мм, порошок — размер частиц не более 2 мм) (whole, cut — particle size no greater than 7; 5 or 3 mm, powder — particle size no greater than 2 mm)	—
Размер гранул Granule size	—	+(в настоящее время выпускаются гранулы, размер которых не более 2 мм) (at present the size of produced granules does not exceed 2 mm)
Влажность / Потеря в массе при высушивании Moisture / Loss on drying	+	+
Распадаемость / Disintegration	—	+
Зола общая / Total ash	+	+
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте Ash insoluble in hydrochloric acid	+	+
Органическая примесь / Organic impurity	+	—
Минеральная примесь / Mineral impurity	+	—
Зараженность вредителями запасов Pest contamination	+	+
Тяжелые металлы / Heavy metals	+	+
Радионуклиды / Radionuclides	+	+
Остаточные количества пестицидов Pesticide residues	+	+
Микробиологическая чистота Microbial quality	+	+
Количественное определение / Assay	+	+
Упаковка, маркировка и транспортирование Packaging, labelling and transportation	+	—
Масса содержимого упаковки Minimum fill	+	+
Упаковка / Packaging	+	+
Маркировка / Labelling	+	+
Транспортирование / Transportation	+	+

Примечание. ЛРП — лекарственные растительные препараты; знак «—» — показатель отсутствует в общей фармакопейной статье.

Note. «—» — the test parameter is not described in the general chapter.

Гранулы резано-прессованные — ЛФ, представляющая собой кусочки цилиндрической, округлой или неправильной формы, полученные из прессованного ЛРС и предназначенные для получения водных извлечений [7].

Следует отметить, что ОФС «Гранулы резано-прессованные» сочетает показатели, характерные как для ЛФ, так и для фармацевтических субстанций растительного происхождения. Для ГРП как ЛФ был установлен перечень показателей:

1. Описание. Раздел содержит описание формы, цвета, запаха гранул, вкуса водного извлечения (за исключением препаратов, произведенных из ЛРС, содержащего ядовитые и сильнодействующие вещества).

2. Размер гранул. В случае отсутствия указаний в ФС и/или НД для гранул резано-прессованных установлены общие требования для их размеров по верхнему и нижнему ситам [5]. Для определения этого показателя рекомендован метод ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» [7].

3. Потеря в массе при высушивании. Наличие этого показателя обусловлено спецификой ЛФ, так как содержание гигроскопической влаги влияет не только на сумму фармакологически активных соединений в ЛРП, но и на другие характеристики ЛП. Технология получения ЛП в данной ЛФ предусматривает определение потери в массе при высушивании, а не содержание влаги. Нормативные требования должны быть приведены в ФС и/или НД.

4. Распадаемость. В отличие от методики для определения распадаемости гранул, содержащих субстанции синтетического происхождения, для гранул резано-прессованных была предложена модифицированная методика. Суть этой методики заключается в следующем: 10–12 гранул переносят в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды, нагретой до кипения, кипятят на слабом огне, периодически взбалтывая содержимое колбы. Если гранулы полностью распались или превратились в рыхлую массу, они считаются распавшимися (под рыхлой массой понимают также рыхлые гранулы, распадающиеся от прикосновения стеклянной палочкой). Время распадаемости определяют с момента прибавления кипящей воды. Рассчитывают среднее значение из трех определений.

Анализ результатов экспериментальных исследований позволил определить нормируемое время, которое не должно превышать 5 мин.

5. Масса содержимого упаковки. Определение этого показателя проводят в соответствии с методикой, приведенной в ОФС.1.1.0001.15 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [7].

6. Упаковка. Требования этого показателя для ГРП регламентированы ОФС.1.4.1.0001.15 «Лекарственные формы» [7].

7. Маркировка. Требования этого показателя для ГРП регламентированы ОФС.1.4.1.0001.15 «Лекарственные формы» [7].

8. Хранение. Хранят ЛРП в данной ЛФ согласно требованиям ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [7] с учетом свойств входящих в их состав БАВ.

Для гранул резано-прессованных не могут быть применимы такие показатели, как «Растворение» и «Однородность дозирования», так как объективно оценить эти показатели не представляется возможным из-за специфики БАВ исходного сырья.

Помимо показателей качества, характеризующих ЛФ, был установлен перечень показателей, характеризующих фармацевтическую субстанцию растительного происхождения (табл. 2), используемую для получения ЛП в ЛФ «Гранулы резано-прессованные». К их числу относятся:

1. Подлинность. Так как процесс прессования не влияет на характерные микроскопические признаки сырья, позволяющие установить его подлинность [8, 9], то для определения подлинности препаратов в форме гранул резано-прессованных используется тот же комплекс методов определения анатомо-диагностических признаков, что и для исходного сырья. Микроскопические исследования следует сопровождать иллюстрациями в виде фотографий или рисунков.

Кроме микрораспознавания необходимо приводить данные фитохимических исследований для определения присутствия групп БАВ, отвечающих за последующее фармакологическое действие ЛРП. Для этих целей возможно использование методов химического (качественные реакции) и физико-химического (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ, УФ-спектроскопия) анализа [10, 11].

2. Зола общая. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Примеси. Установление норм по данным показателям качества также обусловлено входящим в состав ЛП сырьем.

3. Количественное определение. Оценивают биологическую активность или количественное содержание основных групп БАВ, определяющих основное фармакологическое действие ЛРП.

4. Микробиологическая чистота. Гранулы резано-прессованные относятся к категории 4А (ЛРП и ЛРС, применяемые в виде настоев и отваров, приготовленных с использованием кипящей воды). Для данной категории установлены следующие нормы: общее число аэробных микроорганизмов — не более 10^7 КОЕ в 1 г; общее число дрожжевых и плесневых грибов — не более 10^5 КОЕ в 1 г; *Escherichia coli* — не более 10^2 КОЕ в 1 г [7].

5. Зараженность вредителями запасов. Методика определения данного показателя также регламентирована соответствующей ОФС.1.5.3.0002.15 [7].

6. Радионуклиды. Методика определения по данному показателю, а также нормы для каждого отдельного вида сырья приведены в ОФС.1.5.3.0001.15 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [7].

7. Тяжелые металлы. Значимость оценки содержания тяжелых металлов в ЛРП обусловлена возможностью накопления ряда токсичных металлов в лекарственных растениях, а следовательно, и в ЛРС. Экоотоксиканты (ксенобиотики) и их соли обладают потенциальной генотоксичностью и канцерогенностью, показано влияние тяжелых металлов на нервную систему и повышенная чувствительность детей к токсическому действию металлов [12, 13]. Методика определения качества препаратов по данному показателю регламентирована ОФС.1.5.3.0009.15 «Тяжелые металлы», впервые введенной в действие на территории России.

8. Остаточные количества пестицидов. Культивируемые лекарственные растения при условии обработки пестицидами склонны к их накоплению [14–16]. Аналитическая методика для определения данного показателя, а также пределы допустимого содержания остаточных пестицидов приведены в ОФС.1.5.3.0011.15 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», также впервые введенной в практику отечественного фармацевтического анализа.

Оценку качества гранул по показателям «Зараженность вредителями запасов», «Радио-

нуклиды», «Тяжелые металлы» и «Остаточные количества пестицидов» возможно проводить по паспортам анализа на ЛРС, из которого получены гранулы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненных исследований была установлена возможность получения гранул резано-прессованных, что позволило впервые в мире ввести в практику новую ЛФ «Гранулы резано-прессованные». Проведены исследования по стандартизации новой ЛФ, установлен оптимальный перечень показателей качества, качественное и количественное нормирование показателей, методы испытаний. Анализ результатов проведенных исследований показал, что применение технологии гранулирования ЛРС позволяет обеспечить сохранность БАВ. Производство ЛРП в виде гранул для дальнейшей фасовки в фильтр-пакеты обеспечивает точность и однородность дозирования, а следовательно, качество получаемых из них водных извлечений. Использование этой ЛФ позволит расширить ассортимент ЛП растительного происхождения.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Богоявленский АП, Алексюк ПГ, Турмагамбетова АС, Березин ВЭ. Актуальные проблемы стандартизации фитопрепаратов и растительного сырья для их производства. *Фундаментальные исследования*. 2013;(6–5):1184–7. [Bogoyavlenskiy AP, Aleksyuk PG, Turmagambetova AS, Berезin VE. Current problems of standardization of phytopreparations and plant materials for their production. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*. 2013;(6–5):1184–7 (In Russ.)]
2. Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Лякина МН, Рукавицына НП. Актуальные вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в РФ и странах ЕАЭС. В кн.: *Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине. Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВИЛАР*. М.; 2016. С. 522–5. [Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Lyakina MN, Rukavitsyna NP. Current issues of standardization of herbal substances and herbal medicinal products in the Russian Federation and in the Eurasian Economic Union. In: *Biological properties of medicinal plants and aromatic herbs and their role in medicine. Collection of scientific papers of the International Research and Practical Conference devoted to the 85th anniversary of VILAR*. Moscow; 2016. P. 522–5 (In Russ.)]
3. Евдокимова ОВ, Стряпушкин ПА, Стуловский СС, Семионова МВ. Резано-прессованное сырье крапивы и зверобоя как новый вид продукции. В кн.: *Материалы XIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство»*. М.; 2007. С. 820. [Evdokimova OV, Stryapushkin PA, Stulovskiy SS, Semionova MV. Cut and pressed raw Nettle and St. John's wort as a new product type. In: *Materials of the XIV Russian National Congress «Human and Medicine»*. Moscow; 2007. P. 820 (In Russ.)]
4. Рукавицына НП, Антонова НП, Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Лякина МН. Современные подходы к нормированию качества ЛРС и ЛРП по показателям «Измельченность» и «Примесь». В кн.: *Сборник научных трудов международной конференции «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине»*. М.: Щербинская типография; 2016. С. 519–23. [Rukavitsyna NP, Antonova NP, Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Lyakina MN. Modern approaches to the quality standardisation of medicinal products and herbal medicines in terms of granulation and impurities. In: *Collection of research papers of the International Conference «Biological characteristics of medicinal and aromatic plants and their role in medicine»*. Moscow: Shcherbinskaya tipografiya; 2016. P. 519–23 (In Russ.)]

5. Цхай ЕВ, Евдокимова ОВ, Девяткина ИА, Стряпушкин ПА, Стуловский СС. Изучение нового вида продукции — крапивы листья резано-прессованные. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2007;(2):191–6. [Tskhay EV, Evdokimova OV, Devyatkina IA, Stryapushkin PA, Stulovskiy SS. Study of a new product type — Nettle leaves, cut and pressed. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2007;(2):191–6 (In Russ.)]
6. Баландина ИА. Совершенствование принципов и методов фармакопейного анализа в системе стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. М.; 2004. [Balandina IA. Development of pharmacopoeial analysis methods and principles for the standardisation of herbal substances and herbal medicinal products. *Cand. Pharm. Sci. [thesis]*. Moscow; 2004 (In Russ.)]
7. Саканян ЕИ, Бунятян НД, Сакаева ИВ, Лякина МН, Шемерянкина ТБ, Постюк НА и др. Современные подходы к структуре построения фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье. *Фармация*. 2015;(4):9–11. [Sakanyan EI, Bunyatyan ND, Sakaeva IV, Lyakina MN, Shemeryankina TB, Postoyuk NA, et al. Modern approaches to the structure of monographs on herbal substances. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2015;(4):9–11 (In Russ.)]
8. Trifonova OB, Evdokimova OV. A comparative study of morphological and anatomical characteristics of herbal powder and cut-pressed granules derived from tripartite bur-marigold. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2017;11(1):S146–1.
9. Трифонова ОБ, Евдокимова ОВ. Анатомо-диагностические признаки порошка и гранул плодов боярышника. *Фармация*. 2017;66(7):16–8. [Trifonova OB, Evdokimova OV. Anatomical and diagnostic characters of the hawthorn berry powder and granules. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2017;66(7):16–8 (In Russ.)]
10. Сокольская ТА, Даргаева ТД, Шемерянкина ТБ. Роль стандартов в фармакопейном анализе лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2009;(3):10–3. [Sokolskaya TA, Dargaeva TD, Shemeryankina TB. The role of standards in the pharmacopoeial analysis of herbal substances and herbal medicines. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2009;(3):10–3 (In Russ.)]
11. Шемерянкина ТБ, Сокольская ТА, Даргаева ТД. Требования к стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на его основе. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010;(3):9–12. [Shemeryankina TB, Sokolskaya TA, Dargaeva TD. Requirements for standardisation of herbal substances and herbal medicines. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2010;(3):9–12 (In Russ.)]
12. Терешкина ОИ, Рудакова ИП, Гравель ИВ, Гуськова ТА, Самылина ИА. Проблемы нормирования экотоксикантов в фитопрепаратах. В кн.: *Материалы XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»*. М.; 2010. С. 726. [Tereshkina OI, Rudakova IP, Gravel IV, Gus'kova TA, Samylina IA. Problems of standardisation of ecotoxins in herbal medicines. In: *Materials of the XVII Russian National Congress «Human and Medicine»*. Moscow; 2010. P. 726 (In Russ.)]
13. Терешкина ОИ, Рудакова ИП, Гравель ИВ, Самылина ИА. Проблемы нормирования тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье. *Фармация*. 2010;(2):7–11. [Tereshkina OI, Rudakova IP, Gravel IV, Samylina IA. Problems of standardisation of heavy metals content in herbal substances. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2010;(2):7–11 (In Russ.)]
14. Гравель ИВ, Иванова ЕА. Требования зарубежных фармакопей к качеству лекарственного растительного сырья по содержанию пестицидов. *Фармация*. 2010;(7):50–3. [Gravel IV, Ivanova EA. Foreign pharmacopoeia requirements for pesticide content in herbal substances. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2010;(7):50–3 (In Russ.)]
15. Терешкина ОИ, Самылина ИА, Рудакова ИП, Гравель ИВ. Гармонизация подходов к оценке безопасности состава лекарственных растительных препаратов. *Биомедицина*. 2011;(3):80–6. [Tereshkina OI, Samylina IA, Rudakova IP, Gravel IV. Harmonisation of approaches to the evaluation of herbal medicines safety. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2011;(3):80–6 (In Russ.)]
16. Терешкина ОИ, Рудакова ИП, Гуськова ТА, Самылина ИА. Нормирование остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. *Фармация*. 2011;(2):3–5. [Tereshkina OI, Rudakova IP, Gus'kova TA, Samylina IA. Standardisation of residual pesticides in herbal substances and herbal medicines. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2011;(2):3–5 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Рукавицына Надежда Петровна. Nadezhda P. Rukavitsyna. **РИНЦ (AuthorID):** 739141

Саканян Елена Ивановна, д-р фарм. наук, проф. Elena I. Sakanyan, Dr. Sci. (Pharm.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8536-4804>

Евдокимова Ольга Владимировна, д-р фарм. наук. Olga V. Evdokimova, Dr. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2191-1033>

Статья поступила 04.04.2018

После доработки 19.02.2019

Принята к печати 24.05.2019

Article was received 4 April 2018

Revised 19 February 2019

Accepted for publication 24 May 2019

Обоснование возможности проведения исследований терапевтической эквивалентности

Д. В. Горячев, Н. Е. Уварова*

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

Резюме. Введение в российское законодательство термина «терапевтическая эквивалентность» имеет принципиальное значение для оценки взаимозаменяемости лекарственных препаратов и признания их воспроизведенными. Регламентируется, что для оценки терапевтической эквивалентности существует специальный инструмент — «исследование терапевтической эквивалентности». Цель работы — анализ обоснованности признания клинического исследования терапевтической эквивалентности в качестве единственного исследования, позволяющего установить терапевтическую эквивалентность препаратов. Ведущими мировыми регуляторными органами закреплен термин «терапевтическая эквивалентность», но отсутствует понятие клинического исследования терапевтической эквивалентности. Ключевыми отличиями зарубежного подхода от отечественного являются сравнение препаратов с одним действующим веществом и наличие дополнительных условий для признания терапевтической эквивалентности. Также ограничение на оценку в рамках только одного исследования «одинаковости» свойств, эффективности и безопасности накладывает методология клинических исследований, основанная на применении методов статистического анализа. Поэтому существует несколько причин невозможности трактовки исключительно результатов сравнительного клинического исследования для доказательства терапевтической эквивалентности лекарственных средств. Без подтверждения сходства состава, сходства фармакокинетических характеристик препаратов результат исследования не может являться единственно достаточным фактором для признания их терапевтической эквивалентности. Это не противоречит существующей нормативно-правовой базе и согласуется с современной научной методологией проведения клинических исследований.

Ключевые слова: исследование терапевтической эквивалентности; клиническое исследование; терапевтическая эквивалентность; биоэквивалентность; статистический анализ

Для цитирования: Горячев ДВ, Уварова НЕ. Обоснование возможности проведения клинических исследований терапевтической эквивалентности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):79–84. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-79-84>

***Контактное лицо:** Уварова Наталия Евгеньевна; uvarova@expmed.ru

Assessment of the Feasibility of Therapeutic Equivalence Studies

D. V. Goryachev, N. E. Uvarova*

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The introduction of the «therapeutic equivalence» concept into the Russian legislation is critical for evaluation of medicines interchangeability and for recognising them as generics. It is stipulated by the legislation that therapeutic equivalence has to be evaluated using a special instrument — «therapeutic equivalence study». The aim of this work was to analyse the validity of considering a therapeutic equivalence study as the only study that allows for confirmation of therapeutic equivalence of medicines. The term «therapeutic equivalence» has been adopted by the leading world regulators, but there is no clear concept of what is a therapeutic equivalence clinical study. The key distinctive features of the foreign approach, as compared to the Russian one, are comparison of medicines with one active pharmaceutical ingredient, and additional conditions for the establishment of therapeutic equivalence. The clinical trial methodology, which is based on the use of statistical analysis methods, also imposes constraints on evaluation of «similarity» of properties, efficacy and safety of medicines in a single study. Hence, there are several reasons why the results of comparative clinical trials can not be used as a sole basis for the establishment of therapeutic equivalence. These results have to be substantiated by confirmation of comparable composition and pharmacokinetic parameters of medicines in order for them to be considered therapeutically equivalent. This does not contradict the existing regulatory framework and is consistent with the current scientific methodology for conducting clinical trials.

Key words: therapeutic equivalence study; clinical trial; therapeutic equivalence; bioequivalence; statistical analysis

For citation: Goryachev DV, Uvarova NE. Assessment of the feasibility of therapeutic equivalence studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):79–84. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-79-84>

***Corresponding author:** Natalia E. Uvarova; uvarova@expmed.ru

Термин «терапевтическая эквивалентность» закреплен Федеральным законом Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее — Федеральный закон № 61-ФЗ или Закон) и трактуется как достижение клинически сопоставимого терапевтического эффекта при применении лекарственных препаратов для одной и той же группы больных по одним и тем же показаниям.

Принципиальное значение это понятие имеет для оценки взаимозаменяемости препаратов и признания препаратов воспроизведенными:

«Взаимозаменяемый лекарственный препарат — лекарственный препарат с доказанной терапевтической эквивалентностью или биоэквивалентностью в отношении референтного лекарственного препарата, имеющий эквивалентные ему качественный состав и количественный состав действующих веществ, состав вспомогательных веществ, лекарственную форму и способ введения»¹;

«Воспроизведенный лекарственный препарат — лекарственный препарат, который имеет такой же качественный состав и количественный состав действующих веществ в такой же лекарственной форме, что и референтный лекарственный препарат, и биоэквивалентность или терапевтическая эквивалентность которого референтному препарату подтверждена соответствующими исследованиями»².

Одновременно Законом регламентируется, что для оценки терапевтической эквивалентности существует специальный инструмент — «исследование терапевтической эквивалентности лекарственных препаратов»³ — вид клинического исследования лекарственных препаратов, проведение которого осуществляется для выявления одинаковых свойств лекарственных препаратов определенной лекарственной формы, а также наличия одинаковых показателей безопасности и эффективности лекарственных препаратов, одинаковых клинических эффектов при их применении».

Таким образом, в Законе декларируется, что существует разновидность клинического исследования, проведение которого обеспечивает возможность выявления одинаковых свойств, одинаковых показателей безопасности, одинаковых показателей эффективности, одинаковых клинических эффектов. Условие об одновременной оценке всей перечисленной совокупности свойств, показателей и эффектов не вводится, в связи с чем можно сделать вывод, что клиническое исследование эквивалентности может выявлять лишь отдельные одинаковые признаки. Это принципиально важ-

но, так как вопрос о наличии в клиническом исследовании множества подтверждаемых гипотез не согласуется со стандартной логикой научных методов, применяемых в клинических исследованиях⁴. Догмат научных методов в клинических исследованиях закреплен Законом, и это, безусловно, является принципиальной прогрессивной позицией: «клиническое исследование лекарственного препарата — изучение диагностических, лечебных, профилактических, фармакологических свойств лекарственного препарата в процессе его применения у человека, животного, в том числе процессов всасывания, распределения, изменения и выведения, путем применения научных методов оценок в целях получения доказательств безопасности, качества и эффективности лекарственного препарата...»⁵.

В связи с этим становится единственно обоснованным проводить оценку дизайна и результатов клинического исследования с применением научных методов, основанных на принципах теории вероятности и методах биостатистики, составляющих основу современного научного подхода при оценке клинических исходов и иных событий, являющихся следствием множества факторов, не поддающихся полной детальной оценке. Необходимость применения методов статистики закреплена в приказе Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики».

Цель работы — анализ обоснованности признания клинического исследования терапевтической эквивалентности в качестве единственного исследования, позволяющего установить терапевтическую эквивалентность препаратов.

Прежде всего следует обозначить понятие терапевтической эквивалентности, используемое ведущими зарубежными регуляторными органами: Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA)⁶ и Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA)⁷.

С точки зрения FDA (Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations (Orange Book). FDA; 2018), «лекарственные препараты считаются терапевтически эквивалентными только в том случае, если они являются фармацевтическими эквивалентами, и для которых была продемонстрирована биоэквивалентность, в соответствии с чем можно ожидать, что они будут иметь тот же клинический эффект и профиль безопасности у пациентов при применении в условиях, указанных в маркировке».

¹ Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

² Там же.

³ Там же.

⁴ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

⁵ Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

⁶ Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations (Orange Book). FDA; 2018.

⁷ Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence CPMP/EWP/QWP/1401/98.

В соответствии с данной позицией терапевтическая эквивалентность представляет собой интегральный показатель, который может быть признан при соблюдении следующих критериев:

- 1) препараты разрешены для медицинского применения и оценены как эффективные и безопасные;
- 2) препараты являются фармацевтически эквивалентными: содержат одинаковое количество действующих веществ в той же лекарственной форме и при том же пути введения и удовлетворяют фармакопейным требованиям;
- 3) препараты являются биоэквивалентными: объективно не могут проявлять различий в исследо-

ваниях биоэквивалентности или иметь потенциальные причины таких различий, а при наличии таких предпосылок должны удовлетворять стандартным требованиям признания биоэквивалентности;

- 4) препараты адекватно маркированы;
- 5) производятся в условиях надлежащей производственной практики (GMP).

Концепция терапевтической эквивалентности, принятая FDA, не включает возможность рассмотрения препаратов, содержащих различающиеся действующие вещества.

В упрощенном варианте может быть представлена следующая зависимость:

$$\text{Терапевтическая эквивалентность} = \text{Фармацевтическая эквивалентность} + \text{Биоэквивалентность} \quad (1)$$

При отсутствии оснований для проведения стандартных сравнительных исследований биодоступности FDA рассматривает возможность проведения клинических исследований в варианте, называемом исследованиями биоэквивалентности, оценивающими фармакодинамические или клинические показатели. Например, это можно проиллюстрировать частными случаями: рекомендации FDA по изучению биоэквивалентности препаратов клиндамицина для местного применения⁸, рекомендации FDA по изучению биоэквивалентности пентосана полисульфата⁹. В последнем случае проявляется существенное различие между определением исследований биоэквивалентности в отечественной нормативно-правовой базе и определением FDA, так как FDA в случае пентосана полисульфата называет исследованиями биоэквивалентности плацебо-контролируемые клинические исследования, что обосновано поиском наличия эффекта в отношении одного из критериев эффективности в сравнении с плацебо.

Концепция FDA признает ограниченную возможность клинических исследований в оценке терапевтической эквивалентности, в связи с чем для оценки терапевтической эквивалентности обязательным условием-предпосылкой является показатель фармацевтической эквивалентности. При этом отсутствует как таковое понятие клинического исследования терапевтической эквивалентности.

Европейский регуляторный орган в руководстве по проведению исследований биоэквивалентности¹⁰ дает следующее определение терапевтически эквивалентным препаратам: «лекарственные препараты являются терапевтически эквивалентными,

если содержат то же действующее вещество или его терапевтически значимую часть и клинически демонстрируют ту же эффективность и безопасность, что и препарат, эффективность и безопасность которого установлены». За этим определением следует важное дополнение, что основным исследованием, подтверждающим терапевтическую эквивалентность, является исследование биоэквивалентности, а в ряде случаев для признания различий клинически незначимыми могут понадобиться клинические исследования, без терминологического обозначения этих исследований исследованиями терапевтической эквивалентности. Терапевтическая эквивалентность как интегральное представление о сходстве препаратов стало формироваться в странах Европы с начала 90-х годов [1].

Можно констатировать, что основное отличие в понятии терапевтической эквивалентности отечественной нормативной базой с одной стороны и определениями EMA и FDA с другой заключается в отсутствии в Федеральном законе № 61-ФЗ условия сравнения препаратов с одним действующим веществом (или его терапевтически значимой частью у EMA). То есть наличие дополнительных условий для признания терапевтической эквивалентности, помимо результата клинического исследования, существенно отличает зарубежное определение этого термина.

Возникает вопрос: возможно ли исключительно в клиническом исследовании оценить терапевтическую эквивалентность в ее обозначенном многообразии (одинаковые свойства, одинаковые показатели безопасности, одинаковые показатели эффективности, одинаковые клинические эффекты)?

⁸ <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252714.pdf>;
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252719.pdf>;
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252720.pdf>;
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252723.pdf>;
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252724.pdf>;
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM252725.pdf>.

⁹ <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM320020.pdf>.

¹⁰ Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence CPMP/EWP/QWP/1401/98.

В определении Федерального закона № 61-ФЗ данный термин охватывает все разнообразие сопоставления различных препаратов друг с другом без обязательной оценки их химической структуры, лекарственных форм, режимов применения. То есть в соответствии с этим определением терапевтическая эквивалентность может признаваться для препаратов из различных групп в случае реализации ими одинакового терапевтического эффекта.

Весьма привлекательным в данном случае выглядит упрощенный взгляд на итог исследования, которое «осуществляется для выявления одинаковых свойств лекарственных препаратов определенной лекарственной формы, а также наличия одинаковых показателей безопасности и эффективности лекарственных препаратов, одинаковых клинических эффектов при их применении». Если в сравнительном исследовании двух препаратов не выявлено различий, то препараты терапевтически эквивалентны. При этом эффективность, которую сравнивали, уже не важна, ведь терапевтический результат тот же¹¹.

Есть важный и непреодолимый с точки зрения научной логики клинических исследований фактор: указанное определение клинических исследований терапевтической эквивалентности не учитывает методологию клинических исследований. В целом ответ на вопрос «можно ли подтвердить, используя научные методы оценок, в рамках только одного исследования «одинаковость» свойств, эффективности и безопасности?» должен быть отрицательным.

Причины отрицательного ответа связаны с тем, что анализ и планирование дизайна клинических исследований проводятся с применением методов статистического анализа¹². Именно это накладывает существенное ограничение на оценку получаемого результата в интервенционном клиническом исследовании [2].

Выделим три основные причины невозможности ограничиться исключительно результатами сравнительного клинического исследования для признания терапевтической эквивалентности.

Первая причина заключается в том, что фундаментальная основа современного подхода к организации клинического исследования заключается в формировании исследовательской гипотезы (альтернативная гипотеза), для принятия которой формулируется обратная, нулевая гипотеза, которая должна быть отвергнута. То есть гипотеза принимается с определенной степенью вероятности ее справедливости и в большинстве случаев не может быть признана доказанной со 100 % вероятностью. Толь-

ко в случае, если альтернативная гипотеза отвергнута, нулевая гипотеза подтверждается. Критерий эффективности в стандартном клиническом исследовании обычно один, вторичные критерии оцениваются как дополнительные и требуют дальнейшего изучения, если относительно них специально не выдвигались гипотезы. В исследованиях эквивалентности вторичные критерии обычно оцениваются вне строгих, заранее обоснованных границ.

Методология клинических исследований исходит из того, что любое исследование новой терапии представляет в большинстве случаев сравнение двух вмешательств. Исходы лечения ограничены двумя вариантами: либо они одинаковы по своему результату, либо один из результатов лечения лучше другого. Возможен еще один вариант, заключающийся в том, что одно из вмешательств не хуже другого, но это своего рода статистически упрощенный вариант «одинаковости». Исследования, предназначенные для решения вопроса о том, лучше ли одно лечение, чем другое, называют исследованиями превосходства, в то время как исследования, предназначенные для того, чтобы продемонстрировать, что оба вмешательства одинаковы, называются исследованиями эквивалентности.

С точки зрения статистической логики исследования предназначены для отклонения нулевой гипотезы и в случае исследования превосходства доказывают наличие различий, а в случаях исследования эквивалентности — отсутствие различий на заранее определенную величину. В связи с тем, что нулевая гипотеза при использовании статистических тестов не может быть доказана, а может быть только отвергнута [3], альтернативная гипотеза (одно лечение лучше другого в случае исследования эквивалентности) не оценивается напрямую, а принимается, если вероятность того, что результаты получены случайно, меньше, чем заранее определенный уровень статистической значимости, обычно равный 5 %. Общепризнанным в современном подходе к анализу результатов клинических исследований становится то, что статистические тесты для поиска различий, призванные отвергнуть нулевую гипотезу об одинаковости исхода, неприменимы для доказательства этой нулевой гипотезы¹³. Другими словами, если в тесте для поиска различий уровень значимости не достигнут (например, $p > 0,05$) — это не значит, что группы не отличаются, очень вероятно, что просто исследование не обладает достаточной чувствительностью.

Результаты обобщенных анализов свидетельствуют, что клинические исследования обладают

¹¹ Постановление Девятого арбитражного апелляционного суда от 25 октября 2017 г. № 09АП-50224/17.

¹² Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики».

¹³ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

ICH Expert Working Group. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Statistical Principles for Clinical Trials (ICH E9). Geneva: International Conference on Harmonisation (ICH); 1998.

низкой чувствительностью для выявления различий между разными препаратами [4], т.е. это инструмент с ограниченной чувствительностью для выявления различий между препаратами. Соответственно, вероятность не обнаружить в клиническом исследовании различие при его существовании довольно высока. Именно поэтому клиническое исследование представляет собой только часть программы оценки терапевтической эквивалентности препаратов. В иерархии доказательств его результат является лишь важным дополнением, но не единственным фактором оценки сходства препаратов.

Исследования, проверяющие более одной гипотезы, должны включать поправку на множественность сравнений¹⁴, которая существенно снижает уровень принимаемой статистической значимости и обычно делает невозможным достижение приемлемой мощности при физически осуществимой численности больных. В связи с этим в исследовании крайне затруднительно отвергнуть более двух нулевых гипотез, и подтверждение нескольких альтернативных гипотез становится невозможным.

Вторая причина невозможности ограничиться результатами одного клинического исследования тесно связана с первой. В соответствии с определением, основным признаком исследования является «выявление одинаковых свойств лекарственных препаратов», «одинаковых показателей безопасности и эффективности», «одинаковых клинических эффектов». Термин «одинаковость» в применении показателей эффективности и безопасности лекарственного препарата не может быть признан исчерпывающим, так как инструмент оценки названных показателей в современной научной трактовке результатов клинических исследований дает вероятностный результат, описываемый определенными доверительными интервалами, т.е. диапазоном вероятностных величин эффекта. Для констатации «одинаковости» необходимо введение представления о допустимых величинах отклонений различия между препаратами. В рамках клинического исследования доказательство «одинаковости» по определенному признаку без введения допустимого предела отклонений невозможно. Этот предел отклонений является принципиальной величиной, зависящей от клинических и статистических аспектов.

В связи со сказанным необходимой научной составляющей в планировании и оценке результатов исследования терапевтической эквивалентности становится определение приемлемого предела от-

клонений в эффекте между препаратами для признания их эквивалентными по этому показателю.

Для трактовки отклонения терапевтического эффекта как допустимого требуется давать научное обоснование для признания эффекта «клинически сопоставимым», как указано в определении Федерального закона № 61-ФЗ.

Таким образом, при планировании клинического исследования терапевтической эквивалентности основной задачей становится обоснование границ признания эквивалентности с дальнейшим применением статистических процедур для доказательства величины доверительных интервалов различия в этих пределах. Для исследований биоэквивалентности, в которых проводится сравнительная оценка биодоступности и максимальной концентрации в крови, эти границы установлены практически одинаково всеми основными мировыми регуляторными органами и соответствуют 80–125 % для отношения средних значений тестового препарата и препарата сравнения. Универсальность этих границ продиктована в большей мере не научной составляющей, так как сложно предположить единую зависимость экспозиции активного компонента и его эффекта для всего разнообразия лекарственных средств, а удобством для экспертов и разработчиков препаратов. По словам S.-C. Chow [5], «существующие границы признания биоэквивалентности для небольших синтетических соединений: 80–125 % весьма критикуемы и в большей мере обусловлены регуляторными и политическими аспектами, нежели научной составляющей»¹⁵.

Для оценки клинических эффектов универсальные границы до настоящего момента практически отсутствуют.

Определение границ эквивалентности представляет собой многоэтапный процесс, описанный в соответствующих руководствах ведущих регуляторных органов¹⁶, и не может приводить к признанию чрезмерно широких границ определяемой величины, компенсирующих малую величину статистической значимости принятия нулевой гипотезы при множественности сравнений.

В итоге при большом числе оцениваемых гипотез поправка на множественность сравнений делает невозможным достижение достаточной мощности планируемого исследования в рамках обоснованных границ для каждого из исходов.

Третья причина невозможности признания одинаковости препаратов в рамках ограниченно-го исследования связана с оценкой безопасности

¹⁴ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

ICH Expert Working Group. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Statistical Principles for Clinical Trials (ICH E9). Geneva: International Conference on Harmonisation (ICH); 1998.

¹⁵ «For example, existing bioequivalence margin of small molecules is 80–125 %. But we also know that the assessment of average bioequivalence for generic approval has been criticized that it is based on legal/political deliberations rather than scientific considerations» [5].

¹⁶ ICH Expert Working Group. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Statistical Principles for Clinical Trials (ICH E9). Geneva: International Conference on Harmonisation (ICH); 1998.

этих препаратов. Серьезные нежелательные явления обычно представляют собой достаточно редкие события, и их регистрация в исследованиях, ограниченных несколькими сотнями больных, не может быть достаточной для доказательства одинаковой безопасности сравниваемых препаратов, результат носит поверхностный, оценочный характер и требует дальнейшего подтверждения при проведении фармаконадзора (оценки пострегистрационного применения препарата). Вопросы равной безопасности не могут решаться в ограниченных клинических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очевидно, что истинная клиническая эквивалентность не может быть доказана в рамках единственного клинического исследования. Именно поэтому вопрос о признании истинной клинической эквивалентности на основании только части клинической информации (или только информации о фармакокинетических особенностях) бурно решался в период введения исследований биоэквивалентности (фармакокинетической эквивалентности) в качестве метода доказательства терапевтической эквивалентности. Необходимость создания общих правил и удобных алгоритмов принятия решений стала причиной выработки принципа признания клинической эквивалентности только на основании результатов исследований биоэквивалентности [5].

Случаи невозможности проведения стандартных исследований биоэквивалентности, точнее отсутствие обоснованного смысла в их проведении, нередки. Это хорошо известно для препаратов для наружного применения и препаратов для введения непосредственно в кровоток (парентеральных), а также в ситуациях с невозможностью оценки в кровотоке активных компонентов препарата из-за наличия множества активных соединений в его составе, высокого эндогенного уровня активного компонента, явного отсутствия взаимосвязи концентрации определяемого компонента с его терапевтическим эффектом и др. В подобных случаях

доказательство эквивалентности препаратов основывается на результатах клинического исследования их терапевтической эквивалентности.

Однако исследования терапевтической эквивалентности, как было продемонстрировано, это необходимая оценка исхода лишь по ограниченному числу показателей, чаще одному. При этом без наличия иных условий признания терапевтической эквивалентности, например сходного состава, сходных фармакокинетических характеристик, результат исследования не может являться единственно достаточным фактором для признания терапевтической эквивалентности.

Таким образом, исследования терапевтической эквивалентности не могут быть единственным достаточным инструментом доказательства терапевтической эквивалентности лекарственных препаратов. Проблема определенных противоречий между зарубежными регуляторными подходами, научными принципами подтверждения эквивалентности и национальными требованиями в определенной мере решается введением новой регуляторной системы Евразийского экономического союза. В то же время перспектива указанных изменений требует учета представленной информации для создания максимально научно обоснованных и актуальных нормативных требований, но при условии возможности их выполнения со стороны производителей лекарственных препаратов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР AAAA-A18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project № 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Garbe E, Röhm J, Gundert-Remy U. Clinical and statistical issues in therapeutic equivalence trials. *Eur J Clin Pharmacol.* 1993;45(1):1–7.
2. Garrett AD. Therapeutic equivalence: fallacies and falsification. *Stat Med.* 2003;22(5):741–62. <https://doi.org/10.1002/sim.1360>
3. Popper K. *The Logic of Scientific Discovery*. NY: Harper & Row; 1959.
4. Perks B. Supporting biosimilarity and extrapolation. *GaBI Journal.* 2015;4(4):180–3. <https://doi.org/10.5639/gabij.2015.0404.041>
5. Chow S-C, Endrenyi L, Lachenbruch PA, Yang L-Y, Chi E. Scientific factors for assessing biosimilarity and drug interchangeability of follow-on biologics. *Biosimilars.* 2011;(1):13–26. <https://doi.org/10.2147/BS.S20577>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук. Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Уварова Наталья Евгеньевна. Natalia E. Uvarova. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6718-695X>

Статья поступила 11.10.2018
После доработки 27.02.2019
Принята к печати 24.05.2019

Article was received 11 October 2018
Revised 27 February 2019
Accepted for publication 24 May 2019

Современные подходы к определению биологической активности инсулина и его аналогов

Т. А. Батуашвили, Л. В. Симутенко, П. В. Шадрин*, Н. П. Неугодова

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

Резюме. Рассмотрены особенности действия инсулина на организм пациента, виды препаратов инсулина и его аналогов, применяемых для лечения сахарного диабета, и предъявляемые к ним требования. Показано, что определение биологической активности является одним из главных показателей качества данной группы препаратов. Приведено краткое описание методов анализа инсулина и его аналогов, основанных как на действии гормона на организм в целом (*in vivo*: двойной перекрест, эугликемический клэмп), так и на отдельных этапах его взаимодействия с системами организма (*in vitro*: рецепторно-связывающий анализ, фосфорилирование, метаболические методы). В связи с появлением на фармацевтическом рынке биоаналогов инсулина в статье поднимается вопрос о необходимости сохранения в нормативных документах показателя «Биологическая активность», определяемого на животных. Проведенный анализ методов определения биологической активности *in vivo* и *in vitro* убедительно показывает невозможность замены моделей с использованием животных на существующие в настоящее время методы анализа, выполняемые на клеточных культурах. Следовательно, модели на животных по-прежнему необходимы, так как только они позволяют дать адекватную оценку качества инсулинов по показателю «Биологическая активность». Принимая во внимание мировые тенденции к сокращению использования животных в испытаниях, авторы указывают на необходимость разработки методов, результаты которых будут сопоставимы с результатами определения биологической активности *in vivo*.

Ключевые слова: инсулин; аналоги инсулина; биоподобные препараты; биоаналоги; биологическая активность; методы *in vivo* и *in vitro*; ИР-1 и ИР-2; рецепторно-связывающий анализ; фосфорилирование; метаболическая активность

Для цитирования: Батуашвили ТА, Симутенко ЛВ, Шадрин ПВ, Неугодова НП. Современные подходы к определению биологической активности инсулина и его аналогов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):85–92. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-85-92>

***Контактное лицо:** Шадрин Павел Валерьевич; shadrin@expmed.ru

Modern Approaches to Determination of the Biological Activity of Insulin and its Analogues

T. A. Batuashvili, L. V. Simutenko, P. V. Shadrin*, N. P. Neugodova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The paper considers insulin's specific action on the patient's body, types of insulin preparations and insulin analogues which are used for the treatment of diabetes, as well as applicable requirements for these products. It was demonstrated that determination of biological activity is one of the key quality parameters of this type of medicines. The paper summarises the methods used for evaluation of insulin and its analogues, which are based both on the hormone's general action on the body (*in vivo*: double crossing, euglycemic clamp, etc.), and on certain aspects of the hormone's interaction with the body systems (*in vitro*: receptor-binding assay, phosphorylation, metabolic methods). Due to the appearance of insulin biosimilars on the pharmaceutical market, the article raises the issue that the «Biological potency» parameter tested in animals should be kept as part of the product specification. The analysis of the *in vivo* and *in vitro* methods of biological activity determination convincingly demonstrates that animal models can not be replaced with the modern analytical methods based on cell cultures. Consequently, animal models are still necessary, as they allow for an adequate assessment of the quality of insulins in terms of «Biological potency». Taking into account the global trend towards reduction of animal testing, the authors point out the need to develop modern methods, the results of which will be comparable to the results of *in vivo* determination of the biological activity.

Key words: insulin; insulin analogues; biosimilars; biological activity; *in vivo* and *in vitro* methods; IR-1 and IR-2; receptor-binding assay; phosphorylation; metabolic activity

For citation: Batuashvili TA, Simutenko LV, Shadrin PV, Neugodova NP. Modern approaches to determination of the biological activity of insulin and its analogues. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):85–92. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-85-92>

***Corresponding author:** Pavel V. Shadrin; shadrin@expmed.ru

Инсулин относится к полипептидным гормонам, и его основное действие направлено на поддержание углеводного баланса. Почти за столетний период был пройден путь от получения инсулина животного происхождения из поджелудочных желез крупного рогатого скота и свиней до синтеза инсулина человеческого, а затем производства инсулина человеческого и его аналогов методом генной инженерии [1–3].

С момента открытия инсулина и начала его применения для лечения больных сахарным диабетом гипогликемическое действие гормона лежит в основе определения его биологической активности, которая является важным показателем качества инсулина и его аналогов.

Цель работы — анализ современных методов определения биологической активности инсулина и его аналогов *in vivo* и *in vitro*.

Для поддержания у больных сахарным диабетом физиологического уровня гормона в крови были созданы препараты инсулина короткого действия (так называемые пищевые), среднего и длительного действия (базальные). Для пищевых инсулинов характерно быстрое действие после их введения в организм и создания физиологического пика. Инсулины длительного действия, представляющие собой суспензию, медленно всасываются из подкожно-жировой клетчатки, поддерживая невысокую концентрацию препарата в крови в течение длительного времени при отсутствии физиологического пика. Их вводят один или два раза в сутки.

Особенностью инсулина человека является способность его молекул образовывать димеры и гексамеры в лекарственной форме, а также склонность к агрегации и формированию фибрилл, что приводит к замедлению всасывания препарата в кровь [3–5].

Несмотря на доказанную эффективность препаратов инсулина в лечении сахарного диабета, необходимо отметить их узкий терапевтический диапазон, связанный с риском гипогликемии [2, 6].

С развитием биотехнологии стало возможно путем модификации молекулы инсулина создавать его аналоги. В отличие от инсулина человеческого, они не образуют ассоциированные молекулы и поэтому значительно быстрее всасываются в кровь. В результате направленного изменения последовательности аминокислот были получены аналоги инсулина ультракороткого действия. Включение в молекулу остатка жирной кислоты создало возможность получить аналог инсулина продолжительного действия (инсулин детемир).

Другим способом увеличения продолжительности действия препарата является образование микропреципитатов. Примером этого является инсулин гларгин, раствор которого в лекарственной форме имеет рН 4. После введения препарата в под-

кожно-жировую клетчатку рН раствора меняется на нейтральный, при этом образуются микропреципитаты, которые замедляют всасывание препарата в кровь, создавая имитацию физиологического суточного профиля инсулинемии у пациентов [7].

Таким образом, с появлением в лечебной практике аналогов инсулина стало возможным обеспечивать оптимальный уровень глюкозы в крови без риска гипогликемии [4, 8].

На основании международных рекомендаций для создания единых условий проведения фармацевтических и биологических испытаний, доклинических и клинических исследований Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 утверждены «Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» (далее — Правила ЕАЭС). В основу данного документа легли рекомендации международных организаций: Всемирной организации здравоохранения и Комитета по лекарственным средствам при Европейском агентстве по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA). Требования к исследованиям биоподобия лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный инсулин, включая инсулин человека и аналоги инсулина человека, установлены в главе 15.7 Правил ЕАЭС.

Согласно Правилам ЕАЭС, биологическая активность «определяет особую способность или свойство препарата оказывать определенный биологический эффект». Для препаратов инсулина биологическая активность является интегральным показателем, характеризующим результат взаимодействия инсулина, обладающего определенными фармацевтическими характеристиками, с системами организма, участвующими в регуляции углеводного обмена.

Для определения биологической активности препаратов инсулина используют экспериментальные модели, воспроизводящие его действие на человеческий организм в целом (методы *in vivo*) и на отдельные изолированные системы или имитирующие различные этапы взаимодействия гормона с организмом (методы *in vitro*).

Действие инсулина или его аналога *in vivo* начинается с момента его введения под кожу и образования депо в подкожно-жировой клетчатке. Скорость поступления гормона в кровь и связывание с транспортными белками будут зависеть от строения молекулы и лекарственной формы. При попадании инсулина из крови в межклеточную жидкость происходят его взаимодействие с рецепторами, находящимися на мембране инсулинозависимых клеток, и активация сигнального пути внутри клетки, заканчивающаяся метаболическим ответом (рис. 1).

При оценке качества препаратов инсулина особое внимание следует уделять сравнительно недавно

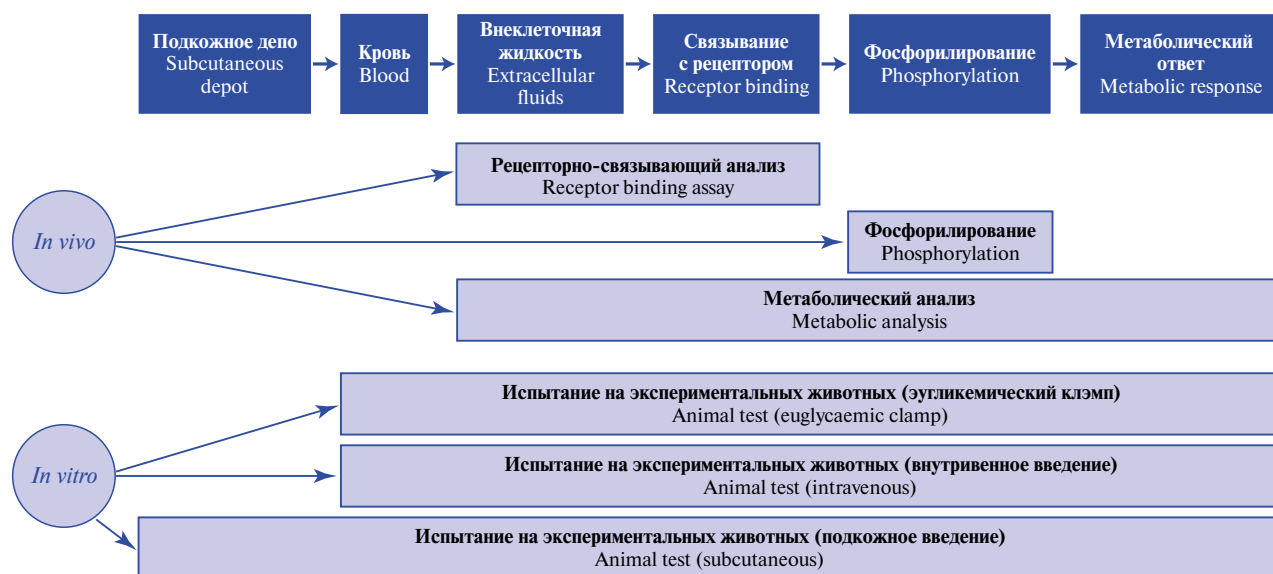


Рис. 1. Схема действия инсулина в организме и методы его оценки в условиях *in vivo* и на отдельных этапах *in vitro*. По A. Vølund с соавт. [9]

Fig. 1. The schematic illustration of insulin action and methods of its assessment *in vivo* and, at some stages, *in vitro*. By A. Vølund et al. [9]

появившимся на фармацевтическом рынке биотехнологическим биоподобным препаратам, обладающим сложной структурой. При этом каждый производитель такого препарата использует собственный технологический процесс, поэтому практически невозможно точно воссоздать оригинальный препарат, а биологическая активность биоподобного препарата не будет такой же, как у оригинального [10–12].

В руководстве ЕМА¹ указано, что о биоподобии между оригинальным препаратом и потенциальным биоаналогом можно судить только на основании клинических и доклинических исследований. В то же время во многих странах мира регистрация биоподобных препаратов проходит на основании упрощенной заявки, которая принята для воспроизведенных препаратов [13–15]. Данная процедура не может обеспечить в достаточной мере эффективность и безопасность биоподобных препаратов. В связи с этим определение биологической активности приобретает еще большую актуальность.

Для количественного определения биологической активности инсулина и его аналогов *in vivo* необходимо использование соответствующих стандартных образцов, аттестованных по данному показателю.

МЕТОДЫ *IN VIVO*

Величину биологической активности, полученную в опытах на животных, выражают в единицах действия. За единицу действия принимают специфическую активность такого количества инсулина или его аналога, которое по гипогликемическому действию эквивалентно одной международной единице (МЕ). Для инсулина человеческого и для его аналогов эти единицы действия будут отличаться. Например², для инсулина человеческого 1 МЕ = 0,0347 мг, а 1 МЕ инсулина гларгина = 0,0364 мг.

Для контроля качества препаратов инсулина и его аналогов, а также их субстанций по показателю «Биологическая активность» *in vivo* применяют метод двойного перекреста и эугликемический клэмп-тест.

Двойной перекрест. Метод основан на сравнении линий дозозависимости стандартного образца и испытуемого препарата (принцип параллельных линий) и описан в Государственной фармакопее Российской Федерации³, Европейской фармакопее⁴ и фармакопее США⁵. Испытание выполняется на мышах или кроликах и состоит из двух постановок на четырех группах животных (табл. 1).

¹ Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1). EMA/CHMP/BWP/247713/2012.

² United States Pharmacopeia. 41th ed. (Insulin Human, Insulin Glargine).

³ ОФС.1.2.4.0001.15. Биологические испытания инсулина. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 1. М.: 2018. В Государственную фармакопею СССР X изд. была включена статья, регламентирующая простой перекрест. Впоследствии она была переработана в ОФС 42-0009-02, которая вошла в Государственную фармакопею Российской Федерации XII изд. и с незначительными изменениями действует в настоящее время.

⁴ European Pharmacopeia 9 (5.3. Statistical Analysis of Results of Biological Assays and Tests).

⁵ United States Pharmacopeia. 41th ed. (<121> Insulin Assays).

Таблица 1. Схема двойного перекреста по ОФС.1.2.4.0001.15 (последовательность введения рабочих растворов животным)**Table 1.** The double crossing scheme according to OFS.1.2.4.0001.15 (sequence of administration of working solutions to animals)

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4
I постановка (день I) Experiment I (day I)	СО ₁ RS ₁	СО ₂ RS ₂	ИП ₁ TP ₁	ИП ₂ TP ₂
II постановка (день II) Experiment II (day II)	ИП ₂ TP ₂	ИП ₁ TP ₁	СО ₂ RS ₂	СО ₁ RS ₁

Примечание. СО — стандартный образец; ИП — испытуемый препарат; индекс 1 — малая доза; индекс 2 — большая доза.

Note. RS — reference standard; TP — test product; index 1 — small dose; index 2 — high dose.

Теоретически, если значения биологической активности стандартного образца (СО) и испытуемого препарата (ИП) равны, то в течение двух дней испытания каждое животное подкожно должно получить одно и то же суммарное количество инсулина или его аналога. Разность ответов одной и той же особи в разные дни позволяет оценить биологическую активность ИП и ее доверительные границы. Данная схема позволяет максимально сгладить естественную вариабельность реакции животных и определить правильность результатов каждого испытания с помощью дисперсионного анализа.

Значение биологической активности вычисляют на основании полученной разности между средними значениями ответа СО и ИП, а также угла наклона их общей линии дозозависимости.

Для научно-исследовательских целей используют и другие варианты определения биологической активности инсулина и его аналогов, также основанные на принципе параллельных линий. Например, экспресс-метод определения биологической активности на кроликах с применением двух доз, как СО, так и ИП. В отличие от метода двойного перекреста, растворы инсулина вводят однократно, внутривенно и в уменьшенных дозах [9]. Это сокращает время проведения испытания, но исключает стадию образования подкожного депо, которая влияет на биологическую активность, определяемую фармакопейным методом.

Эугликемический клэмп-тест. Метод описан в Правилах ЕАЭС (глава 15.7) как достаточно точный и надежный. Он позволяет оценить биологическую активность инсулина и его аналогов в эксперименте на животных, а также резистентность к инсулину в клинике [16].

Суть метода заключается в достижении устойчивого равновесия между уровнем вводимой в кровь глюкозы и скоростью ее захвата тканями [17, 18]. Для достижения состояния равновесия в начале опыта резко увеличивают концентрацию инсулина в крови за счет скорости введения, а затем переходят на постоянную скорость инфузии инсулина при одновременном внутривенном введении глюкозы для поддержания эугликемии.

Тест неоднократно использовали для сравнительных испытаний эффективности аналогов инсулина и инсулина человека. Например, при исследовании инсулина детемир на фоне достижения равновесного состояния проводили сравнительную оценку действия изучаемого аналога и инсулина человека.

Для определения инсулинозависимых метаболитов в плазме, а также метаболических ответов *in vitro* на примере скорости поглощения меченой 2-дезоксиглюкозы клетками жировой и мышечной ткани также использовали клэмп-тест. Показано, что эффективность аналогов инсулина в четыре раза ниже, чем инсулина человека. Несмотря на доказанную эффективность, тест применяется редко, так как трудоемок, требует специального оборудования и обученного персонала [10, 19–23].

МЕТОДЫ *IN VITRO*

Выход в 1959 году книги У. Рассела и Р. Берча «Принципы гуманной методики эксперимента», в которой сформулирована концепция «3R», способствовал разработке и внедрению методов *in vitro*, некоторые из которых используют при разработке аналогов инсулина и их доклинических исследованиях [24].

Для унификации подходов к испытаниям субстанций и препаратов инсулина человека, а также его аналогов и биоподобных препаратов, согласно Правилам ЕАЭС, для выявления любых значимых различий между биоподобным и референтным препаратами в опытах *in vitro* необходимо провести следующие действия:

- подтвердить чувствительность используемого метода;
- выполнить испытания с необходимым числом повторностей, разведений или временных точек на кривой с целью правильного определения линии дозозависимости;
- для подтверждения эффективности аналога инсулина или биоподобного препарата провести рецепторно-связывающий анализ в сравнении с референтным лекарственным препаратом;
- сравнить биологическую активность параллельно в одном эксперименте на этапах ауто-

фосфорилирования рецептора и метаболического ответа для биоподобного и референтного препаратов. Для подтверждения значимых различий требуется достаточно широкий диапазон методов (не менее трех);

- включить во все испытания надлежащие контроли, подтверждающие валидность и пригодность метода.

В настоящее время среди исследователей и разработчиков аналогов инсулина нет единого мнения в интерпретации терминов «биологическая активность» и «эффективность»⁶.

В Правилах ЕАЭС под биологической активностью подразумеваются результаты испытаний на всех этапах сигнального пути внутри клетки, начиная с рецепторно-связывающего анализа и включая аутофосфорилирование рецептора, метаболический ответ, а также поглощение глюкозы и липогенез.

Результаты подобных испытаний свидетельствуют скорее об эффективности препарата, его способности влиять на конкретные процессы, протекающие в клетке, а не о биологической активности, которую фактически можно оценить только в опытах *in vivo*. В опытах на животных биологическая активность отражает действие гормона, определяемое по величине снижения уровня глюкозы в крови. Полученную биологическую активность можно выразить в МЕ и приравнять к определенному количеству инсулина. В то же время при работе с клеточными культурами, в зависимости от методики, полученные результаты выражают в различных единицах измерения, например в процентах, в единицах концентрации исследуемого вещества при определении средней эффективной дозы (EC_{50}), в единицах радиоактивности и др.

Следовательно, в случае испытаний *in vitro* о биологической активности можно говорить лишь условно.

Несмотря на разнообразие методик, выполняемых *in vitro* при определении активности инсулина и его аналогов, в их основе лежат общие принципы проведения испытаний:

- используют несколько доз инсулина и/или его аналогов;
- учитывают результаты опытов с помощью измерения радиоактивности;
- анализируют полученные S-образные кривые дозозависимости четырехпараметрическим методом⁷.

Рецепторно-связывающий анализ. Метод основан на количественной оценке сродства лигандов (немеченого инсулина и инсулина, меченого радиоактивными изотопами) в ходе их конкурентного взаимодействия с инсулиновыми рецепторами ИР-1

или ИР-2 разных клеточных культур, проявляющих высокую экспрессию этих рецепторов. При моделировании ситуации, когда количество лигандов больше, чем рецепторов, возникает конкуренция за них. При этом уровень связывания меченого лиганда будет ниже, так как немеченый лиганд замещает меченый в комплексе с рецептором [25]. Испытания, как правило, проводят на гепатоцитах, адипоцитах, миоцитах, яйцеклетках китайского хомячка и др. [10, 17, 18].

Силу связывания (аффинность) аналогов инсулина с рецепторами определяют при сравнении с человеческим рекомбинантным инсулином. Для ее определения проводят измерение радиоактивности исследуемых образцов и рассчитывают дозу, при которой происходит активация 50 % рецепторов (полумаксимальная эффективная концентрация IC_{50}) [10, 16, 19, 20, 26]. Относительную аффинность аналога инсулина рассчитывают как соотношение между значениями IC_{50} для референтного человеческого инсулина и испытуемого препарата.

Фосфорилирование. При взаимодействии инсулина или его аналога с α -субъединицей рецептора происходит процесс аутофосфорилирования, который позволяет судить об эффективности аналогов инсулина *in vitro*. При участии специфических ферментов-протеинкиназ и фосфатаз фосфатная группа аденозинтрифосфорной кислоты обратимо присоединяется к аминокислотным остаткам серина, треонина или тирозина β -субъединицы рецептора инсулина, то есть начинается процесс фосфорилирования, который запускает передачу сигнала в клетке. Этот процесс является основным механизмом контроля и регуляции ферментативной активности белков клетки, а также передачи сигнала при различных внеклеточных воздействиях [30].

Наиболее удобными и хорошо изученными моделями определения эффективности инсулина с помощью оценки фосфорилирования белков в клетке являются изолированные адипоциты, клетки китайского хомячка и крысиные фибробласты [26, 29, 31].

Использование изотопов, например ^{32}P или ^{125}I , позволяет с помощью радиоиммунного анализа определять активность киназ, играющих ведущую роль во внутриклеточной сигнальной системе инсулиновых рецепторов [10, 27, 32, 33].

Для косвенного подтверждения степени фосфорилирования инсулинового рецептора и протеинкиназ используют колориметрический МТТ-тест, получивший свое название от одноименного красителя: 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ). Данный тест позволяет оценивать пролиферативную активность в жизнеспособных клетках [34].

⁶ Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

⁷ ОФС.1.1.0014.15. Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Метаболическая активность. В процессе поиска эффективных аналогов инсулина изучают их метаболическую активность, которую определяют при сравнении с инсулином человека по интенсивности поглощения глюкозы или ее производных клеточными культурами, а также по количеству образующихся в них липидов. В качестве радиоактивных меток для глюкозы и ее производных применяют изотопы йода (^{125}I), водорода (^3H) и углерода (^{14}C). Тест-объектами служат адипоциты крыс, мышей или человека, иногда фибробласты человека.

Анализ литературных данных показал, что авторы, работая на разных моделях, получали крайне противоречивые результаты. Одни авторы на примере определения липогенеза и поглощения адипоцитами крыс меченой глюкозы показали, что при сравнении инсулина человека с гларгином, его метаболитами и различными экспериментальными аналогами инсулина их эффективность может как в несколько раз превышать эффективность инсулина, так и быть значительно ниже. В то же время другие авторы при исследовании активности экспериментальных аналогов инсулина по поглощению 2-дезоксид- ^{14}C -глюкозы адипоцитами мышей получили более низкие значения, чем у инсулина человека [18, 27, 31].

Изучение метаболической активности широко применяемых в настоящее время в лечебной практике аналогов инсулина показало, что в зависимости от условий испытаний и применяемых тест-объектов также можно получить абсолютно разные результаты. Например, при сравнительном исследовании на адипоцитах мышей влияния инсулина гларгина и инсулина человека на метаболизм жиров (липолиз и липогенез) было обнаружено, что эффективность инсулина гларгина была значительно ниже, чем инсулина человека [29]. В то же время в других работах, при использовании кардиомиоцитов крыс, на примере поглощения глюкозы было показано, что инсулин гларгин и другие аналоги инсулина человека по метаболической активности сравнимы с человеческим инсулином [10, 18, 19, 31, 35].

Из анализа литературных источников очевидно, что наличие противоречивых результатов свидетельствует об отсутствии стандартизованных условий проведения испытаний и является одним из основных препятствий для получения сопоставимых результатов.

Более полные сведения об эффективности аналогов инсулина могут быть получены при использовании нескольких методов *in vitro*, отражающих разные этапы сигнального пути [9, 10, 17, 26, 31]. Тем не менее даже такой подход не может полностью воспроизвести ответ целостного организма на введение инсулина.

АКТУАЛЬНОСТЬ РАЗРАБОТКИ АЛЬТЕРНАТИВНОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИНСУЛИНА, АДЕКВАТНОГО ФАРМАКОПЕЙНОМУ

Анализ научной литературы и нормативной документации, касающейся методов определения биологической активности инсулина и его аналогов, показал, что при разработке и контроле качества аналогов инсулина сложилась устойчивая тенденция к сокращению использования методов *in vivo*. При этом методы *in vitro* используют в основном на этапе разработки нового продукта, а в нормативную документацию на готовый препарат включают физико-химические методы (ВЭЖХ, пептидное картирование), результаты которых стали приравнивать к величине биологической активности, что неправомерно, так как физико-химические методы контроля позволяют подтверждать первичную и вторичную структуру действующего вещества, а также количество белка, выраженное в единицах массы⁸. Однако эти методы не дают информации о конформации белка, от которой может зависеть биологическая активность, количественно характеризующая специфическое действие препарата на организм, выраженная в МЕ. Это подтверждается требованиями Фармакопеи США⁹, где говорится, что, как бы ни были точны физико-химические фармакопейные методы количественного определения инсулина (например, жидкостная хроматография), с помощью этих методов нельзя оценить биологическую активность и биоидентичность.

В проанализированных источниках не было убедительно показано, что использованные методы *in vitro* являются адекватной заменой методам *in vivo*. На сегодняшний день не удастся найти закономерность между результатами определения биологической активности на животных и на клеточных культурах. В первую очередь это связано с тем, что в основе определения биологической активности *in vivo* и испытаний *in vitro* лежат разные физиологические процессы. Одним из возможных подходов в разрешении данной проблемы может быть создание стандартных образцов аналогов инсулина, аттестованных, с одной стороны, в МЕ для испытаний *in vivo*, а с другой — в соответствующих единицах измерения для каждого конкретного метода *in vitro*, учитывающих его специфику.

На сегодняшний день методики *in vitro* следует рассматривать лишь как скрининговые. Их роль, несомненно, важна на этапе разработки и исследования новых аналогов инсулина.

Другим немаловажным препятствием внедрению методов *in vitro* в рутинный контроль является то, что большинство из них трудоемки. К тому же

⁸ Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89.

⁹ United States Pharmacopeia. 41th ed. (<121> Insulin Assays).

их выполнение требует использования диагностических наборов, в состав которых входят радиоактивные вещества, имеющие очень короткий срок годности и требующие особых условий работы.

Исключение показателя «Биологическая активность», определяемого на животных, из большинства фармакопей мира и отсутствие в настоящее время альтернативных методов, способных адекватно оценить качество инсулина по данному показателю, вызывает опасение, особенно в связи с окончанием действия патентов на производство препаратов инсулина и его аналогов. Вследствие этого на фармацевтическом рынке наряду с аналогами инсулина появились биоподобные препараты, которые стали производить уже во многих странах мира, включая Китай, Индию, Пакистан, Перу, Таиланд, Мексику, Польшу.

При этом неизбежные различия в технологических процессах могут привести к получению препаратов со свойствами, отличными от оригинальных. Очевидно, это может относиться и к биологической активности. Согласно требованиям ЕМА, биоподобные препараты «должны обладать высокой степенью сходства с оригинальными препаратами по физико-химическим и биологическим свойствам» [13, 36, 37].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, очевидно, что для оценки качества биоподобных препаратов необходим ком-

плексный подход. На сегодняшний день определение биологической активности на животных (метод двойного перекреста) остается единственным для надлежащего контроля качества препаратов инсулина и его аналогов. Только совместный контроль по физико-химическим и биологическим показателям с высокой степенью достоверности может подтвердить сходство биоподобных препаратов с оригинальными.

В то же время, учитывая мировую тенденцию сокращения использования животных в испытаниях, следует искать подходы к разработке простых и надежных методов определения биологической активности *in vitro*, результаты которых были бы сопоставимы с фармакопейным методом *in vivo*. Такие методы будут способствовать сохранению контроля качества препаратов инсулина на надлежащем уровне.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР AAAA-A18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Прозоровский ВН, Лохов ПГ, Маслов ДЛ, Ипатова ОМ. Структурно-функциональные особенности инсулина и механизма его действия. *Биомедицинская химия*. 2003;49(1):46–62. [Prozorovskiy VN, Lokhov PG, Maslov DL, Ipatova OM. Structurally functional features of insulin and mechanism of its action. *Biomeditsinskaya khimiya = Bio-medical Chemistry*. 2003;49(1):46–62 (In Russ.)] PMID: 14569873
2. Zaykov AN, Mayer JP, DiMarchi RD. Pursuit of a perfect insulin. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15(6):425–39. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.36>
3. Баирамашвили ДИ. Генноинженерный инсулин человека: успехи и перспективы. *Российский химический журнал*. 2005;XLIX(1):34–45. [Bairamashvili DI. Genetically engineered human insulin: success and prospects. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal = Russian Journal of General Chemistry*. 2005;XLIX(1):34–45 (In Russ.)]
4. Селиванова ОМ, Гришин СЮ, Глякина АВ, Садгян АС, Ушакова НИ, Глазитская ОВ. Анализ аналогов инсулина и стратегия их дальнейшей разработки. *Успехи биологической химии*. 2018;58:313–46. [Selivanova OM, Grishin SYu, Glyakina AV, Sadgyan AS, Ushakova NI, Glazitskaya OV. Analysis of insulin analogues and strategy for their further development. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry*. 2018;58:313–46 (In Russ.)]
5. Nilsson MR. Insulin amyloid at injection sites of patients with diabetes. *Amyloid*. 2016;23(3):139–47. <https://doi.org/10.1080/13506129.2016.1179183>
6. Home P, Riddle M, Cefalu WT, Bailey CJ, Bretzel RG, Del Prato S, et al. Insulin therapy in people with type 2 diabetes: opportunities and challenges? *Diabetes Care*. 2014;37(6):1499–508. <https://doi.org/10.2337/dc13-2743>
7. de Galan BE. Insulin glargine 300 U/mL in the management of diabetes: clinical utility and patient perspectives. *Patient Prefer Adherence*. 2016;(10):2097–106. <https://doi.org/10.2147/PPA.S92123>
8. Vigneri R, Squatrito S, Sciacca L. Insulin and its analogs: actions via insulin and IGF receptors. *Acta Diabetol*. 2010;47(4):271–8. <https://doi.org/10.1007/s00592-010-0215-3>
9. Vølund A, Brange J, Drejer K, Jensen I, Markussen J, Ribbel U, et al. *In vitro* and *in vivo* potency of insulin analogues designed for clinical use. *Diabet Med*. 1991;8(9):839–47. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.1991.tb02122.x>
10. Werner H, Chantelau EA. Differences in bioactivity between human insulin and insulin analogues approved for therapeutic use — compilation of reports from the past 20 years. *Diabetol Metab Syndr*. 2011;3:13. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-3-13>
11. EDQM: Insulin glargine [draft monograph]. *Pharmeuropa Online*. 2011;23:327–28.
12. Шестакова МВ, Викулова ОК. Биосимиляры: презумпция «виновности». *Сахарный диабет*. 2011;(4):91–9. [Shestakova MV, Vikulova OK. Biosimilars: presumption of «guilt». *Sakharny diabet = Diabetes Mellitus*. 2011;(4):91–9 (In Russ.)]
13. Heinemann L, Owens D. Biosimilar insulin and insulin antibodies. *J Diabetes Sci Technol*. 2013;7(4):806–7. PMID: 23911160
14. Gough S. Biosimilar insulins: opportunities and challenges. *Practical Diabetes*. 2013;30(4):146–7a. <https://doi.org/10.1002/pdi.1763>
15. Проскурина ИА, Майоров АО, Горячев ДВ, Бунятян НД. Современные подходы к оценке фармакокинетики и фармакодинамики биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека в рамках I фазы клинического исследования. *Сахарный диабет*. 2016;19(3):251–9. [Proskurina IA, Mayorov AY, Goryachev DV, Bunyatyan ND. Modern approach to the evaluation of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of biosimilar recombinant human insulin and insulin analogues in phase I clinical study. *Sakharny diabet = Diabetes Mellitus*. 2016;19(3):251–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14341/DM2003446-49>

16. Творогова МГ, Яськова КН, Мычка ВБ, Чазова ИЕ. Инсулинорезистентность и методы ее диагностики. *Лабораторная медицина*. 2003;(6):48–52. [Tvorogova MG, Yas'kova KN, Mychka VB, Chazova IE. Insulin resistance and methods of its diagnosis. *Laboratornaya meditsina = Laboratory Medicine*. 2003;(6):48–52 (In Russ.)]
17. Sorensen AR, Stidsen CE, Ribel U, Nishimura E, Sturis J, Jonassen I, et al. Insulin detemir is a fully efficacious, low affinity agonist at the insulin receptor. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(8):665–73. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2010.01206.x>
18. Kohn WD, Micanovic R, Myers SL, Vick AM, Kahl SD, Zhang L, et al. pl-shifted insulin analogs with extended *in vivo* time action and favorable receptor selectivity. *Peptides*. 2007;28(4):935–48. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.01.012>
19. Wada T, Azegami M, Sugiyama M, Tsuneki H, Sasaoka T. Characteristics of signalling properties mediated by long-acting insulin analogue glargine and detemir in target cells of insulin. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008;81(3):269–77. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2008.05.007>
20. Jonassen I, Havelund S, Ribel U, Plum A, Loftager M, Hoeg-Jensen T, et al. Biochemical and physiological properties of a novel series of long-acting insulin analogs obtained by acylation with cholic acid derivatives. *Pharm Res*. 2006;23(1):49–55. <https://doi.org/10.1007/s11095-005-9047-1>
21. Brunner GA, Sendhofer G, Wutte A, Ellmerer M, Sogaard B, Siebenhofer A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of long-acting insulin analogue NN304 in comparison to NPH insulin in humans. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2000;108(2):100–5. <https://doi.org/10.1055/s-2000-5887>
22. Plank J, Bodenlenz M, Sinner F, Magnes C, Gorzer E, Regittnig W, et al. A double-blind, randomized, dose-response study investigating the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of the long-acting insulin analog detemir. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1107–12. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.5.1107>
23. Hamilton-Wessler M, Ader M, Dea M, Moore D, Jorgensen PN, Markussen J, et al. Mechanism of protracted metabolic effects of fatty acid acylated insulin, NN304, in dogs: retention of NN304 by albumin. *Diabetologia*. 1999;42(10):1254–63. <https://doi.org/10.1007/s001250051301>
24. Russell WMS, Burch RL. *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen; 1959.
25. Ломин СН, Романов ГА. Анализ гормон-рецепторного взаимодействия. Теоретические и практические аспекты. *Физиология растений*. 2008;55(2):283–99. [Lomin SN, Romanov GA. Analysis of hormone-receptor interaction. Theoretical and practical aspects. *Fiziologiya rasteniy = Plant Physiology*. 2008;55(2):283–99 (In Russ.)]
26. Kurtzhals P, Schaffer L, Sorensen A, Kristensen C, Jonassen I, Schmid C, et al. Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. *Diabetes*. 2000;49(6):999–1005. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.6.999>
27. Sommerfeld MR, Muller G, Tschank G, Seipke G, Habermann P, Kurrle R, et al. *In vitro* metabolic and mitogenic signaling of insulin glargine and its metabolites. *PLoS One*. 2010;5(3):e9540. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009540>
28. Bahr M, Kolter T, Seipke G, Eckel J. Growth promoting and metabolic activity of the human insulin analogue [Gly^{A21}, Arg^{B31}, Arg^{B32}] insulin (HOE 901) in muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 1997;320(2–3):259–65. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00903-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00903-X)
29. Fawcett J, Tsui BT, Kruer MC, Duckworth WC. Reduced action of insulin glargine on protein and lipid metabolism: possible relationship to cellular hormone metabolism. *Metabolism*. 2004;53(8):1037–44. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2004.02.013>
30. Завьялова МГ, Згода ВГ, Николаев ЕН. Определение роли фосфорилирования белков в развитии заболеваний. *Биомедицинская химия*. 2017;63(2):101–14. [Zavialova MG, Zgoda VG, Nikolaev EN. Analysis of contribution of protein phosphorylation in the development of the diseases. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry*. 2017;63(2):101–14 (In Russ.)] <https://doi.org/10.18097/PBMC20176302101>
31. Hansen BF, Danielsen GM, Drejer K, Sorensen AR, Wiberg FC, Klein HH, et al. Sustained signalling from the insulin receptor after stimulation with insulin analogues exhibiting increased mitogenic potency. *Biochem J*. 1996;315(Pt 1):271–9. <https://doi.org/10.1042/bj3150271>
32. Freidenberg GR, Henry RR, Klein HH, Reichart DR, Olefsky JM. Decreased kinase activity of insulin receptors from adipocytes of non-insulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Invest*. 1987;79(1):240–50. <https://doi.org/10.1172/JCI112789>
33. Sciacca L, Cassarino MF, Genua M, Pandini G, Le Moli R, Squatrito S, Vigneri R. Insulin analogues differently activate insulin receptor isoforms and post-receptor signalling. *Diabetologia*. 2010;53(8):1743–53. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1760-6>
34. Черепович ВС, Волочник ЕВ, Антоненко УВ, Лоткова ЕС, Романовская ТВ, Гринев ВВ. Оптимизация критических параметров МТТ-теста для оценки клеточной и лекарственной токсичности. *Медицинский журнал*. 2006;(2):106–8. [Cherepovich VS, Volochnik EV, Antonenko UV, Lotkova ES, Romanovskaya TV, Grinev VV. Optimization of critical parameters of the MTT test to assess cellular and drug toxicity. *Meditsinskiy zhurnal = Medical Journal*. 2006;(2):106–8 (In Russ.)]
35. Rakatzi I, Seipke G, Eckel J. [LysB3, GluB29] insulin: a novel insulin analog with enhanced β -cell protective action. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;310(3):852–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.09.090>
36. Хасабов НН, Земскова НА. Биологические лекарственные средства и их биоаналоги: определение, вопросы качества, идентичности и безопасности. *Вестник Росздравнадзора*. 2008;(6):34–8. [Khasabov NN, Zemskova NA. Biological medicinal products and their biosimilars: definition, quality, identity and safety issues. *Vestnik Roszdravnadzora = Bulletin of Roszdravnadzor*. 2008;(6):34–8 (In Russ.)]
37. Спасов АА, Воронкова МП, Чепляева НИ, Проскурина ИА. Доклинические исследования аналогов инсулина. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2012;(4):58–61. [Spasov AA, Voronkova MP, Cheplyayeva NI, Proskurina IA. Preclinical studies of insulin analogues. *Vedomosti Nauchno-go tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2012;(4):58–61 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Батуашвили Тамара Ариеловна, канд. биол. наук. Tamara A. Batushvili, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2656-8131>
Симутенко Людмила Васильевна, канд. биол. наук. Ludmila V. Simutenko, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2373-8756>
Шадрин Павел Валерьевич. Pavel V. Shadrin. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7143-8227>
Неугодова Наталья Петровна, канд. биол. наук. Natalia P. Neugodova, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8615-952X>

Статья поступила 29.01.2019
После доработки 10.04.2019
Принята к печати 24.05.2019

Article was received 29 January 2019
Revised 10 April 2019
Accepted for publication 24 May 2019

Сравнительные исследования аналогов биотехнологических лекарственных препаратов

О. Б. Талибов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный
медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Делегатская ул., д. 20, стр. 1, Москва, 127473, Российская Федерация

Резюме. В статье описаны особенности разработки и исследования аналогов биотехнологических препаратов. Цель работы — анализ путей проведения сравнительных исследований биотехнологических лекарственных препаратов и основных подходов к оценке совокупности полученных в этих исследованиях данных. В работе отмечено, что вариабельность химических и фармакологических характеристик биотехнологических препаратов значительно выше, чем низкомолекулярных лекарственных препаратов. Проанализированы причины этого явления, описаны механизмы, лежащие в основе микрогетерогенности белковых молекул, в первую очередь посттрансляционная модификация. Влияние последней на фармакокинетические параметры, фармакодинамику и иммуногенность сложных белковых молекул повышает вариабельность показателей и затрудняет проведение исследований биоэквивалентности. Процесс исследования аналогов биотехнологических лекарств кроме тестирования биоэквивалентности должен включать сравнительные исследования фармакодинамики, изучение терапевтической эквивалентности и иммуногенности. Показано, что оценка сопоставимости препаратов должна осуществляться на основании изучения совокупности представленных данных, что требует более гибкого, а иногда индивидуального подхода со стороны регуляторных органов.

Ключевые слова: биотехнологические лекарственные препараты; моноклональные антитела; биоаналоги; микрогетерогенность; посттрансляционная модификация; фармакокинетика; фармакодинамика; клинические исследования

Для цитирования: Талибов ОБ. Сравнительные исследования аналогов биотехнологических лекарственных препаратов. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):93–100. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-93-100>

Контактное лицо: Талибов Олег Букарович; oleg.talibov@gmail.com

Comparative Studies of Biosimilar Medicinal Products

O. B. Talibov

A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
20/1 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russian Federation

Abstract. The article describes specific aspects of biosimilars research and development. The aim of the study was to analyse the ways to conduct comparative studies of biotechnological medicinal products and the main approaches to the assessment of the obtained data. The paper highlights that biotechnological products are associated with a much higher potential variability of chemical and pharmacological characteristics than small molecules. The author analyses the reasons of this phenomenon, describes mechanisms underlying the microheterogeneity of protein molecules, primarily post-translational modification. The latter has an impact on the pharmacokinetic parameters, pharmacodynamics and immunogenicity of complex protein molecules, which increases the variability of test results and makes it difficult to conduct bioequivalence studies. In addition to bioequivalence studies, biosimilars research should include comparative studies of pharmacodynamics, evaluation of therapeutic equivalence and immunogenicity. Assessment of the medicines comparability should be based on the analysis of all data provided, which requires a more flexible and sometimes individual approach on the part of regulatory authorities.

Key words: biotechnological medicinal products; monoclonal antibodies; biosimilars; microheterogeneity; post-translational modification; pharmacokinetics; pharmacodynamics; clinical trials

For citation: Talibov OB. Comparative studies of biosimilar medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):93–100. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-93-100>

Corresponding author: Oleg B. Talibov; oleg.talibov@gmail.com

Идея использования биологических лекарственных препаратов, от вакцин и инсулина до эритропоэтинов и интерферонов, не нова, опыт их медицинского применения насчитывает уже несколько десятков лет. Успехи трансляционной медицины последних лет, породившие открытие и совершенствование новых методов промышленного получения биомолекул с направленной активностью, привели к взрывообразному росту количества биологических лекарств.

Согласно дефинициям, приведенным в Правилах проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (ЕАЭС)¹ (далее Правила ЕАЭС), биологические лекарственные препараты — это лекарственные препараты, действующее вещество которых произведено и выделено из биологического источника, и для характеристики свойств и контроля качества которых необходимо сочетание биологических и физико-химических методов анализа с оценкой производственного процесса и методов его контроля (концепция «продукт — есть процесс»). Среди таких препаратов выделяют биотехнологические лекарственные препараты, производимые с использованием технологии рекомбинантных ДНК, контролируемой экспрессии генов, кодирующих выработку биологически активных белков, а также гибридных технологий, моноклональных антител или других биотехнологических процессов.

К настоящему времени многие из коммерческих биологических препаратов уже потеряли свою патентную защиту, что привело к необходимости оценки эквивалентности выходящих на рынок воспроизведенных препаратов, которые ввиду существенных отличий от воспроизведенных препаратов низкомолекулярных соединений получили особое название — биоаналогичные или биоподобные лекарственные препараты. Для описания подобных биоаналогов в 2004 г. в европейское законодательство был введен термин «биоподобный продукт» (similar biological medicinal product)², или сокращенно — «биосимиляр» (biosimilar). Первый биоаналог, соматропин, был зарегистрирован в Евросоюзе в 2006 г.³ На сегодняшний день на рынки разных стран было выведено около четырех десятков биоаналогов [1, 2].

Согласно строгому определению, данному в Правилах ЕАЭС, «биоаналогами являются биологические лекарственные препараты, которые содержат версию действующего вещества зарегистрированного биологического оригинального

(референтного) препарата, и для которых продемонстрировано сходство (подобие) на основе сравнительных исследований с оригинальным (референтным) препаратом по показателям качества, биологической активности, эффективности и безопасности».

В отличие от препаратов, действующим веществом которых являются низкомолекулярные соединения (получаемые методом химического синтеза или выделяемые из природных источников, с массой не более сотен, реже тысяч дальтон), характеристики биотехнологических лекарственных препаратов отличаются потенциально высокой вариабельностью химических и фармакологических параметров конечного продукта, в том числе произведенного даже одним производителем. Проблемы могут быть связаны как с использованием разных клеточных линий, разными условиями культивирования продуцентов и контаминацией вещества продуктами их жизнедеятельности, так и с особенностями посттрансляционной модификации получаемого белка, подробное описание которой будет дано ниже.

В случае модификации оригинального производственного процесса производитель обычно предоставляет результаты исследований сопоставимости характеристик продуктов, полученных с помощью исходного и модифицированного процессов. При разработке биоаналогичного препарата производитель должен провести исследования сопоставимости в рамках оценки биоподобия, представляющие собой комплекс фармацевтических и биологических испытаний, а также доклинических и клинических исследований, направленных на подтверждение отсутствия клинически значимых различий между оригинальным и биоаналогичным лекарственными препаратами⁴.

Цель работы — описание путей проведения сравнительных исследований биотехнологических лекарственных средств (как оригинальных, так и воспроизведенных) и основных подходов к оценке совокупности полученных в этих исследованиях данных.

ОСНОВНЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОАНАЛОГОВ И ВОСПРОИЗВЕДЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЕЩЕСТВ

Природа низкомолекулярных лекарственных препаратов определяет то, что характеристики конечного продукта в целом не зависят от параметров производства. Условия процесса производства действующих веществ могут влиять на профиль род-

¹ Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. Утверждены Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89.

² European Commission Directive 2003/63/EC amending Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council, on the Community code relating to medicinal products for human use. 25 June 2003.

³ Omnitrope, European Public Assessment Report, 12 April 2006.

Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Scientific_Discussion/human/000607/WC500043692.pdf.

⁴ Там же.

ственных и производных примесей, полиморфные формы и распределение частиц по размеру, однако структура низкомолекулярного вещества и его биологические свойства от процесса производства не зависят. Поэтому для регистрации воспроизведенных препаратов достаточно продемонстрировать наличие фармацевтической эквивалентности и эквивалентной биодоступности (биоэквивалентности). Первое определяет идентичность входящего в состав лекарства действующего вещества (включая стереохимические свойства) и профиля примесей, а второе — близкие к оригинальному препарату параметры поступления действующего вещества к своей мишени (биодоступности), для определения которых достаточно, как правило, изучения характеристик абсорбции действующего вещества после однократного приема препаратов разных производителей.

Биологические препараты включают в себя лекарства разных групп: эритропоэтины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, инсулины, другие гормоны белкового происхождения, факторы свертывания крови, низкомолекулярные гепарины, вакцины, гибридные белки, моноклональные антитела, ферменты. Большинство биологических молекул в клинической практике являются рекомбинантными белками, которые, в отличие от низкомолекулярных веществ, обладают вариабельностью, зависящей как от особенностей продуцента, так и от условий производства, хранения и применения (в том числе используемых растворителей и упаковки). Несмотря на то, что современные технологии позволяют достоверно воспроизводить белковые молекулы на уровне первичной структуры (аминокислотной последовательности), трудности при создании биоаналогов связаны со следующими аспектами:

- сложностью точного повторения мельчайших особенностей структуры белковой молекулы;
- недостатками аналитических методов, которые позволили бы с высокой точностью эти особенности оценить и сравнить [3];
- отсутствием полного понимания, как различия физико-химических параметров (которые неизбежны) влияют на показатели клинической эффективности и безопасности, что и влечет за собой необходимость оценки клинической значимости таких различий.

Одной из типичных причин различий, казалось бы, идентичных белковых молекул (под идентичностью подразумевается одинаковая аминокислотная последовательность) является так называемая посттрансляционная модификация (ПТМ) белков, которая, наряду с альтернативным сплайсингом,

обуславливает разнообразие белков в клетке. Предполагается, что ПТМ подвергается большинство известных белков человека; при этом один и тот же белок может иметь различные ПТМ. Такие модификации могут определять стабильность белка в клетке, регулировать биологическую активность, влиять на взаимодействия с другими биологическими макромолекулами, опосредовать иммуногенность. ПТМ могут быть как необходимым условием созревания белка в качестве биологически активной единицы, так и приводить к его инактивации [4].

Распространенными примерами посттрансляционной модификации являются:

- N- или O-гликозилирование — присоединение углеводного фрагмента, как правило, к остаткам аспарагина, лизина, серина или треонина;
- гликирование — неферментное присоединение восстанавливающей формы углеводов к аминок группам белков;
- ацетилирование — присоединение ацетильной группы ($-\text{COCH}_3$) к α -аминогруппе пептидной цепи;
- метилирование — присоединение метильной ($-\text{CH}_3$) группы, обычно к лизину или аргинину;
- фосфорилирование — присоединение фосфатной ($-\text{H}_2\text{PO}_4$) группы, как правило, к остаткам серина, треонина или тирозина.

Другими посттрансляционными процессами, приводящими к модификации, могут быть модификации главной цепи, причиной которых являются гидролиз пептидной связи, присоединение других функциональных групп (например, йодирование, сульфонирование, пренилирование, S-пальмитирование), окисление, деамидирование и дезаминирование и т. д.

Изменение третичной и четвертичной структуры белков может быть связано с разрывом (восстановлением) и образованием (окислением) дисульфидных связей. Также возможны модификации, связанные с ковалентным присоединением других небольших белковых структур, например убиквитина и SUMO-белков (Small Ubiquitin-like Modifier) [4, 5].

Перечисленные механизмы посттрансляционной модификации лежат в основе микрогетерогенности получаемых продуктов. Этот термин обозначает ситуацию, когда в любом образце биологического препарата, полученного из одного источника и максимально очищенного от родственных примесей, некоторые структурные параметры варьируют, то есть препарат представляет собой смесь целевого белка и родственных веществ⁵. Понятие микрогетерогенности распространяется не только

⁵ Родственная примесь — структурная версия целевого белка, профиль эффективности или безопасности которой хуже, чем у целевого белка. Родственное вещество — структурная версия целевого белка, профиль эффективности или безопасности которого схож с целевым белком.

на белковые молекулы, о которых в основном идет речь в настоящей статье, но и на полисахариды (например, гепарины).

Степень микрогетерогенности, присущая препаратам даже внутри одной промышленной серии, может увеличиваться при сравнении между собой различных серий и, предположительно, оказывается еще выше при выпуске продукта на разных производственных площадках [6]. Необходимо принимать во внимание, что микрогетерогенность потенциально способна не только изменять фармакокинетические и фармакодинамические свойства препарата, но может повлиять и на иммунный ответ организма [7].

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОАНАЛОГОВ И ОРИГИНАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В отличие от стандартного тестирования эквивалентности воспроизведенных препаратов (низкомолекулярных веществ) сравнительная оценка биоподобия биологических препаратов предусматривает более сложный процесс. На него влияют особенности биоаналогов, а именно:

- отсутствие единой надежной лабораторной методики, которая позволила бы сделать заключение о влиянии микрогетерогенности, посттрансляционных модификаций и возможных контаминаций на биоподобие сравниваемых продуктов;
- высокая вариабельность фармакокинетических параметров изучаемых продуктов, например различия в зависящем от протеаз клиренсе белкового препарата, связанном с различиями в профиле гликозилирования тестового и референтного препаратов;
- иммуногенность продуктов, приводящая к частичному связыванию их антителами, возможностью вызывать реакции гиперчувствительности;
- различия в связывании с мишенями;
- невозможность полностью исключить повышение аффинитета к другим мишеням, возникающее ввиду непредсказуемого влияния посттрансляционных модификаций на активность, либо возникающее в связи с этим изменение силы связи с основной мишенью.

Таким образом, заключение об эквивалентности препаратов биологического происхождения, полученное на основе сравнения их качественного и количественного состава (фармацевтическая эквивалентность) и сходства биодоступности (биоэквивалентность), является недостаточным для признания биоаналогичности.

Как правило, в обязательную программу сравнительного изучения биологических препаратов с целью подтверждения сопоставимой фармакодинамики и токсичности включается цикл доклинических исследований, спектр которых зависит от наличия потенциально значимых качественных

и количественных различий между биоаналогичным и референтным препаратами. В частности, если результаты комплексных *in vitro* исследований доказывают эквивалентность биологической активности биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата и не обнаруживают статистически значимых количественных различий, доклинические исследования *in vivo* не проводятся.

Кроме изучения фармакокинетики при проведении клинических исследований необходимым является проведение сравнительной клинической оценки фармакодинамических параметров биоаналогичного и оригинального продуктов (например, динамика конкретного биологического маркера его действия), клинической эффективности препаратов по влиянию на основные параметры эффективности, принятые для данной группы лекарств, сравнительное изучение иммунного ответа (формирование препарат-специфичных антител) и безопасности.

Особенности изучения сравнительной фармакокинетики биотехнологических препаратов. Общепринятым дизайном изучения воспроизведенных препаратов является перекрестный дизайн, когда один и тот же субъект исследования принимает как испытуемый, так и референтный препарат. Подобный подход позволяет нивелировать влияние фактора межсубъектной вариабельности на фармакокинетические параметры. Основными факторами, влияющими на разброс данных, получаемых в этом эксперименте, являются различия между самими препаратами и различия между субъектами в период первого и второго приемов. Другими факторами вариабельности, такими как влияние последовательности приемов испытуемого и референтного препаратов, зачастую можно пренебречь.

В исследовании биоаналогов такой подход далеко не всегда является приемлемым. Тому есть несколько причин:

- биотехнологические препараты обладают длительным периодом полувыведения ($t_{1/2}$). В ситуации, когда этот показатель составляет, например, 14 сут, следующее дозирование можно провести по истечении периода отмывки ($5t_{1/2} - 7t_{1/2}$), который даже при кинетике первого порядка может составить от двух до трех месяцев. Изменения в организме добровольца за три месяца могут существенно повысить внутрисубъектную вариабельность фармакокинетических параметров;

- введение белковых препаратов может приводить к формированию иммунного ответа к ним. В результате при повторном введении часть препарата будет опсонизирована, что может повлиять на скорость его элиминации из организма, а в случае применения препарата у пациентов и на его клиническую эффективность. Различные иммуногенные

свойства необходимо принимать во внимание также при переводе пациента с оригинального препарата на аналогичный и наоборот;

- многие биотехнологические препараты не могут вводиться здоровым добровольцам из этических соображений (это небезопасно, тем более с учетом длительности их циркуляции в организме). При введении пациентам основное течение заболевания и связанные с ним изменения организма приводят к еще большему, чем у здорового добровольца, повышению внутрисубъектной вариабельности (связанной не только с прогрессированием или регрессированием основной болезни, но и с различной в разные периоды сопутствующей терапией, а также возможными хирургическими вмешательствами);

- в случае с опухолями необходимо учитывать, что мишень-опосредованный клиренс биотехнологических препаратов может напрямую зависеть от клеточной массы опухоли, которая с высокой долей вероятности будет различной в двух периодах дозирования.

Таким образом, большинство сравнительных исследований фармакокинетики биотехнологических препаратов представляют собой исследования с параллельным дизайном (при котором одна группа субъектов получает испытуемый препарат, а вторая — референтный). Значительная часть исследований требует включения пациентов. Исключения составляют препараты, которые могут быть введены здоровым добровольцам без создания дополнительного риска для последних, например трастузумаб [8] и бевацизумаб [9], в исследованиях с параллельным дизайном у добровольцев-мужчин. Особенностью приведенных в качестве примера исследований была достаточно большая для исследований биоэквивалентности выборка: 132 и 102 добровольца соответственно. Размер выборки был продиктован параллельным дизайном, при котором основной вклад в разброс данных вносит межсубъектная вариабельность, значения которой всегда выше внутрисубъектной. Препараты с более коротким периодом полувыведения после первого применения, например ритуксимаб, теоретически позволяют провести исследование с перекрестным дизайном, однако в этом случае для минимизации возможного вреда для здоровых добровольцев выбирается очень низкая доза, параметры фармакокинетики которой не всегда демонстрируют линейность при увеличении дозы [10].

Описанные выше сложности при проведении сравнительных фармакокинетических исследований не всегда позволяют провести исследование на биоэквивалентность отношений значений средних геометрических площади под фармакокинетической кривой (AUC) и максимальной концентрации (C_{max}) в пределах привычных 90 % доверительных интервалов. Основная вариабельность

показателей может наблюдаться именно при оценке AUC , так как при внутривенном введении на показатель максимальной концентрации действует значительно меньше факторов, чем при пероральном применении препарата. В свою очередь, даже при сходных концентрациях в момент окончания инфузии препарата скорость его элиминации (как мишень-опосредованный, так и мишень-независимый клиренс) во многом зависит не только от возможной микрогетерогенности самого продукта, но и от свойств организма (активность протеаз, масса опухоли и т. д.). Обратная ситуация может наблюдаться, когда биотехнологический препарат вводится под кожу. В этом случае более уязвимым в плане потенциального разброса показателя становится C_{max} . Следует также учитывать, что оценка сопоставимости является более сложной, поскольку помимо абсорбции диспозиция (распределение и элиминация) биоаналога может отличаться от таковой референтного препарата. В связи с этим при оценке биоаналога по фармакокинетическим показателям помимо абсорбции должны исследоваться процессы распределения и элиминации (например, плазменный клиренс, объем распределения, период полувыведения).

При сравнении фармакокинетических параметров следует иметь в виду, что многие биотехнологические препараты имеют широкое терапевтическое окно (сходную эффективность при большом разбросе концентрационных параметров), поэтому различия AUC и C_{max} не всегда однозначно свидетельствуют в пользу различий терапевтического эффекта.

Регуляторные требования ЕАЭС в отсутствие обоснования иного предусматривают исследование на биоэквивалентность по первичному параметру $AUC_{0-\infty}$ (в случае многократного введения по параметру AUC_{0-1} кривая усечена до момента второго введения (рис. 1)) в стандартных пределах 90 % ДИ (доверительные интервалы) от 0,8 до 1,25 для биотехнологических препаратов, вводимых внутривенно. В случае подкожного введения появляется дополнительный первичный параметр C_{max} . Прочие параметры фармакокинетики, такие как кажущийся объем распределения (V_d), период полувыведения ($t_{1/2}$), клиренс (Cl), а также площадь под кривой в равновесном состоянии AUC_{τ} , могут изучаться и описываться, но расцениваются в качестве вторичных и дополнительных параметров и не берутся за основу тестирования биоэквивалентности. В исследованиях с многократным введением в качестве вторичного параметра тестирования биоэквивалентности рекомендуется использовать не C_{max} , оцениваемую после первого введения, а показатели стационарного состояния $C_{ss,min}$ и $C_{ss,max}$. Вместе с тем, если клиренс биологического препарата носит нелинейный характер, значения параметров для подтверждения

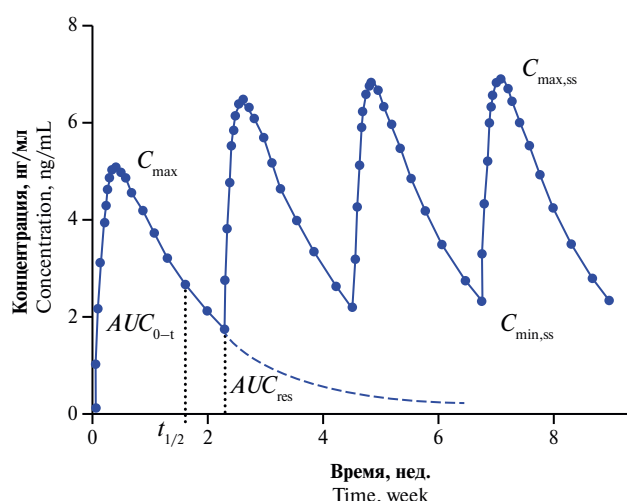


Рис. 1. Моделирование фармакокинетической кривой препарата с периодом полувыведения, равным 12 суткам. $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t}$ (площадь под фактически определенной кривой) + AUC_{res} (площадь под рассчитанной частью кривой)

Fig. 1. The pharmacokinetic model of a drug with a 12-day half-life. $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t}$ (area under the measured curve) + AUC_{res} (area under the extrapolated part of the curve)

биоаналогичности, характеризующих клиренс, включая частичные AUC , сильно повышаются⁶.

Регуляторные требования Евразийского экономического союза (ЕАЭС), Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA), Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) допускают расширение пределов, в которых оценивается биоэквивалентность, однако этот подход должен иметь научное обоснование. В качестве такого могут обсуждаться, например, крайне высокие показатели межсубъектной вариабельности, требующие включения в исследование нескольких сотен субъектов. Подобная ситуация может привести к тому, что на фоне доказанной терапевтической эквивалентности не удастся доказать сопоставимую биодоступность в рамках общепринятых пределов доверительных интервалов в связи с исходно очень высокой межсубъектной вариабельностью основных параметров фармакокинетики. В теории такая вариабельность способна вызвать затруднения при доказательстве биоэквивалентности даже для разных серий одного и того же препарата, производимого на одной и той же производственной площадке. При этом следует помнить, что допустимые потенциальные различия фармакокинетических параметров должны оправдываться широким терапевтическим окном лекарства (то есть значительным различием между минимальной эффективной и минимальной токсической концентрациями).

Сравнительное изучение фармакодинамики и эффективности биотехнологических препаратов.

В случае биологических лекарственных препаратов сходный фармакокинетический профиль может не гарантировать идентичности клинического эффекта и сходной переносимости. Микрогетерогенность может не иметь последствий для процессов распределения и элиминации, однако способна влиять на связь с мишенями и иммунные реакции. Эти особенности диктуют необходимость наряду с фармакокинетикой изучать и фармакодинамику препарата.

Несмотря на успехи трансляционной медицины, многие выделенные биомаркеры до сих пор не признаны в качестве валидированных суррогатных маркеров клинической активности лекарств, поэтому оценка кривых «доза — ответ» или «доза — концентрация — ответ» носит во многом вероятностный характер, хотя и служит важным вспомогательным параметром, позволяющим оценить воздействие препарата на мишень.

Ограниченные возможности этих исследований обусловлены следующими факторами:

- классические кривые оценки зависимости «концентрация — ответ» имеют S-образную форму. Нижняя часть кривой представляет собой пологий подъем, когда нарастание концентрации действующего вещества до определенного порога не дает выраженного ответа. Следующая часть, линейная (для логарифмически преобразованных показателей), описывает нарастание ответа на фоне нарастания дозы. В верхней части кривая приобретает асимптотический характер, при котором дальнейшее наращивание дозы не приводит к усилению эффекта. Подобные характеристики могут быть достаточно легко воспроизведены в условиях доклинической лаборатории, однако использование этого подхода у человека нередко этически не оправдано, так как требует применения различных, в том числе заведомо малоэффективных, доз на этапе наращивания концентрации. Высокие же дозы соответствуют асимптотической части кривой, то есть ситуации, когда нарушается линейное взаимоотношение «концентрация — ответ» (рис. 2);

- использование белковых препаратов у пациентов может быть сопряжено с формированием иммунного ответа, который способен исказить данные фармакодинамического исследования в ближайшей перспективе (повлиять на линейность нарастания эффекта), а также привести к сенсibilизации человека к препарату в случае его дальнейшего использования (даже при условии введения в малых дозах).

С учетом недостаточной информативности фармакодинамических исследований для оценки сопоставимости эффекта биотехнологических ле-

⁶ European Medicines Agency. Clinical pharmacology and pharmacokinetics: questions and answers. Q&A 7.1.

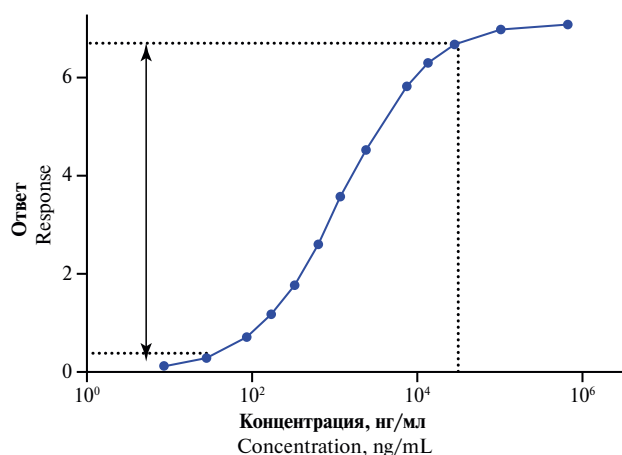


Рис. 2. Моделирование кривой «концентрация — ответ». Участок линейной зависимости силы ответа от логарифма концентрации указан стрелками

Fig. 2. The «dose — response» model. The segment of linear relationship between the response and the logarithm of concentration is pointed by arrows

карств проводятся сравнительные клинические исследования. В качестве параметров эффективности в таких исследованиях используются стандартные параметры, принятые для оценки действенности фармакотерапии конкретной патологии. Идеальной представляется ситуация, когда клиническое сопоставление биоаналога с оригинальным препаратом проводится в условиях исследования, сходного с тем, на основании которого оригинальный препарат был зарегистрирован. Однако эта возможность зачастую не может быть реализована ввиду изменения подходов как к стратегии лечения целевой патологии, так и к количественной оценке эффекта [11].

В отличие от сравнительных исследований низкомолекулярных веществ, в которых может тестироваться гипотеза не меньшей эффективности (для демонстрации используется оценка одностороннего доверительного интервала, превосходство тестируемого препарата над референтным все равно приводит к выводу о не меньшей эффективности), сравнительное изучение терапевтического эффекта биоаналогов предусматривает тестирование гипотезы эквивалентности. Это связано с тем, что микрогетерогенность теоретически может изменять свойства препарата в сторону усиления его эффекта. Причинами могут быть повышение аффинитета к мишеням, улучшенная фармакокинетика, появление дополнительных мишеней и т. д. В этом случае дальнейшая разработка препарата идет по пути позиционирования его в качестве «биобеттера» (biobetter) — сходного биологического препарата с улучшенными свойствами, то есть, в сущности, не биоаналогичного, но нового лекар-

ства [12], что влечет за собой необходимость реализации полноценной программы разработки нового лекарства.

Очевидным преимуществом проведения полномасштабных исследований терапевтической эквивалентности является возможность получения данных о переносимости, профиле безопасности препарата в условиях его реального терапевтического применения у пациентов, а также о его иммуногенном потенциале при многократном введении. Более того, в соответствии с рекомендациями ЕМА⁷ и Всемирной организации здравоохранения⁸ возможна и даже желательна оценка показателей фармакокинетической, иммуногенной и терапевтической эквивалентности в рамках одного клинического исследования. Такой подход позволяет оценить влияние фармакокинетических показателей и образования антител к препарату (при их наличии) на терапевтическую эффективность и безопасность препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время мы переживаем период расцвета биотехнологий, и совершенно очевидно, что количество биологических препаратов, которые появятся в ближайшее время на рынке, будет непрерывно расти. Если подходы по регистрации и допуску на рынок воспроизведенных препаратов «малых молекул» во многом сформированы и унифицированы, то регуляторные подходы к оценке сходства биомолекул формируются на наших глазах.

Аналитические методы, применяемые для анализа низкомолекулярных соединений, не меняются уже десятилетия, тогда как сравнительная аналитическая оценка биоаналогов и оригинальных препаратов требует альтернативных и более комплексных подходов. Зачастую изучение биоподобия препаратов ставит новые вопросы и позволяет выявить и описать новые свойства оригинальных препаратов, например существенную микрогетерогенность различных серий одного и того же препарата, влияющую на их фармакокинетические свойства. В качестве примера такой микрогетерогенности можно привести Эрбитукс (цетуксимаб), площади под фармакокинетической кривой которого различаются на 22 % (90 %, доверительные интервалы 6–38 %) для препаратов, зарегистрированных в зонах ответственности FDA и ЕМА⁹.

Вышеописанные особенности доклинической и клинической разработки биоподобных препаратов обязывают производителя к проведению более длительных, а также более комплексных и трудоемких исследований, что определяет как меньшую скорость появления биоаналогов, так и меньшую

⁷ Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev1. 2014.

⁸ Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotherapeutic products (SBPs). WHO 2016.

⁹ FDA Approved Drug Products. Erbitux. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/125084s269lbl.pdf.



Рис. 3. Фазы разработки и исследования оригинального биопрепарата и биоаналога

Fig. 3. Development stages and studies of the original biological drug and the biosimilar

разницу в стоимости между оригинальным и воспроизведенным препаратами (рис. 3). Эти же сложности требуют более гибкого (а иногда индивидуального) подхода со стороны регуляторов.

Современные регуляторные требования создают условия для более тщательного тестирования биоаналогов, что в конечном итоге, при условии качественного проведения исследований и предоставления доступа к результатам этих исследований широкой врачебной и научной общественности, может повысить доверие к выпускаемому на рынок продукту.

Благодарности. Автор выражает благодарность и глубокую признательность Ш.З. Арчуадзе (АО «Р-Фарм»), Р.Р. Ниязову (ООО «Центр научного консультирования») и В.О. Талибову (BMC, Uppsala University) за советы и ценные замечания, сделанные в ходе работы над этой статьей.

Acknowledgements. The author is very grateful to Sh.Z. Archuadze (JSC R-Pharm), R.R. Niyazov (Centre of Scientific Advice, ООО) and V.O. Talibov (BMC, Uppsala University) for their advice and valuable comments made during preparation of this article.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Schiestl M, Zabransky M, Sörgel F. Ten years of biosimilars in Europe: development and evolution of the regulatory pathways. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:1509–15. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S130318>
- Mielke J, Jilma B, Jones B, Koenig F. An update on the clinical evidence that supports biosimilar approvals in Europe. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(7):1415–31. <https://doi.org/10.1111/bcp.13586>
- Warren JB. Generics, chemisimilars and biosimilars: is clinical testing fit for purpose? *Br J Clin Pharmacol.* 2013;75(1):7–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04323.x>
- Walsh G, Jefferis R. Post-translational modifications in the context of therapeutic proteins. *Nat Biotechnol.* 2006;24(10):1241–52. <https://doi.org/10.1038/nbt1252>
- Knorre DG, Kudryashova NV, Godovikova TS. Chemical and functional aspects of posttranslational modification of proteins. *Acta Naturae.* 2009;1(3):29–51. PMID: 22649613
- Eleryan MG, Akhiyat S, Rengifo-Pardo M, Ehrlich A. Biosimilars: potential implications for clinicians. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2016;9:135–42. <https://doi.org/10.2147/CCID.S91691>
- Camacho LH, Frost CP, Abella E, Morrow PK, Whittaker S. Biosimilars 101: considerations for U.S. oncologists in clinical practice. *Cancer Med.* 2014;3(4):889–99. <https://doi.org/10.1002/cam4.258>
- Waller CF, Vutikullid A, Lawrence TE, Shaw A, Liu MS, Baczkowski M, et al. A pharmacokinetics phase 1 bioequivalence study of the trastuzumab biosimilar MYL-14010 vs. EU-trastuzumab and US-trastuzumab. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(10):2336–43. <https://doi.org/10.1111/bcp.13689>
- Knight B, Rassam D, Liao S, Ewesuedo R. A phase I pharmacokinetics study comparing PF-06439535 (a potential biosimilar) with bevacizumab in healthy male volunteers. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016;77(4):839–46. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-3001-2>
- Schoergenhofer C, Schwameis M, Firbas C, Bartko J, Derhaschnig U, Mader RM, et al. Single, very low rituximab doses in healthy volunteers — a pilot and a randomized trial: implications for dosing and biosimilarity testing. *Sci Rep.* 2018;8(1):124. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17934-6>
- Markus R, Liu J, Ramchandani M, Landa D, Born T, Kaur P. Developing the totality of evidence for biosimilars: regulatory considerations and building confidence for the healthcare community. *BioDrugs.* 2017;31(3):175–87. <https://doi.org/10.1007/s40259-017-0218-5>
- De Mora F. Biosimilar: what it is not. *Br J Clin Pharmacol.* 2015;80(5):949–56. <https://doi.org/10.1111/bcp.12656>

ОБ АВТОРЕ / AUTHOR

Талибов Олег Букарович, канд. мед. наук, доцент. *Oleg B. Talibov*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6381-2450>

Статья поступила 18.12.2018
После переработки 21.01.2019
Принята к печати 24.05.2019

Article was received 18 December 2018
Revised 21 January 2019
Accepted for publication 24 May 2019

Новые антиконвульсанты: проблемы взаимозаменяемости и применения воспроизведенных лекарственных препаратов в клинической практике

В. В. Архипов^{1,*}, Е. А. Сокова^{1,2}, Г. И. Городецкая^{1,2}, О. А. Демидова¹, Т. В. Александрова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Резюме. Статья посвящена проблеме взаимозаменяемости и терапевтической эквивалентности оригинальных и воспроизведенных антиконвульсантов — противоэpileптических препаратов (ПЭП) первого поколения и новых. В ряде клинических исследований по изучению терапевтической эквивалентности воспроизведенных ПЭП подтверждается вывод о необходимости крайне осторожного подхода к осуществлению их замены даже в рамках одного международного непатентованного наименования, в том числе между разными лекарственными формами одного препарата. Цель работы — анализ факторов, приводящих к неправильной оценке терапевтической эквивалентности новых и воспроизведенных противосудорожных препаратов и совершенствование методологических подходов к проведению клинических исследований этих препаратов. Представлены данные из отечественных и зарубежных источников, в которых отмечается, что замена ПЭП у отдельных пациентов с полной ремиссией может привести к развитию нежелательных реакций или возобновлению судорожных припадков. На основании изученного опыта работы научных, экспертных и регуляторных организаций авторы предлагают комплекс мероприятий при замене ПЭП и проведении клинических исследований терапевтической эквивалентности новых и воспроизведенных противосудорожных препаратов. Применение предложенной методологии будет способствовать минимизации потенциальных рисков для здоровья пациентов, обусловленных различными факторами, приводящими к неправильной оценке терапевтической эквивалентности ПЭП и их взаимозаменяемости.

Ключевые слова: противосудорожные препараты; взаимозаменяемость; терапевтическая эквивалентность; воспроизведенные лекарственные средства; клинические исследования; эффективность; безопасность

Для цитирования: Архипов ВВ, Сокова ЕА, Городецкая ГИ, Демидова ОА, Александрова ТВ. Новые антиконвульсанты: проблемы взаимозаменяемости и применения воспроизведенных лекарственных препаратов в клинической практике. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):101–107. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-101-107>

***Контактное лицо:** Архипов Владимир Владимирович; arkhipov2005@rambler.ru

New Anticonvulsants: Interchangeability Issues and the Use of Generic Anticonvulsants in Clinical Practice

V. V. Arkhipov^{1,*}, E. A. Sokova^{1,2}, G. I. Gorodetskaya^{1,2}, O. A. Demidova¹, T. V. Aleksandrova¹

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

Abstract. This article looks into interchangeability and therapeutic equivalence of innovator and generic anticonvulsants — the first-generation and new antiepileptic drugs (AEDs). The results of a number of clinical trials assessing therapeutic equivalence of generic AEDs support the opinion that these medicines could only be substituted provided an ultra-cautious approach is used, even if the case involves only one International Nonproprietary Name, including, but not limited to different dosage forms of one and the same product. The aim of the study was to analyse factors leading to incorrect assessment of therapeutic equivalence of new and generic anticonvulsant drugs, and to improve methodological approaches to conducting clinical trials of these products. The paper cites data from Russian and foreign sources which state that the substitution of AEDs in some patients in full remission may result in adverse reactions or relapse of seizures. The analysis of the experience of scientific, expert, and regulatory institutions made it possible to develop a course of actions to be used when substituting AEDs and conducting clinical trials that assess therapeutic equivalence of new and generic anticonvulsants. The proposed methodology will help minimise potential health risks brought about by various factors that result in incorrect assessment of AEDs therapeutic equivalence and interchangeability.

Key words: anticonvulsants; interchangeability; therapeutic equivalence; generics; clinical studies; efficacy; safety

For citation: Arkhipov VV, Sokova EA, Gorodetskaya GI, Demidova OA, Aleksandrova TV. New anticonvulsants: interchangeability issues and the use of generic anticonvulsants in clinical practice. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):101–107. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-101-107>

*Corresponding author: Vladimir V. Arkhipov; arkhipov2005@rambler.ru

Эффективность противоэпилептической терапии достигается в 60–70 % случаев, при этом частота нежелательных реакций (НР), по данным разных авторов, варьирует от 7 до 25 %. В настоящее время на российском фармацевтическом рынке доля воспроизведенных лекарственных препаратов (ВЛП) составляет от 78 до 95 %, на рынке США и Канады — 30 %, в Великобритании, Германии, Дании и Голландии не превышает 50 % [1]. Рост количества ВЛП в России, в том числе и антиконвульсантов — противоэпилептических препаратов (ПЭП), делает вопрос их взаимозаменяемости особенно актуальным [2].

Оценка отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственных препаратов (ЛП), связанная с заменой оригинальных препаратов (референтных) на ВЛП, должна базироваться на подтвержденных данных об их надлежащем качестве, безопасности и клинической эффективности, т.е. на трех важнейших компонентах взаимозаменяемости: терапевтической, фармацевтической эквивалентности и фармакокинетической биоэквивалентности. Для доказательства чего, как правило, необходимо проведение дополнительных клинических исследований [3–7].

Согласно исследованиям R. Sankar, T.A. Glauser (2010 г.), у 68 % пациентов с эпилепсией при переводе с референтного ПЭП на ВЛП наблюдается клиническое ухудшение течения заболевания в виде учащения приступов, увеличение частоты НР и частоты госпитализаций, а при переходе с одного воспроизведенного ПЭП на другой аналогичные показатели составляют 33 % [8].

В ряде клинических исследований по изучению терапевтической эквивалентности ВЛП подтверждается вывод о необходимости крайне осторожного подхода к осуществлению замены ПЭП [3, 9, 10]. Так, в 2015 году было проведено российское ретроспективное фармакоэпидемиологическое исследование, целью которого было выявление данных по эффективности, безопасности или неэффективности терапии при замене препаратов в рамках одного международного непатентованного наименования (МНН) с референтного ЛП на ВЛП; с ВЛП на референтный; ВЛП 1 на ВЛП 2 [11].

Анализ спонтанных сообщений выявил, что при замене ПЭП в рамках одного МНН у 45,9 % пациентов с эпилепсией наблюдалось увеличение частоты НР или неэффективность фармакотерапии. При этом высокая степень достоверности причинно-следственной связи «НР — ЛП» была установлена в 135 спонтанных сообщениях, и в 88,9 % случаев НР относились к разряду серьезных [11]. В ряде ра-

бот также подчеркивается, что замена ПЭП у отдельных пациентов с полной ремиссией может привести к развитию НР или возобновлению судорожных припадков [6, 8, 12–17]. Поэтому, согласно рекомендациям Российской противоэпилептической лиги, следует избегать неконтролируемой замены ПЭП в рамках одного МНН, в том числе между разными лекарственными формами одного препарата [4].

Цель работы — анализ факторов, приводящих к неправильной оценке терапевтической эквивалентности новых и воспроизведенных противосудорожных препаратов, и совершенствование методологических подходов к проведению клинических исследований этих препаратов, что позволит в дальнейшем минимизировать потенциальные риски для здоровья пациентов.

СОВРЕМЕННЫЕ КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ФАРМАКОТЕРАПИИ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Противоэпилептические препараты являются базисным компонентом в лечении эпилепсии, нейропатических болевых синдромов, а также применяются в комплексной терапии ряда неврологических состояний, хореи Гентингтона, болезни Паркинсона, мигрени.

Целью противоэпилептической фармакотерапии является полное устранение эпилептических припадков или их эквивалентов. Рациональная фармакотерапия и выбор ПЭП зависят от типа припадков или их эквивалентов, возраста пациента, сопутствующей терапии и ряда других важных факторов, в частности: фармакокинетических свойств ПЭП, возможного межлекарственного взаимодействия, генетических особенностей пациента. В настоящее время уже применяется фармакогенетический подход к персонализированному выбору и дозированию ПЭП с целью снижения риска развития НР и/или повышению эффективности лечения [15, 18, 19].

При назначении ПЭП важно выбрать тот препарат, который будет эффективен при монотерапии, поскольку при этом снижается вероятность развития НР и исключаются проблемы, связанные с взаимодействием ЛП. Многие ПЭП (в основном первой генерации) являются индукторами изоферментов биотрансформации в печени, что может приводить к снижению концентрации в плазме крови препаратов сопутствующей терапии и, соответственно, неэффективности фармакотерапии.

Кроме того, фармакокинетические особенности ПЭП повышают вероятность возникновения проблем при замене референтного препарата на ВЛП

и могут привести к терапевтической неэквивалентности. Установление терапевтической эквивалентности особенно важно для препаратов с узким терапевтическим диапазоном и нелинейной фармакокинетикой, к которым относятся многие ПЭП (табл. 1) [12, 13].

БАЗИСНЫЕ И НОВЫЕ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

В настоящее время хорошо известны такие ПЭП первого поколения, как фенobarбитал, примидон, фенитоин, этосуксимид, карбамазепин, вальпроевая кислота. Они применяются в клинической практике и занимают почетное место в стандартах терапии. Механизмы их действия, фармакокинетика и фармакодинамика достаточно хорошо изучены, методология контроля эффективности и безопасности отработана. С другой стороны, на сегодняшний день установлено, что у 30–40 % пациентов при при-

менении этих ПЭП (и ряда других препаратов, например таких, как клоназепам, ацетазоламид) наблюдается резистентность к проводимому лечению, часто развиваются серьезные НР при достижении адекватного контроля частоты судорожных припадков [14]. Это послужило стимулом к разработке новых ПЭП второго поколения (ламотриджин, топирамат, окскарбазепин, леветирацетам, габапентин, фелбамат, тиагабин, перампанел и лакосамид), применение которых позволяет достичь селективного точечного воздействия на мишени, изменить возбудимость нейронов таким образом, что их нейронная активность, связанная с припадками, блокируется без нарушения нормальной активности. Противосудорожные препараты второго поколения (ПЭП-2) входят в стандарты терапии у взрослых и детей и широко применяются клиницистами.

Таблица 1. Фармакокинетические свойства некоторых противосудорожных препаратов, которые следует учитывать при замене референтного препарата на воспроизведенный

Table 1. Pharmacokinetic properties of some antiepileptic drugs, which should be considered when substituting a reference product with a generic one

Противосудорожный препарат Antiepileptic drug	Терапевтический диапазон, мкг/мл Therapeutic margin, µg/mL	Фармакокинетические показатели / Pharmacokinetic parameters		
		узкий терапевтический диапазон narrow therapeutic index	низкая растворимость в воде low water solubility	нелинейная фармакокинетика nonlinear pharmacokinetics
Карбамазепин Carbamazepine	4–12	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Фенитоин Phenytoin	10–20	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Вальпроат Valproate	50–100	Да Yes	Нет No	Да Yes
Фенobarбитал Phenobarbital	20–40	Да Yes	Нет No	Нет No
Этосуксимид Ethosuximide	40–100	Да Yes	Нет No	Да Yes
Габапентин Gabapentin	4–20	Да Yes	Нет No	Да Yes
Ламотриджин Lamotrigine	3–14	Да Yes	Да Yes	Нет No
Леветирацетам Levetiracetam	5–40	Да Yes	Нет No	Нет No
Оскарбазепин Oxcarbazepine	10–40	Да Yes	Да Yes	Нет No
Топирамат Topiramate	10–20	Да Yes	Да Yes	Нет No
Тиагабин Tiagabine	0,1–0,3	Да Yes	Нет No	Нет No
Вигабатрин Vigabatrin	0,8–36	Нет No	Нет No	Нет No
Примидон Primidone	5–10	Да Yes	Да Yes	Нет No
Фелбамат Felbamate	30–100	Да Yes	Да Yes	Нет No
Зонисамид Zonisamide	10–40	Да Yes	Да Yes	Да Yes

Преимуществами новых ПЭП-2 стали более высокая эффективность при определенных типах судорожных припадков, резистентных к терапии ПЭП предыдущего поколения, а также отсутствие в ряде случаев необходимости проведения регулярного мониторинга концентрации препарата в крови [20]. Однако применение ПЭП-2 у пациентов с эпилепсией не позволило полностью решить проблему лечения этого заболевания, по-прежнему примерно в 30 % случаев не удается достичь адекватного контроля судорожных припадков [2]. В то же время следует отметить и то, что ПЭП-2 имеют ограниченный спектр активности в отношении разных типов припадков [21].

На отечественном фармацевтическом рынке наблюдается тенденция скачкообразного роста воспроизведенных препаратов из группы ПЭП-2. Так, в последние годы только для ламотриджина зарегистрировано 9 ВЛП: «Сейзар», «Ламитор®», «Ламолеп», «Ламиктал», «Ламептил», «Конвульсан», «Ламитор® ДТ», «Ламотрикс®», «Тригинет».

Совершенствование базы фундаментальных исследований в области нейробиологии и нейробиологии способствует росту синтеза лекарственных субстанций, потенциально обладающих противосудорожной активностью. При разработке новейших ПЭП используют несколько различных подходов: химическую и/или структурную модификацию уже известных веществ; скрининг различных субстанций в отношении противосудорожной активности (*in vivo* и *in vitro*); создание новых веществ, аналогов природных соединений, участвующих в патофизиологических механизмах эпилептогенеза и нейрональной гипервозбудимости. В ряде случаев представленные подходы комбинируются и варьируют. На сегодняшний день уже разработаны более тридцати ПЭП следующего (третьего) поколения, например: бриварацетам, ганаксолон, селетрацетам, талампанел, флуорофелбамат, ДР-вальпроевая кислота и др. [22, 23]. В России из ПЭП третьего поколения (ПЭП-3) зарегистрированы прегабалин и лакосамид. Другие ПЭП-3 на протяжении последних нескольких лет проходят активные клинические исследования различных фаз, результаты которых весьма перспективны. Так, например, имеются данные, что бриварацетам значительно эффективнее окскарбазепина при фотосенситивной эпилепсии, а талампанел может успешно применяться на поздних стадиях болезни Паркинсона как вспомогательное средство [10, 24].

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОВЕДЕНИЮ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ НОВЫХ И ВОСПРОИЗВЕДЕННЫХ ПРОТИВОСУДОРОЖНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В доступной литературе нами не найдено описания клинических исследований по изучению терапевтической эквивалентности воспроизведенных

ПЭП в России. Вероятно, это связано с отсутствием четких стандартов и требований к проведению подобных исследований и незаинтересованностью компаний — производителей воспроизведенных ПЭП проводить такие исследования.

Однако в связи с важностью представленной проблемы считаем необходимым сформулировать базисные принципы клинических исследований эффективности и безопасности новых и воспроизведенных ПЭП, референтного препарата, провести стратификацию.

Так, при проведении исследований четко должна быть сформулирована цель: сопоставление эффективности и безопасности нового и воспроизведенного ПЭП и референтного препарата (оригинальный ПЭП или первый зарегистрированный в Российской Федерации ВЛП).

Обозначены жесткие подходы к популяции субъектов исследования. В клинические исследования терапевтической эквивалентности ПЭП должны включаться только пациенты с клинически подтвержденными парциальными и генерализованными припадками (включая тонико-клонические судороги). В ряде случаев отдельным протоколом в популяцию исследования могут быть включены пациенты в соответствии с показаниями, регламентированными в инструкции по медицинскому применению нового и воспроизведенного препаратов.

В качестве критериев не включения в исследование должны быть четкие противопоказания, индивидуально регламентированные инструкциями по медицинскому применению референтного и воспроизведенного препарата. В исследования не следует включать пациентов с нарушением экскреции и метаболизма: почечной и печеночной недостаточностью.

Большинство ПЭП — препараты с узким терапевтическим диапазоном, поэтому при проведении исследования следует использовать стандартный двухпериодный перекрестный дизайн в двух группах и двух последовательностях. Также возможно применение полного репликативного (повторного) дизайна исследования в двух последовательностях [5].

Согласно международным рекомендациям для лекарственных препаратов с узким терапевтическим диапазоном при исследовании биоэквивалентности допустимый интервал для параметров «площадь под кривой» (*AUC*) и «максимальная концентрация лекарственного вещества» (C_{max}) должен быть сужен до 90,00–111,11 % [25, 26]. Расчет размера выборки следует проводить с учетом суженных границ.

При проведении исследований необходимо ориентироваться на фармакогенетическую информацию в инструкции по медицинскому применению референтного препарата и принимать во внимание известные в настоящее время генетические особен-

ности пациентов, которые могут влиять на эффективность и безопасность некоторых новых ПЭП. Для оценки генетической однородности изучаемых групп рекомендуется провести генотипирование пациентов.

Метаболизм ПЭП в основном осуществляется изоферментами цитохрома P450 подсемейств CYP1-3 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A3, CYP3A4). В то же время новые ПЭП могут быть субстратами транспортеров ЛС (например, Р-гликопротеина), а пациенты — носителями аллельных вариантов ABCB1, что может сказываться на эффективности лечения. Фармакогенетическое тестирование пациентов, принимающих участие в клинических исследованиях, повышает достоверность результатов, а в ряде случаев может увеличить эффективность терапии, снизить частоту НР и повысить шансы на общий успех исследования.

Продолжительность клинических исследований терапевтической эквивалентности антиконвульсантов зависит от дизайна исследования. При планировании таких исследований должны быть учтены все виды возможного взаимодействия (фармакодинамическое, фармакокинетическое и др.). В ходе исследования пациенты не должны применять ЛС, усиливающие или ослабляющие действие ПЭП.

Для оценки эффективности ПЭП в обязательном порядке следует учитывать снижение частоты судорожных припадков на 50 % относительно исходного уровня, число госпитализаций, уровень качества жизни, величину поддерживающей дозы. Параметры оценки безопасности зависят от фармакологических свойств исследуемых препаратов. Для оценки безопасности должны использоваться методы, позволяющие выявлять нежелательные реакции, упомянутые в инструкции по медицинскому применению референтного и воспроизведенного препаратов (жалобы, результаты физикальных, лабораторных и инструментальных методов исследования).

Стандарты ведения взрослых пациентов с эпилепсией регламентируются в России приложением к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 24 декабря 2012 г. № 1541н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при эпилепсии», а у детей — приложением к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 декабря 2012 г. № 1695н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при эпилепсии».

Следует отметить, что, как правило, новые ПЭП применяются при эпилепсии, резистентной к лечению препаратами выбора, в качестве дополнительной терапии. Однако, как показывает практика, их начинают все чаще использовать в качестве монотерапии при генерализованных миоклонических, тонико-клонических припадках, атипичных аб-

сансах. Принцип монотерапии является ведущим принципом рациональной противоэпилептической фармакотерапии. При этом ПЭП для монотерапии подбирается каждому конкретному пациенту с учетом специфики течения заболевания, генетических, возрастных и гендерных особенностей на основе методологии персонализированной медицины.

Комбинированная терапия должна проводиться только при невозможности адекватной монотерапии, поскольку при комбинированной терапии увеличивается вероятность нежелательных межлекарственных взаимодействий, риск развития побочных эффектов, которые могут быть обусловлены влиянием на систему микросомальных изоферментов печени (индукцией, аутоиндукцией или ингибированием).

Следует помнить о возможном антагонистическом действии при назначении нескольких ПЭП, поскольку механизм действия некоторых новых ПЭП еще до конца не изучен. Кроме того, у новых ПЭП межлекарственное взаимодействие может реализовываться на нейротрансмиссном и нейромедиаторном уровне.

При резистентных формах эпилепсии в единичных случаях возможно клинически обоснованное применение одновременно трех ПЭП. Одновременное применение более трех антиконвульсантов в лечении эпилепсии категорически недопустимо.

При проведении комплексного лечения у людей с сочетанной патологией возможно взаимодействие ПЭП с другими лекарствами, чаще с антикоагулянтами, антигипертензивными, мочегонными средствами, противотуберкулезными препаратами, НПВС, оральными контрацептивами. В связи с этим при подборе ПЭП следует пользоваться таблицами межлекарственных взаимодействий.

Для большинства непродолжительных ПЭП частота приема противоэпилептического препарата обычно определяется периодом его полувыведения и составляет 3 раза/сут. Новые ПЭП (как и многие пролонгированные формы ПЭП) в ряде случаев назначаются на два приема в день или даже однократно. Следует помнить, что время приема ПЭП определяется особенностями течения заболевания (характером и временем развития припадков и т. д.), фармакодинамическими и фармакокинетическими характеристиками препарата. В педиатрии (детский возраст) возможен более частый прием препаратов и применение более высоких доз (в расчете на 1 кг веса тела) с учетом особенностей фармакокинетики конкретного ЛС. Это необходимо принимать во внимание и соблюдать правила перехода с одного препарата на другой даже в рамках монотерапии и одного МНН.

В настоящее время существует несколько тактических вариантов перехода с одного ПЭП на другой. При неэффективности одного из ПЭП применяется

альтернативная монотерапия — постепенный переход на монотерапию другим ПЭП. Следует постепенно наращивать дозы второго препарата, при этом доза первого ЛП должна оставаться без изменений. Когда достигнута желаемая доза второго препарата (и концентрация его в крови достигла желаемого уровня), доза первого ЛП постепенно уменьшается. Этот вариант применения ЛП может сопровождаться временным увеличением частоты и выраженности побочных эффектов, поэтому следует очень постепенно увеличивать дозу второго препарата до тех пор, пока припадки не прекратятся или, наоборот, пока увеличение частоты НР не заставит отказаться от применения второго препарата.

Возможным вариантом является также параллельное и постепенное уменьшение дозы первого препарата и наращивание дозы второго. При этом важен контроль концентрации препаратов в крови, поскольку у многих ПЭП нет линейной зависимости между дозой препарата и концентрацией.

Отмена первого препарата должна производиться постепенно, с проведением терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ), и не быстрее, чем в течение 2–4 недель и более, так как существует высокая вероятность развития синдрома отмены. Для повышения безопасности фармакотерапии при переходе с оригинального нового ПЭП на ВЛП возможно применение подобных схем коррекции лечения, однако проведение ТЛМ при назначении новых ПЭП является одним из основных требований международных стандартов ведения больных эпилепсией.

При оценке терапевтической эквивалентности новых и воспроизведенных ПЭП необходимо принимать во внимание результаты базы данных фармаконадзора по НР, и при увеличении частоты поступления спонтанных сообщений возможна инициация органами Росздравнадзора скринингового исследования фармацевтической эквивалентности нового ВЛП, а в ряде случаев проведение повторных исследований его биоэквивалентности (клинические исследования) в сравнении с референтным ПЭП [7].

При анализе результатов клинических исследований ПЭП большое внимание следует уделять протоколу проведения исследования. В оценке эффективности следует учитывать фармакокинетические,

фармакодинамические, фармакогенетические и фармакоэкономические аспекты применения ПЭП, поскольку клинические параметры многих психологических шкал и общепринятых критериев (снижение частоты судорожных припадков, число госпитализаций, уровень качества жизни) субъективны.

При решении вопроса о терапевтической эффективности воспроизведенного препарата важно учитывать, произведен ли он по стандартам надлежащей производственной практики (GMP). Если нет, то сделать заключение о биоэквивалентности ВЛП оригинальному препарату практически невозможно, и применение такого ВЛП может оказаться неэффективным, а часто и опасным для пациента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа практической работы научных, экспертных и регуляторных организаций, современных литературных данных по проблемам взаимозаменяемости ЛС, собственного клинического опыта предложены базисные подходы к определению терапевтической эквивалентности ПЭП, разработан комплекс мероприятий по проведению клинических исследований, даны практические рекомендации по переходу на новые и воспроизведенные ПЭП.

Авторы рассчитывают, что внедрение изложенных в статье положений позволит оптимизировать работу экспертных организаций при определении терапевтической эквивалентности и взаимозаменяемости ПЭП, обеспечит минимизацию потенциальных рисков для здоровья пациентов при замене ПЭП на новые или воспроизведенные.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Беляев ОВ, Коновалова ТИ, Волкова ЕА. Лекарственная терапия эпилепсии в Волгоградской области. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2013;(1):37–8. [Belyaev OV, Kononova TI, Volkova EA. Drug therapy of epilepsy in the Volgograd Region. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Volgograd Journal of Medical Research*. 2013;(1):37–8 (In Russ.)]
- Власов ПН, Наумова ГИ, Дрожжина ГР. Новые противоэпилептические препараты. *Качественная клиническая практика*. 2008;(3):12–28. [Vlasov PN, Naumova GI, Drozhzhina GR. New anti-epileptic drugs. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika = Good Clinical Practice*. 2008;(3):12–28 (In Russ.)]
- Громов СА, Табулина СД. Использование вальпроатов-дженериков (энкорат-хроно) в лечении больных эпилепсией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2005;105(4):22–6. [Gromov SA, Tabulina SD. The use of valproates-generics (Encorate chrono) in the treatment of epileptic patients. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2005;105(4):22–6 (In Russ.)]

4. Резолюция заседания рабочей группы Российской противоэpileптической лиги. *Эpileпсия и пароксизмальные состояния*. 2016;8(4):109–11. [Editorial A. Resolution of meeting of Working Group of Russian League against epilepsy. *Epilepsiya i parokszimalnye sostoyaniya* = *Epilepsia and Paroxysmal Conditions*. 2016;8(4):109–11 (In Russ.)]
5. Ромодановский ДП, Горячев ДВ, Соловьева АП, Еременко НН. Принципы статистической оценки исследований биоэквивалентности в рамках актуальных регуляторных требований и нормативно-правовых актов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(2):92–8. [Romodanovsky DP, Goryachev DV, Solovieva AP, Eremenko NN. Principles of statistical evaluation of bioequivalence studies in the context of current regulatory requirements and legal acts. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(2):92–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-92-98>
6. Букатина ТМ, Пастернак ЕЮ, Романов БК, Аляутдин РН, Лепакхин ВК, Казаков АС и др. Рекомендации зарубежных регуляторных органов. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2016;(1):38–40. [Bukatina TM, Pasternak EYu, Romanov BK, Alyautdin RN, Lepakhin VK, Kazakov AS, et al. Foreign Regulatory Recommendations. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii* = *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2016;(1):38–40 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2016-0-1-38-40>
7. Соколов АВ, Белоусов ЮБ, Зырянов СК, Нечаева ЕБ, Милкина СЕ. Пути обеспечения качества и безопасности генерических лекарственных препаратов. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2012;1(4):43–9. [Sokolov AV, Belousov YuB, Zyryanov SK, Nechaeva EB, Milkina SE. Ways to ensure the quality and safety of generic drugs. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2012;1(4):43–9 (In Russ.)]
8. Sankar R, Glauser TA. Understanding therapeutic equivalence in epilepsy. *CNS Spectr*. 2010;15(2):112–23. PMID: 20414156
9. LeLorier J, Duh MS, Paradis PE, Lefebvre P, Weiner J, Manjunath R, et al. Clinical consequences of generic substitution of lamotrigine for patients with epilepsy. *Neurology*. 2008;70(22 Pt 2):2179–86. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000313154.55518.25>
10. Shin JW, Chu K, Jung KH, Lee ST, Moon J, Lee SK. Switching between phenytoin generics in patients with epilepsy may lead to increased risk of breakthrough seizure: chart analysis and practice recommendations. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2014;52(12):1017–22. <https://doi.org/10.5414/CP202153>
11. Пастернак ЕЮ. Оптимизация методики оценки взаимозаменяемости лекарственных препаратов на основании фармакоэпидемиологического исследования нежелательных реакций на фоне медикаментозной терапии: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2017. [Pasternak EYu. Optimization of methods for assessing the interchangeability of drugs based on pharmacoepidemiological study of adverse reactions in the context of drug therapy. Cand. Med. Sci. [dissertation]. Moscow; 2017 (In Russ.)]
12. Chen ML, Shah VP, Crommelin DJ, Shargel L, Bashaw D, Bhatti M, et al. Harmonization of regulatory approaches for evaluating therapeutic equivalence and interchangeability of multisource drug products: workshop summary report. *AAPS J*. 2011;13(4):556–64. <https://doi.org/10.1208/s12248-011-9294-5>
13. Hottinger M, Liang BA. Deficiencies of the FDA in evaluating generic formulations: addressing narrow therapeutic index drugs. *Amer J Law Med*. 2012;38(4):667–89. PMID: 23356099
14. Bialer M. New antiepileptic drugs that are second generation to existing antiepileptic drugs. *Expert Opin Investig Drugs*. 2006;15(6):637–47. <https://doi.org/10.1517/13543784.15.6.637>
15. Saldana-Cruz AM, Sanchez-Corona J, Marquez de Santiago DA, Garcia-Zapian AG, Flores-Martinez SE. Pharmacogenetics and antiepileptic drug metabolism: implication of genetic variants in cytochromes P450. *Rev Neurol*. 2013;56(9):471–9. PMID: 23629749
16. Steinhoff BJ, Runge U, Witte OW, Stefan H, Hufnagel A, Mayer T, Krämer G. Substitution of anticonvulsant drugs. *Ther and Clin Risk Manag*. 2009;5(3):449–57. PMID: 19707254
17. Atif M, Azeem M, Sarwar MR. Potential problems and recommendations regarding substitution of generic antiepileptic drugs: a systematic review of literature. *Springerplus*. 2016;(5):182. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1824-2>
18. Depondt C. Epilepsy pharmacogenetics: science or fiction? *Med Sci (Paris)*. 2013;29(2):189–93. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013292017>
19. Glauser TA. Biomarkers for antiepileptic drug response. *Biomark Med*. 2011;5(5):635–41. <https://doi.org/10.2217/bmm.11.75>
20. Коваленко ВН, Викторов АП, ред. *Компендиум 2011 — лекарственные препараты*. Киев: МОРИОН; 2011. [Kovalenko VN, Viktorov AP, eds. *Compendium 2011 — Medicines*. Kiev: MORION; 2011 (In Russ.)]
21. Ochoa JG, Riche W. Antiepileptic drugs. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/1187334-overview>
22. Юрьев КЛ. Медикаментозное лечение эpileпсии у взрослых пациентов: обзор доказательных клинических рекомендаций. *Украинский медицинский журнал*. 2004;(4):5–27. [Yuriev KL. Pharmacotherapy for epilepsy in adults: review of the evidence-based clinical practice guidelines. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal* = *Ukrainian medical journal*. 2004;(4):5–27 (In Russ.)]
23. Luszczi JJ. Third-generation antiepileptic drugs: mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacol Rep*. 2009;61(2):197–216. PMID: 19443931
24. Hansen RN, Nguyen HP, Sullivan SD. Bioequivalent antiepileptic drug switching and the risk of seizure-related events. *Epilepsy Res*. 2013;106(1–2):237–43. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2013.04.010>
25. Yu LX, Li B, eds. *FDA Bioequivalence Standards*. New York: Springer; 2014.
26. Yu LX, Jiang W, Zhang X, Lionberger R, Makhlof F, Schuirmann DJ, et al. Novel bioequivalence approach for narrow therapeutic index drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 2015;97(3):286–91. <https://doi.org/10.1002/cpt.28>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Архипов Владимир Владимирович, д-р мед. наук, проф. Vladimir V. Arkhipov, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1441-3418>

Сокова Елена Андреевна, канд. мед. наук, доцент. Elena A. Sokova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6389-2099>

Городецкая Галина Ивановна, ассистент. Galina I. Gorodetskaya, Assistant Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7322-3323>

Демидова Ольга Александровна, канд. фарм. наук. Olga A. Demidova, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0123-3044>

Александрова Татьяна Владимировна, канд. мед. наук. Tatiana V. Alexandrova, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3855-5899>

Статья поступила 18.09.2018

После доработки 25.12.2018

Принята к печати 24.05.2019

Article was received 18 September 2018

Revised 25 December 2018

Accepted for publication 24 May 2019

Современные требования к информационному и графическому сопровождению потребительской упаковки лекарственных препаратов

Л. И. Митькина*, А. К. Еричева

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

Резюме. Маркировка является важнейшим источником информации о лекарственном препарате, полнота содержания и правильность которой обеспечивает идентификацию, безопасность и эффективность применения лекарственного препарата. Целью работы являлся сравнительный анализ требований к оформлению макетов упаковок в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС) для вывода лекарственных препаратов, произведенных в России, на рынок ЕАЭС. Требования ЕАЭС к маркировке лекарственных препаратов описаны в нормативных правовых актах в сфере обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС, в России необходимо руководствоваться требованиями Федерального закона Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», Государственной фармакопеей Российской Федерации и рекомендациями Руководства по экспертизе лекарственных средств, подготовленного ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Проведенный анализ показал, что указания по маркировке лекарственных препаратов, описанные в документах ЕАЭС и России, во многом совпадают, но имеется и ряд отличий, в основном связанных с информацией о составе и различным определением понятия «лекарственные растительные препараты». Для успешного продвижения лекарственных препаратов на рынок ЕАЭС необходима унификация определений и требований отечественной нормативной базы с нормативно-правовыми актами ЕАЭС.

Ключевые слова: маркировка; упаковка; макеты упаковки; этикетка; информация; лекарственные препараты; нормативные требования

Для цитирования: Митькина ЛИ, Еричева АК. Современные требования к информационному и графическому сопровождению потребительской упаковки лекарственных препаратов. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):108–117. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-108-117>

***Контактное лицо:** Митькина Лидия Ивановна; Mitkina@expmed.ru

Current Requirements for Information Content and Graphic Design of a Medicinal Product Package

L. I. Mit'kina*, A. K. Elicheva

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. Labeling is an important source of information about a medicinal product. The completeness and accuracy of labeling ensures correct identification, as well as safe and efficacious use of the product. The aim of the present paper was to perform comparative analysis of requirements for the design of medicinal product packages currently applicable in the Russian Federation and in the Eurasian Economic Union (EEU) in order to facilitate the introduction of Russian medicinal products into the EEU market. The EEU requirements for medicinal product labeling are described in laws and regulations stipulating medicinal products circulation in the EEU. The Russian requirements are laid out in Federal Law No. 61-FZ «On medicines circulation» dated April 12, 2010, the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, and the Guideline on Medicinal Products Evaluation of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia. It was demonstrated that labeling requirements described in the EEU and Russian regulations largely overlap, but there are also a number of differences that are mainly related to the information on the medicinal product composition and different interpretation of the term «herbal medicinal product». A successful promotion of Russian medicines in the EEU market will require harmonisation of definitions and requirements used in the Russian legislation with those stipulated in the EEU regulations.

Key words: labeling; package; mock-up; label; information; medicinal products; regulatory requirements

For citation: Mit'kina LI, Elicheva AK. Current requirements for information content and graphic design of a medicinal product package. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):108–117. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-108-117>

***Corresponding author:** Lidia I. Mit'kina; Mitkina@expmed.ru

Эксперты Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее ФГБУ «НЦЭСМП») занимаются вопросами информационного сопровождения и графического оформления лекарственных средств, участвуют в подготовке нормативных документов в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС). В рамках текущей деятельности необходимым является сопоставление международных и отечественных нормативных и регулятивных актов, касающихся различных аспектов маркировки. Результаты сравнительного анализа требований к маркировке в Российской Федерации, Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Европейском союзе (ЕС), проведенного ранее, были опубликованы в работах [1–3].

Цель работы — сопоставление требований, предъявляемых документами ЕАЭС и Российской Федерации к маркировке лекарственных средств. Результаты исследования могут быть использованы в процессе вывода лекарственных препаратов, зарегистрированных на территории России, на рынок ЕАЭС.

Маркировка — информация в виде знаков, надписей, пиктограмм, символов, наносимых на упаковку и/или этикетку, сопроводительные документы для обеспечения идентификации, информирования потребителей¹. Информация о лекарственном средстве, нанесенная на его упаковку (маркировка лекарственного препарата²), играет важную роль для потребителя и специалиста. Маркировка лекарственного препарата должна обеспечивать правильность и безопасность применения лекарственного препарата, поэтому она является объектом нормативного регулирования и унификации.

Маркировка лекарственных средств должна соответствовать требованиям нормативно-правовых актов. В настоящее время нормативной базой, регламентирующей требования к маркировке лекарственных средств в Российской Федерации, являются: Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее Федеральный закон № 61-ФЗ) (статья 46 «Маркировка лекарственных средств»); Федеральный закон Российской Федерации от 8 января 1998 г. № 3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах»; Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания (далее — ГФ XIII) (Общая фармакопейная статья (далее ОФС) 1.1.0019.15 «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных раститель-

ных препаратов», ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств», ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»).

Статья 46 Федерального закона № 61-ФЗ не детализирует требования к упаковке, с этой целью разработаны общие рекомендации к составлению раздела «Маркировка» нормативной документации на лекарственные средства и оформлению проекта первичной и вторичной (потребительской) упаковки лекарственного препарата, представленные в Руководстве по экспертизе лекарственных средств³, т. II, гл. 8 «Оформление макетов упаковок и раздела «Маркировка» нормативной документации на лекарственные средства, поступающие на российский рынок».

Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 утверждены «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств» (далее — Требования ЕАЭС), которые устанавливают правила маркировки, размещенной на упаковках лекарственных средств, выпускаемых в обращение на общем рынке лекарственных средств в рамках ЕАЭС. Требования ЕАЭС к маркировке во многом совпадают с требованиями Федерального закона № 61-ФЗ и рекомендациями Руководства по экспертизе лекарственных средств:

- маркировка лекарственных средств наносится на упаковку на русском языке и при наличии соответствующих требований на государственном языке государства, на территории которого реализуется лекарственное средство. Дополнительное использование других языков допускается при условии полной идентичности информации;

- текст, наносимый на упаковку, не должен противоречить или искажать информацию, приведенную в нормативной документации, инструкции по применению лекарственного препарата и других документах регистрационного досье;

- допускается не указывать международное непатентованное название (МНН) или общепринятое (группировочное) наименование лекарственных препаратов в случае его полного совпадения с торговым наименованием;

- дозировка/активность/концентрация наносится на упаковку в соответствии с нормативной документацией и инструкцией по применению лекарственного препарата для медицинского применения с обязательным указанием размерности;

- в случае если в производстве участвуют несколько производителей, обязательно указывается наименование производителя, осуществляющего выпускающий контроль качества лекарственного средства;

¹ ГОСТ Р 55916-2013 (ИСО 21067:2007). Упаковка. Термины и определения.

² Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения».

³ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. II. М.: Гриф и К; 2014.

Таблица 1. Информация, указываемая на первичной упаковке лекарственного препарата согласно Федеральному закону Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и требованиям ЕАЭС**Table 1.** Information to be provided on the primary packaging of a medicinal product in accordance with the Federal Law of the Russian Federation No. 61-FZ «On medicines circulation» and the EEU requirements

Требования Федерального закона № 61-ФЗ Requirements of the Federal Law No. 61-FZ	Требования ЕАЭС* EEU requirements*
- наименование лекарственного препарата (международное непатентованное, или группировочное, или химическое, или торговое наименование) / name of the medicinal product (International Nonproprietary Name, or generic name, or chemical name, or brand name); - дозировка или концентрация / dosage or concentration; - объем / volume; - активность в единицах действия или количество доз / potency in units of activity, or the number of doses; - номер серии / batch number; - дата выпуска (для иммунобиологических лекарственных препаратов) / production date (for immunobiological products); - срок годности / shelf life	- торговое наименование лекарственного препарата / brand name of the medicinal product; - международное непатентованное наименование (далее — МНН) (при наличии) или общепринятое (группировочное) наименование / International Nonproprietary Name (INN), if available, or common (generic) name; - лекарственная форма / dosage form; - дозировка и (или) активность и (или) концентрация (если применимо) активной фармацевтической субстанции (активных фармацевтических субстанций) / dosage and/or activity and/or concentration (if applicable) of the active pharmaceutical ingredient(s); - количество лекарственного препарата в упаковке / quantity of the medicinal product in a package; - номер серии / batch number; - дата истечения срока годности («годен до...») / expiration date («best before...»); - путь введения / administration route; - наименование или логотип держателя регистрационного удостоверения или производителя (при необходимости) лекарственного препарата / name or logo of the marketing authorisation holder or manufacturer (if necessary) of the medicinal product

* Информация дана в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»

* The information is based on the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 76 «On adoption of requirements for the labelling of medicinal products for human and veterinary use» of November 3, 2016

- для лекарственных препаратов биологического происхождения при отсутствии МНН или общепринятого (группировочного) наименования указывается источник получения препарата. Лекарственные средства в качестве сывороток должны поступать в обращение с указанием вида животного, из крови, плазмы, органов и тканей которого они получены, с обязательным нанесением надписи «Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, к вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В отсутствуют»;

- для радиофармацевтических лекарственных средств указывается символ химического элемента с индексом радионуклида, знак радиационной опасности, количество единиц радиоактивности в дозе или первичной упаковке.

Для гомеопатических лекарственных препаратов указывают шкалу и степень разведения, приводят надписи «Гомеопатический» или «Гомеопатический лекарственный препарат без одобрения показаний к применению».

При общей схожести объема информации, наносимой на упаковку по требованиям ЕАЭС и Российской Федерации, имеется ряд отличий. Так, на первичной упаковке лекарственного препарата (табл. 1) согласно требованиям ЕАЭС обязательно указывается не только торговое наименование лекарственного препарата, но и МНН или общепринятое (группировочное) наименование. Кроме того, на первичной упаковке приводится информация о лекарственной форме, пути введения,

количестве лекарственного препарата в упаковке, наименовании или логотипе держателя регистрационного удостоверения или производителя (при необходимости) лекарственного препарата. Указание о лекарственной форме на первичной упаковке Федеральным законом № 61-ФЗ не предусмотрено.

На первичной упаковке в форме блистера, который помещается во вторичную (потребительскую) упаковку, допускается не указывать информацию о лекарственной форме и количестве лекарственного препарата в упаковке. На первичной упаковке небольших размеров (общая площадь текстового поля не более 10 см²) допускается не указывать международное непатентованное или общепринятое (группировочное) наименование, лекарственную форму и наименование или логотип держателя регистрационного удостоверения или производителя.

При выпуске продукции без консерванта на вторичной упаковке препаратов, выпускаемых как с консервантом, так и без него, по Требованиям ЕАЭС указывают «Не содержит консерванта». В Требованиях ЕАЭС описана маркировка промежуточной упаковки (в указаниях о маркировке, принятых в Российской Федерации, такие требования отсутствуют), указано, что для орфанных препаратов, а также для отдельных лекарственных препаратов, по согласованию с уполномоченным органом государства — члена ЕАЭС, осуществляющим регистрацию такого лекарственного препарата, допускается нанесение маркировки с использованием дополнительной этикетки (стикера).

Таблица 2. Информация, указываемая на вторичной упаковке лекарственного препарата согласно Федеральному закону Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и требованиям ЕАЭС

Table 2. Information to be provided on the secondary packaging of a medicinal product in accordance with the Federal Law of the Russian Federation No. 61-FZ «On medicines circulation» and the EEU requirements

Требования Федерального закона № 61-ФЗ Requirements of the Federal Law No. 61-FZ	Требования ЕАЭС* EEU requirements*
- наименование лекарственного препарата (международное непатентованное, или группировочное, или химическое и торговое наименования) / name of the medicinal product (International Nonproprietary Name, or generic name, or chemical name, or brand name); - наименование производителя лекарственного препарата / name of the manufacturer of the medicinal product; - лекарственная форма / dosage form; - дозировка или концентрация / dosage or concentration; - объем / volume; - активность в единицах действия либо количество доз в упаковке / potency in units of activity, or the number of doses in a package; - номер серии / batch number; - дата выпуска (для иммунобиологических лекарственных препаратов) / production date (for immunobiological products); - срок годности / shelf life; - номер регистрационного удостоверения / marketing authorisation number; - способ применения / route of administration; - условия отпуска / legal category; - условия хранения / storage conditions; - предупредительные надписи / warning notes; - штриховой код / bar code	- торговое наименование лекарственного препарата / brand name of the medicinal product; - МНН (при наличии) или общепринятое (группировочное) наименование / International Nonproprietary Name (INN), if available, or common (generic) name; - наименования держателя регистрационного удостоверения и производителя лекарственного препарата / name of the marketing authorisation holder and manufacturer of the medicinal product; - адрес держателя регистрационного удостоверения и производителя лекарственного препарата / address of the marketing authorisation holder and manufacturer of the medicinal product; - лекарственная форма / dosage form; - дозировка и (или) активность, и (или) концентрация (если применимо) активной фармацевтической субстанции (активных фармацевтических субстанций) / dosage and/or activity and/or concentration (if applicable) of the active pharmaceutical ingredient(s); - количество лекарственного препарата в упаковке / quantity of the medicinal product in a package; - номер серии / batch number; - дата производства / production date; - дата истечения срока годности («годен до...») / expiration date («best before...»); - регистрационный номер (для ветеринарных препаратов) / registration number (for veterinary products); - условия хранения и при необходимости условия транспортировки / storage conditions and, where necessary, transportation conditions; - путь введения / administration route; - условия отпуска / legal category; - предупредительные надписи / warning notes; - информация о составе лекарственного препарата / information on the medicinal product composition

* Информация дана в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»

* The information is based on the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 76 «On adoption of requirements for the labelling of medicinal products for human and veterinary use» of November 3, 2016

В отличие от Требований ЕАЭС в Руководстве по экспертизе лекарственных средств описаны особенности маркировки лекарственных средств, содержащих наркотические и психотропные вещества, в Требованиях ЕАЭС приведены лишь указания, что особенности их маркировки устанавливаются в соответствии с законодательством государств — членов ЕАЭС. Статьей 46 Федерального закона № 61-ФЗ предусмотрено обязательное нанесение штрихкода на вторичную (потребительскую) упаковку лекарственного препарата, тогда как согласно Требованиям ЕАЭС размещение на упаковке штрихкода допускается, но не обязательно.

Одним из существенных отличий требований ЕАЭС и Федерального закона № 61-ФЗ относительно информации, которая должна быть представлена на вторичной (потребительской) упаковке лекарственного препарата (табл. 2), является информация о составе препарата.

Согласно Федеральному закону № 61-ФЗ информация о вспомогательных веществах не включена в перечень обязательных сведений, наносимых

на упаковку. Требования к информации о составе содержатся в ГФ XIII (табл. 3). В требованиях ЕАЭС, а также в Руководстве по экспертизе лекарственных средств приведен перечень вспомогательных веществ, которые должны быть указаны на упаковке лекарственного препарата для приема внутрь (табл. 4). Информация об условиях хранения, соответствующая разделу «Хранение» нормативной документации, приводится на макетах упаковки лекарственных препаратов и определяет требования по защите продукции от влияния внешней среды (влаги, света, температуры). Возможные варианты указания условий хранения лекарственных средств, требующих специальных условий хранения (защиты от влаги и света), рассмотрены нами в публикации [3] в соответствии с рекомендациями Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)⁴, руководствами Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines

⁴ ICH Harmonised Tripartite Guideline «Stability Testing of New Drug Substances and Products, Q1A (R2)», 06.02.2003.

Таблица 3. Информация о составе лекарственного препарата, приводимая на маркировке лекарственных препаратов, в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ XIII) и требованиями ЕАЭС

Table 3. Information on the medicinal product composition that should be provided in the labelling according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SPH XIII) and the EEU requirements

Требования ГФ XIII Requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII edition	Требования ЕАЭС* EEU requirements*
Для дозированных лекарственных форм приводят названия действующих веществ и их количества в одной дозе препарата, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации. The label of dosed medicines has to indicate the active ingredients and their amounts in one dose of the product, unless otherwise stated in the monograph or manufacturer's specification. Для недозированных лекарственных форм приводят названия действующих веществ и их количества в определенном объеме (массе) лекарственного препарата. The label of non-dosed medicines has to indicate the active ingredients and their amounts in a certain volume (mass) of the product. Для парентеральных лекарственных форм, лекарственных форм для ингаляций, лекарственных форм для наружного и (или) местного применения, глазных лекарственных форм указывают названия действующих веществ, их количества и перечень названий всех вспомогательных веществ. The label of parenteral dosage forms, inhalation dosage forms, dosage forms for cutaneous and/or local use, and ophthalmic dosage forms has to indicate the active ingredients, their amounts, and the list of all excipients. Для лекарственных форм для инфузий приводят названия действующих и вспомогательных веществ и их количества. The label of dosage forms for infusion has to indicate the active ingredients and excipients and their amounts.	В составе лекарственных препаратов указываются активные фармацевтические субстанции (компоненты) и их количество. The label of medicinal products has to indicate active ingredients and their amounts. В обязательном порядке вспомогательные вещества (компоненты) указываются: - для лекарственных препаратов для приема внутрь на вторичной упаковке, если они включены в перечень вспомогательных веществ, указываемых на вторичной упаковке лекарственных препаратов для приема внутрь, согласно приложению к Требованиям; - для лекарственных препаратов для инъекций, для ингаляций, для местного и (или) наружного применения и для лекарственных препаратов, применяемых в офтальмологии, на вторичной упаковке в полном составе без указания их количества; - для инфузионных растворов на вторичной и первичной упаковках в полном составе. Excipients are indicated: - on the secondary packaging of oral medicinal products, if these excipients have to be indicated on the secondary packaging of oral medicinal products according to the Annex to the Requirements; - as a complete list of excipients, but with no indication of their amounts — on the secondary packaging of dosage forms for injection, inhalation dosage forms, dosage forms for cutaneous and/or local use, and ophthalmic dosage forms; - as a complete list of excipients — on the primary and secondary packaging of solutions for infusion. Для инфузионных растворов на первичной и вторичной упаковках указывается теоретическое значение осмолярности (осмоляльности). The primary and secondary packaging of solutions for infusion has to indicate theoretical osmolality (osmolality). Для иммунологических лекарственных препаратов на вторичной упаковке указывается количественное содержание консервантов, сорбентов и адъювантов. The secondary packaging of immunological medicinal products has to indicate the amounts of preservative agents, sorbents, and adjuvants.

* Информация дана в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»

* The information is based on the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 76 «On adoption of requirements for the labelling of medicinal products for human and veterinary use» of November 3, 2016

Agency, ЕМА)⁵ и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)⁶. Рекомендации по указанию условий хранения даны в документах ЕАЭС⁷, по температурному режиму хранения — также в ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств» ГФ XIII. В отличие от ГФ XIII документы ЕАЭС⁸ и руководство ЕМА⁹ при приведении соответствующих обоснований допускают указание «специальных условий хранения не требуется».

В Требованиях ЕАЭС отмечается, что не допускается наносить на упаковку выборочные сведения, указанные в разделах «Клинические данные» и «Фармакодинамические свойства» общей характеристики лекарственного препарата и эквивалентных разделах инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата.

Дополнительные требования к маркировке лекарственных растительных препаратов, нахо-

⁵ European Medicines Agency Guideline on Declaration of Storage Conditions for Medicinal Products Particulars and Active Substances (Annex) (CPMP/QWP/609/96 Rev. 2) (2003).

⁶ WHO Technical Report Series, № 908, 2003. «Guide to good storage practices for pharmaceuticals (Annex 9).

⁷ Решения Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения», от 3 ноября 2016 г. № 88 «Об утверждении требований к инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов и общей характеристике лекарственных препаратов для медицинского применения».

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. № 69 «Об утверждении требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций».

⁸ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 88 «Об утверждении требований к инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов и общей характеристике лекарственных препаратов для медицинского применения».

⁹ European Medicines Agency Guideline on Declaration of Storage Conditions for Medicinal Products Particulars and Active Substances (Annex) (CPMP/QWP/609/96 Rev. 2) (2003).

Таблица 4. Перечень вспомогательных веществ, указываемых на вторичной упаковке лекарственных препаратов для приема внутрь
Table 4. List of excipients that have to be indicated on the secondary packaging of oral dosage forms

Вспомогательное вещество Excipient	Код вспомогательного вещества Code of excipient	Пороговое содержание Limit
Азокрасители: Azo dyes:		
солнечный закат желтый / Sunset Yellow	E110	0
азорубин (кармуазин) / Azorubine (Carmoisine)	E122	0
пунцовый (понсо 4R, кошенилевый красный А) Ponceau 4R (Cochineal Red A)	E124	0
бриллиантовый черный BN (черный блестящий BN, черный PN) Brilliant Black BN (Black PN)	E151	0
Арахисовое масло / Peanut oil	—**	0
Аспартам / Aspartame	E951	0
Галактоза / Galactose	—	0
Глюкоза (декстроза) / Glucose (Dextrose)	—	0
Глицерол (глицерин) / Glycerol (Glycerin)	—	10 г/доза 10 g/dose
Изомальт (изомальтит) / Isomalt (Isomaltite)	E953	0
Калийсодержащие соединения / Potassium-containing compounds	—	39 мг/доза 39 mg/dose
Касторовые масла полиэтоксилированные (макрогола глицерилрицинолеат, макрогола глицерилгидроксистеарат) Polyethoxylated castor oils (macrogol glyceryl ricinoleate, macrogol glyceryl hydroxistearate)	—	0
Консерванты / Preservative agents	—	0
Ксилитол (ксилит) / Xylitol (Xylite)	—	10 г/доза 10 g/dose
Кунжутное масло / Sesame seed oil	—	0
Лактитол (лактит) / Lactitol (Lactite)	E966	0
Лактоза / Lactose	—	0
Латекс (каучук натуральный) / Latex (natural rubber)	—	0
Мальтитол (мальтит) / Maltitol (Maltite)	E965	0
Маннитол (маннит) / Mannitol (Mannite)	E421	10 г/доза 10 g/dose
Мочевина / Urea	—	0
Натрийсодержащие соединения / Sodium-containing compounds	—	23 мг/доза 23 mg/dose
Пропиленгликоль и его эфиры Propylene glycol and its ethers	—	400 мг/кг для взрослых 400 mg/kg for adults 200 мг/кг для детей 200 mg/kg for children
Пшеничный крахмал / Wheat starch	—	0
Сахар инвертный / Invert sugar	—	0
Сахароза / Sucrose	—	0
Соевое масло / Soya bean oil	—	0
Сорбитол (сорбит) / Sorbitol (Sorbite)	E420	0
Фенилаланин / Phenylalanine	—	0
Формальдегид / Formaldehyde	—	0
Фруктоза / Fructose	—	0
Этанол* (спирт этиловый) / Ethanol* (ethyl alcohol)	—	0

* Процентное содержание (об/об) в жидких лекарственных формах / * Percentage content (v/v) in liquid dosage forms

** Данные отсутствуют / ** Data not available

Примечание. Данные таблицы приведены в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств» и Руководством по экспертизе лекарственных средств. Т. II. М.: Гриф и К; 2014.

Note. These tables are based on the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 76 «On adoption of requirements for the labelling of medicinal products for human and veterinary use» of November 3, 2016 and the Guideline on Evaluation of Medicinal Products. V. II. Moscow: Grif i K; 2014

дящихся в обращении на территории Российской Федерации, приведены в статье 46 «Маркировка лекарственных средств» Федерального закона № 61-ФЗ: на вторичную (потребительскую) упаковку лекарственных растительных препаратов должна наноситься надпись «Продукция прошла радиационный контроль». Особенности маркировки лекарственных растительных препаратов описаны в ГФ XIII, ОФС.1.1.0019.15 «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (маркировку наносят на вторичную упаковку лекарственных растительных препаратов, дополнительно на пачке с фильтр-пакетами указывают массу одного фильтр-пакета, количество фильтр-пакетов), а также в Руководстве по экспертизе лекарственных средств.

Отличия требований к маркировке лекарственных растительных препаратов, принятых в России и ЕАЭС, обусловлены различными определениями лекарственного растительного препарата. Согласно определению, приведенному в Федеральном законе № 61-ФЗ, лекарственный растительный препарат — лекарственный препарат, произведенный или изготовленный из одного вида лекарственного растительного сырья или нескольких видов такого сырья и реализуемый в расфасованном виде во вторичной (потребительской) упаковке, а по определению, данному в нормативно-правовых актах в сфере обращения лекарственных средств ЕАЭС, лекарственный растительный препарат — лекарственный препарат, содержащий в качестве активных компонентов исключительно лекарственное растительное сырье и (или) препараты на его основе.

Требования и рекомендации нормативных документов Российской Федерации и ЕАЭС определяют не только информационное наполнение макетов первичной и вторичной упаковки лекарственных препаратов, но и рекомендации к способам нанесения маркировки: расположению информации на упаковке, дизайну упаковки, шрифту. Маркировка лекарственных средств не должна противоречить или искажать сведения, содержащиеся в документах регистрационного досье, и носить рекламный характер. Маркировка лекарственных средств должна быть легко читаемой, понятной и достоверной и не вводить в заблуждение потребителей лекарственного препарата. Текст должен быть четким, несмысловым, обеспечивать максимальную удобочитаемость. Необходимо избегать использования создающей блики глянцевой, цвета металлик или иной упаковки, снижающей удобочитаемость информации. Цвет надписей, знаков, символов должен быть контрастным по отношению к фону,

на который нанесена маркировка. Способ нанесения маркировки должен обеспечивать ее сохранность в течение всего срока годности лекарственного препарата при соблюдении установленных условий хранения. Приведены подробные рекомендации по используемому размеру шрифта. Для лекарственных препаратов одного наименования и разных лекарственных форм рекомендуется придерживаться единого основного художественного решения. Для лекарственного препарата одного наименования, но с разным содержанием действующего вещества в одной лекарственной форме рекомендуется предусмотреть или разное цветовое решение, или иной способ, обеспечивающий четкое визуальное выделение дозировки, не допускается указывать конечные нули в дробной части. Статьей 46 Федерального закона № 61-ФЗ и Требованиями ЕАЭС предусмотрено нанесение на упаковку лекарственного препарата предупредительных надписей (табл. 5). В ГФ XIII приведено подробное описание дополнительной информации и предупредительных надписей для препаратов в различных лекарственных формах (табл. 6).

Требованиями ЕАЭС допускается размещение на упаковке штрихкода, голографических и других защитных знаков, стикеров, символов или пиктограмм, которые помогают разъяснить информацию о лекарственном препарате потребителю, дублирование текста маркировки с использованием других языков и шрифта Брайля. В соответствии с национальным законодательством¹⁰ в настоящее время проводится эксперимент по маркировке лекарственных препаратов средствами идентификации (контрольными (идентификационными) знаками) и мониторингу за оборотом отдельных видов лекарственных препаратов в целях обеспечения эффективного контроля качества лекарственных средств, находящихся в обращении, и борьбы с их фальсификацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами рассмотрены требования и рекомендации отечественной нормативной базы и нормативной базы ЕАЭС, содержащие подробные указания относительно нанесения информации, выносимой на упаковку лекарственных препаратов. Соблюдение данных указаний при составлении макетов упаковки лекарственных препаратов для медицинского применения при подготовке документов регистрационного досье позволит потребителю получить необходимую информацию о лекарственном препарате и условиях обращения с ним, что важно для обеспечения безопасности и эффективности применения лекарственного средства.

¹⁰ Постановление Правительства Российской Федерации от 24 января 2017 г. № 62 «О проведении эксперимента по маркировке контрольными (идентификационными) знаками и мониторингу за оборотом отдельных видов лекарственных препаратов для медицинского применения».

Таблица 5. Предупредительные надписи, наносимые на вторичную упаковку лекарственного препарата согласно Федеральному закону Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и требованиям ЕАЭС

Table 5. Warning text indicated on the secondary packaging of medicinal products in accordance with the Federal Law of the Russian Federation No. 61-FZ «On medicines circulation» and the EEU requirements

Требования Федерального закона № 61-ФЗ Requirements of the Federal Law No. 61-FZ	Требования ЕАЭС* EEU requirements*
На вторичную (потребительскую) упаковку лекарственных средств, полученных из крови, плазмы крови, органов и тканей человека, должна наноситься надпись: «Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, к вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В отсутствуют». The secondary (consumer) packaging of medicinal products derived from human blood, plasma, organs and tissues has to contain the following statement: «Antibodies to HIV-1, HIV-2, Hepatitis C virus, and Hepatitis B surface antigen not detected». На первичную упаковку и вторичную (потребительскую) упаковку радиофармацевтических лекарственных средств должен наноситься знак радиационной опасности. The primary and secondary (consumer) packaging of radiopharmaceuticals has to contain the radiation hazard symbol. На вторичную (потребительскую) упаковку гомеопатических лекарственных препаратов должна наноситься надпись: «Гомеопатический». The secondary (consumer) packaging of homeopathic medicinal products has to contain the term: «Homeopathic». На вторичную (потребительскую) упаковку лекарственных растительных препаратов должна наноситься надпись: «Продукция прошла радиационный контроль». The secondary (consumer) packaging of herbal medicinal products has to contain the statement: «Checked for radiation».	На вторичную упаковку обязательно наносятся следующие предупредительные надписи и символы: The secondary packaging has to contain the following warning notices and symbols: а) «Хранить в недоступном для детей месте» «Keep out of the reach of children»; б) «Стерильно» (для стерильных лекарственных средств) «Sterile» (for sterile medicinal products); в) «Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В не обнаружены» (для лекарственных средств, полученных из крови, плазмы крови, органов и тканей человека) / «Antibodies to HIV-1, HIV-2, Hepatitis C virus, and Hepatitis B surface antigen not detected» (for medicinal products derived from human blood, plasma, organs and tissues); г) «Гомеопатический» (для гомеопатических лекарственных препаратов) «Homeopathic» (for homeopathic medicinal products); д) знак радиационной опасности (для радиофармацевтических лекарственных средств) / radiation hazard symbol (for radiopharmaceuticals); е) «Продукция прошла радиационный контроль» (для лекарственных препаратов, представляющих собой фасованное лекарственное растительное сырье) / «Checked for radiation» (for medicinal products in the form of packaged herbal substances). При необходимости на упаковку наносятся другие надписи и символы предупредительного характера, если они предусмотрены в нормативном документе по качеству на препарат. Where applicable, the packaging may contain other warning notices and symbols, if they are stipulated in the product's quality specification. При наличии в промежуточной или вторичной упаковке лекарственного препарата пакетиков (или таблеток) с влагопоглотителем на них должна быть нанесена предупредительная маркировка соответствующего содержания. If there are any desiccant sachets (or tablets) in the intermediary or secondary packaging of the product, they should bear the corresponding warning notices.

* Информация дана в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 76 «Требования к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»

* The information is based on the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 76 «On adoption of requirements for the labelling of medicinal products for human and veterinary use» of November 3, 2016

Таблица 6. Предупредительные надписи и дополнительная информация, наносимые на маркировку лекарственных препаратов, в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ XIII)

Table 6. Warning text and additional information provided in the labelling of medicines in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SPh XIII)

Название общей фармакопейной статьи General monograph	Дополнительная информация (в том числе предупредительные надписи) Additional information (including warning notices)
Аэрозоли ОФС.1.4.1.0002.15 Aerosols OFS.1.4.1.0002.15	«Хранить вдали от отопительной системы и прямых солнечных лучей», «Не вскрывать», «Предохранять от падений и ударов» и другие при необходимости. «Do not expose to heat or direct sunlight», «Do not puncture», «Avoid dropping and damage» and others, if applicable.
Глазные лекарственные формы ОФС.1.4.1.0003.15 Ophthalmic dosage forms OFS.1.4.1.0003.15	На упаковке приводят указание о стерильности. На упаковке многодозовых лекарственных форм указывают срок хранения лекарственного препарата после первого вскрытия. The label has to indicate that the product is sterile. The label of multi-unit dosage forms has to indicate the in-use shelf life.
Лекарственные формы для ингаляций ОФС.1.4.1.0006.15 Inhalation dosage forms OFS.1.4.1.0006.15	В случаях, если для получения рекомендуемой дозы требуется более одного высвобождения, указывают необходимое число высвобождений. If the delivery of the recommended dose needs several actuations, the required number of actuations has to be indicated.

Продолжение таблицы 6

Название общей фармакопейной статьи General monograph	Дополнительная информация (в том числе предупредительные надписи) Additional information (including warning notices)
Мази ОФС.1.4.1.0008.15 Ointments OFS.1.4.1.0008.15	Для стерильных мазей обязательно указание о стерильности. При необходимости на упаковке указывают срок хранения после первого вскрытия. The label of sterile ointments has to indicate that the product is sterile. The in-use shelf life is indicated, if necessary.
Суспензии ОФС.1.4.1.0014.15 Suspensions OFS.1.4.1.0014.15	На этикетке должна быть предусмотрена предупредительная надпись «Перед употреблением взбалтывать». The label has to contain the warning note: «Shake well before using».
Лекарственные формы для парентерального применения ОФС.1.4.1.0007.15 Parenteral dosage forms OFS.1.4.1.0007.15	При использовании антимикробных консервантов указывают концентрацию каждого антимикробного консерванта. Для инфузионных растворов указывают осмолярность, при указании в фармакопейной статье, дополнительно ионный состав в ммоль/л. Если к порошку, порошку лиофилизированному или лиофилизату, предназначенному для приготовления инъекционных или инфузионных лекарственных форм, прилагается упаковка с растворителем, на этикетке упаковки должен быть указан состав растворителя. На упаковке концентратов для приготовления инъекционных или инфузионных лекарственных форм дополнительно должно быть указано, что раствор разводят перед использованием в соответствии с инструкцией по применению. In case antimicrobial preservatives are used, the label has to indicate the concentration of each antimicrobial preservative. The label of solutions for infusion has to indicate osmolality and, if required by the pharmacopoeial monograph, ion composition (mmol/l). If a powder, lyophilised powder, or lyophilisate for solution for injection/infusion are accompanied by a container with the reconstitution solution, the label has to state the composition of the reconstitution solution. The packaging of concentrates for solution for injection/infusion has to state that the product is reconstituted before use according to the instructions in the patient information leaflet.
Эмульсии ОФС.1.4.1.0017.15 Emulsions OFS.1.4.1.0017.15	На этикетке должна быть предусмотрена предупредительная надпись «Перед употреблением взбалтывать». The label has to contain the warning note: «Shake well before using».
Настойки ОФС.1.4.1.0019.15 Tinctures OFS.1.4.1.0019.15	На упаковке указывают количество исходного сырья в граммах и количество спирта этилового указанной концентрации, достаточное для получения 1 л настойки. The packaging has to indicate the amount of the starting material in grams and the volume of ethyl alcohol of the specified concentration required to obtain 1 litre of tincture.
Экстракты ОФС.1.4.1.0021.15 Extracts OFS.1.4.1.0021.15	Для жидких экстрактов в случае возможности образования (при хранении) осадка, на этикетке указывают «Возможно образование осадка», «Перед употреблением взбалтывать». If liquid extracts may form precipitate (during storage), the label has to contain the following warnings: «May form precipitate», «Shake well before using».
Таблетки ОФС.1.4.1.0015.15 Tablets OFS.1.4.1.0015.15	На упаковке растворимых, шипучих и диспергируемых таблеток должна быть предупредительная надпись о необходимости предварительного растворения таблеток перед применением. The package of soluble, effervescent, and dispersible tablets has to contain a warning notice, that the tablet has to be dissolved before using.
Трансдермальные пластыри ОФС.1.4.1.0016.15 Transdermal patches OFS.1.4.1.0016.15	На первичной упаковке указывают название и содержание действующего вещества в трансдермальном пластыре, количество подаваемого действующего вещества в единицу времени. The primary packaging has to indicate the active ingredient and its content in the transdermal patch, as well as the amount of the active ingredient released per unit of time.
Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов ОФС.1.1.0019.15 Packaging, labelling and transportation of herbal substances and herbal medicinal products OFS.1.1.0019.15	Для лекарственных препаратов, представляющих собой фасованное лекарственное растительное сырье, на пачке с фильтр-пакетами указывают массу 1 фильтр-пакета, количество фильтр-пакетов. The packaging with sachets containing herbal substances has to indicate the mass of 1 sachet and the total number of sachets.
Бактериофаги ОФС.1.7.1.0002.15 Bacteriophages OFS.1.7.1.0002.15	В маркировке лекарственной формы «раствор» должна быть предусмотрена предупредительная надпись «При помутнении не применять». The label of the «solutions» dosage form has to contain the warning notice: «Do not use if turbid».

Сравнительный анализ нормативной базы Российской Федерации и ЕАЭС показал сходство требований, однако обнаружены и расхождения. В отличие от нормативной базы ЕАЭС, требования и рекомендации к маркировке лекарственных препаратов в Российской Федерации содержатся в документах, часть из которых носит обязательный, а часть — рекомендательный характер, что является недостатком отечественной нормативной базы. Требования ЕАЭС к маркировке во многом совпадают с требованиями Федерального закона № 61-ФЗ и рекомендациями Руководства по экспертизе лекарственных средств. Однако при общей схожести объема информации, наносимой на упаковку по требованиям ЕАЭС и России, имеется и ряд отличий. Одним из таких существенных отличий является информация о составе препарата, которую необходимо представлять на вторичной (потребительской) упаковке лекарственного препарата. Выявленные отличия в требованиях к маркировке лекарственных растительных препаратов объясняются различными определениями лекарственного

растительного препарата, принятыми в Российской Федерации и ЕАЭС.

Проведенный анализ показывает необходимость унификации определений и требований отечественной нормативной базы в области маркировки упаковки лекарственных препаратов с нормативными правовыми актами в сфере обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ковалева ЕЛ, Лякина МН, Баландина ИА, Багирова ВЛ. Информационное сопровождение и графическое оформление упаковок лекарственных средств. *Фармация*. 2006;(6):5–8. [Kovaleva EL, Lyakina MN, Balandina IA, Bagirova VL. Information content and graphic design of drug packages. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2006;(6):5–8 (In Russ.)]
2. Ковалева ЕЛ, Виноградова НА, Новиченко АН, Пичугин АВ. Требования к маркировке лекарственных средств в России и Европейском Союзе. *Фармация*. 2015;(4):3–8. [Kovaleva EL, Vinogradova NA, Novichenko AN, Pichugin AV. Drug labeling requirements in Russia and the European Union. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2015;(4):3–8 (In Russ.)]
3. Прокопов ИА, Ковалева ЕЛ, Митькина ЛИ, Пичугин АВ. Указание условий хранения лекарственных средств в нормативной документации и на макетах упаковки. Актуальные вопросы. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;(3):26–30. [Prokopov IA, Kovaleva EL, Mit'kina LI, Pichugin AV. Relevant issues of indicating drug storage conditions in normative documentation and in drug package design. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(3):26–30 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Митькина Лидия Ивановна, д-р фарм. наук. Lidia I. Mit'kina, Dr. Sci (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7174-570X>
Еричева Анастасия Константиновна. Anastasia K. Elicheva.

Статья поступила 14.08.2018
После доработки 18.12.2018
Принята к печати 24.05.2019

Article was received 14 August 2018
Revised 18 December 2018
Accepted for publication 24 May 2019

Опыт практического использования автоматизированной информационной системы «Документооборот поставок научно-технической продукции»

Д. П. Андреев, А. В. Козлович*, С. С. Андреев, И. Г. Раков

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

Резюме. Производство научно-технической продукции является одним из наиболее перспективных направлений с точки зрения внедрения систем автоматизации. Информационная система «Документооборот поставок научно-технической продукции» представляет собой набор уникальных ресурсов, обеспечивающих каждого из участников возможностью взаимодействовать с единой базой электронных документов и данных в соответствии с назначенными правами доступа. Цель работы — анализ опыта практического использования автоматизированной информационной системы «Документооборот поставок научно-технической продукции» и ее роли в оптимизации деятельности учреждения. Рассмотрены основные результаты применения указанной информационной системы для хранения и управления данными, обеспечивающими процесс реализации научно-технической продукции. Дана общая оценка влияния программного продукта на выполнение требований по контролю за сроками производства, на автоматизацию процессов формирования и утверждения служебной и финансовой документации. Показана практика ведения обмена документами в электронной форме с учетом возможностей CALS/PLM технологий. Обоснована необходимость использования автоматизированного документооборота для изготовления и сбыта образцов штаммов патогенных микроорганизмов, аттестованных стандартных образцов для предприятий отрасли, непериодической печатной продукции. Определена возможность дальнейшей оптимизации каналов взаимодействия с внешним заказчиком, практики ведения обмена документами в электронной форме. Преимущества, получаемые от использования системы, содействуют сокращению затрат рабочего времени руководителей и сотрудников на оформление пакета документов и на формирование заявок за счет сокращения рутинных манипуляций при обработке входящей информации и документов, поступающих в приложениях к заявкам и обращениям. Данная информационная система рассмотрена как пример, иллюстрирующий преимущества применения цифровых технологий.

Ключевые слова: информационные технологии; автоматизированная информационная система; документооборот; научно-техническая продукция; CALS/PLM технологии

Для цитирования: Андреев ДП, Козлович АВ, Андреев СС, Раков ИГ. Опыт практического использования автоматизированной информационной системы «Документооборот поставок научно-технической продукции». *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):118–122. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-118-122>

***Контактное лицо:** Козлович Алексей Викторович; Kozlovitch@expmed.ru

Experience of Practical Application of the Automated Information System «Document Management of Scientific and Technical Product Deliveries»

D. P. Andreev, A. V. Kozlovich*, S. S. Andreev, I. G. Rakov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The production of scientific and technical products is one of the most promising areas in terms of implementation of automation systems. The information system «Document management of scientific and technical product deliveries» is a set of unique resources that provides each of the participants with the opportunity to operate a single database of electronic documents and data in accordance with their respective access rights. The aim of the study was to assess the experience of practical application of the automated information system «Document management of scientific and technical product deliveries» and its role in the optimisation of the organisation's activities. The article discusses the main results of the information system application for data storage and data management enabling the marketing of scientific and technical products. The paper provides a general assessment of how the software product helps meet the requirements for monitoring the production timeframe, automate the drafting and approval of work-related and financial documentation. It describes the process of electronic document exchange using the capabilities of CALS/PLM technologies. The paper illustrates the need to use the automated document flow for production and marketing of samples of pathogenic microorganism strains, certified reference standards for commercial enterprises, non-periodical publications. It outlines the prospects for further optimisation of channels of communication with external customers, and electronic exchange of documents. The benefits from the use of this system help reduce the time spent by managers and employees on the compilation of packages of documents and on the preparation of applications — by automating routine manipulations in processing incoming information and documents received as annexes to applications and requests. This information system was analysed to illustrate the benefits of digital technologies.

Key words: information technologies; automated information system; document flow; scientific and technical products; CALS/PLM technologies

For citation: Andreev DP, Kozlovich AV, Andreev SS, Rakov IG. Experience of practical application of the automated information system «Document management of scientific and technical product deliveries». *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):118–122. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-118-122>

*Corresponding author: Alexey V. Kozlovich; Kozlovitch@expmed.ru

Современная политика формирования единого информационного пространства в значительной мере оказывает влияние на перспективы развития наукоемких отраслей экономики. Высокотехнологичные предприятия и организации придерживаются действующей концепции информатизации, закладывая в планы дальнейшего совершенствования своей деятельности создание автономных механизмов управления бизнес-процессами. При этом уже существующие информационные системы объединяются в комплекс с серверными вычислительными мощностями и интерактивными коммуникационными сетями.

Разделяя указанный подход и принимая во внимание собственный опыт, федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) успешно внедряет и регулярно модернизирует автоматизированные информационные системы (АИС). В рамках этой работы неоднократно было отмечено, что результативность присутствует даже при использовании АИС только в качестве инструмента хранения данных. Однако наиболее перспективным направлением на сегодняшний день считается использование цифровых нейросетей для обработки накопленных знаний.

Цель работы — анализ опыта практического использования автоматизированной информационной системы «Документооборот поставок научно-технической продукции» и ее роли в оптимизации деятельности учреждения.

Необходимость использования компьютерных технологий в деятельности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и, в частности, в сфере производства и реализации научно-технической продукции (НТП) обусловлена комплексом причин. Во-первых, часть производимой продукции реализуется учреждением в рамках приносящей доход деятельности. Коммерческая составляющая играет важную роль в деятельности центра, поскольку подразумевает:

- неограниченное число как реальных, так и потенциальных покупателей, обязательно требующих идентификации и постоянного обслуживания;
- обязательное наличие финансовых отношений между лицами, представляющими продавца и покупателя.

Во-вторых, в данном бизнес-процессе присутствует ряд уникальных производственных особенностей:

- создание НТП осуществляется с использованием набора экспертных знаний и справочных данных;
- требуется участие нескольких структурных подразделений, последовательно отвечающих за разработку, генерацию и реализацию продукции;
- на выполняемую работу критическое влияние оказывают внешние факторы (заказ, оплата и др.).

В-третьих, имеет место достаточно сложный алгоритм взаимодействий между группами ответственных лиц, совместная эффективная работа которых возможна только при выполнении следующих условий:

- наличие детерминированной координации действий всех участников;
- соблюдение строгой и прозрачной отчетности, отраженной в значительном объеме документооборота;
- своевременное согласование ряда многостраничных документов.

Представленные особенности характерны для изготовления и сбыта таких востребованных рынком объектов, как:

- образцы штаммов из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (III–IV групп) единого национального фонда патогенных микроорганизмов;
- отраслевые стандартные образцы (согласно п. 3.4.3 межгосударственного стандарта ГОСТ 8.315-97. Государственная система обеспечения единства измерений);
- непериодическая печатная продукция.

Для обеспечения всех установленных потребностей и достижения поставленных целей силами сотрудников управления информатизации ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России была разработана и внедрена в эксплуатацию информационная система «Документооборот поставок научно-технической продукции» (ИС «Документооборот НТП»). На созданную ИС «Документооборот НТП» получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ [1].

В функциональном плане вышеназванная ИС представляет собой широкий арсенал уникальных ресурсов, обеспечивающих каждого из участников возможностью контактировать с единой базой электронных документов и данных в соответствии с назначенными правами доступа.

На стадии подготовки ИС «Документооборот НТП» к внедрению была проведена модернизация алгоритма получения и выполнения заказа на НТП. Кардинально обновлены доктрина и принципы администрирования бизнес-процессов, в которых

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России выступает организацией-реализатором продукции и услуг.

В совокупности это позволило поднять эффективность проверки поступающей информации и повысить общую оперативность действий сотрудников, отвечающих за обработку документации. В том числе сокращен перечень манипуляций, выполняемых при подготовке, контроле и проведении платежных документов. Ряд доработок проекта был направлен на приведение внутренних документов к единому типу составления и оформления для возможности их централизованной автоматизированной обработки.

Одним из результатов опыта эксплуатации ИС «Документооборот НТП» стала возможность дальнейшей оптимизации порядка взаимодействия с внешним заказчиком. Например, была предложена практика ведения обмена документами в электронной форме. При этом лучшим вариантом признано использование CALS/PLM технологий (CALS — от англ. Continuous Acquisition and Lifecycle Support, непрерывная информационная поддержка поставок и жизненного цикла. PLM — от англ. Product Lifecycle Management, управление жизненным циклом) [2].

Было установлено, что наиболее распространенные решения таких задач сопряжены с привлечением телематики. Последняя опирается на баланс централизованной и рассредоточенной обработки большого массива оцифрованной информации без участия человека и требует должных мер по соблюдению норм неразглашения личной и коммерческой информации.

В подобном случае универсальной средой для взаимодействия поставщика услуг с потребителем выступает глобальная информационно-коммуникационная сеть Интернет. В рамках укрепления маркетинговой стратегии на официальном интернет-ресурсе ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (<https://www.regmed.ru>) представлено подробное описание всего спектра реализуемой инновационно-технологической НТП. Свободный доступ к целевой информации в существенной мере способствовал упрощению процесса выбора необходимого товара заинтересованными лицами и переходу к этапу создания заявки на приобретение. Портал оказался весьма привлекательным не только за счет простоты использования многоцелевого реверсивного канала связи, функционирующего в режиме реального времени. Были реализованы системные решения, позволившие наладить конфиденциальное общение между организациями — участниками процесса. Предоставлена возможность передавать зашифрованную информацию строго ограниченному кругу лиц на основании индивидуализированного или группового принципа оповещения.

Переход к новому уровню взаимодействия с потребителями продукции не только упростил поряд-

док перемещения пользователя в тематический раздел сайта, представляющий НТП, выпускаемую при участии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Изначально закладывалась возможность применения правил разграничения доступа, определялись порядок и глубина доступа лица к объектам информационной системы. Подразумевалось, что рядовой непривилегированный пользователь получает шанс ознакомиться только с общедоступной информацией, а совокупность дополнительных возможностей предоставляется только авторизованным заказчиком, что в значительной мере экономит их время.

Расширение автоматизации при заполнении бланков и форм упростило манипуляции заказчика при вводе информации в систему ИС «Документооборот НТП». Двустороннее общение между покупателем и ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России помогло ускорить исправление случайных ошибок и недочетов, возникающих на этапах регистрации заказчика в системе или при оформлении заявки. Появились возможности проведения удаленных консультаций и ускоренного согласования договоров; упростился ход формирования уведомительных писем.

Результативность ИС «Документооборот НТП» повышается за счет использования широкого набора возможностей. Так, на начальной стадии оформления и подготовки заказа введены в работу:

- рабочая форма проверки и ввода данных при оформлении новой записи;
- инструмент унификации ввода документов, торговых названий и финансовых реквизитов;
- многофункциональный эргономичный инструмент поиска заявок;
- единая библиотека типовых шаблонов, применяемых для сокращения объемов ручного труда и ускорения создания служебной документации различного уровня;
- упрощенный порядок ознакомления ответственных сотрудников с предварительными заказами и пожеланиями посетителей сайта, анализ которых позволяет уточнить прогнозирование потребностей учреждения в готовой продукции, оборудовании и расходных материалах;
- возможность просмотра истории заявок для каждого зарегистрированного покупателя, что ценно при планировании конкретной деятельности и оценке возможных перспектив;
- усовершенствованный план обмена документами между координатором реализации в лице управления материально-технического обеспечения (УМТО) и ответственными лабораториями-исполнителями;
- подсистема согласования документов, формируемых в ходе выполнения заявки;
- улучшенная версия интерфейса для ответственных сотрудников ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, участвующих в производстве НТП;

- новая модель взаимодействия между отделами, участвующими в производственных и финансовых схемах;
- усовершенствованная система формирования отклика сотрудников учреждения на полученное сообщение.

Преимущества, получаемые от использования ИС «Документооборот НТП», содействуют сокращению затрат рабочего времени на оформление пакета документов и на формирование заявок за счет автоматизации рутинных манипуляций при обработке входящей информации и документации, поступающей в приложениях к заявкам и обращениям.

Использование ИС «Документооборот НТП» положительно отразилось и на эффективности труда сотрудников управления инженерно-технического и хозяйственного обеспечения. Возрос темп вынесения решения по заявкам, требующим проверки на соответствие техническим требованиям, и по подтверждению наличия заказанной продукции в перечне реализуемых на текущий момент номенклатур.

Значительные успехи имеются в отношении контроля формирования документации по заявке, исполнению регламентных работ и сроков передачи НТП. При этом:

- активно применяется функция системного отслеживания заявки и связанных с ней документов и НТП на всех этапах их жизненного цикла;
- отлажен механизм контроля сроков исполнения работ, использующий рассылку электронных уведомлений, отправляемых на рабочую почту ответственным исполнителям и их руководителям;
- лица, ведущие слежение за сроками исполнения какого-либо звена производственного цикла, имеют возможность уточнять положение любого элемента заказа в реальном времени.

На завершающих этапах бизнес-процесса, связанных с оплатой товара и передачей его приобретателю, ИС «Документооборот НТП» оказывается эффективной по следующим операциям:

- отправление заказчику письменного оповещения о готовности приобретаемой НТП осуществляется автоматически;
- все отгрузочные документы на каждую партию НТП составляются с использованием интерактивного инструментария, максимально упрощающего их оформление;
- происходит отслеживание сроков и процентного соотношения начисленной предоплаты, а также окончательной оплаты счета для каждого из приобретателей.

Ответственный руководитель может оперативно получать сведения о наличии заказов, следить за оформлением договоров и узнавать об оплате счетов.

Настоящий программный комплекс изначально создавался по принципу открытой структуры,

имеющей постоянные динамические связи с множеством других служебных систем единого информационного пространства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Это подразумевает наличие постоянного взаимодействия нормативно-справочной и оперативно-технической информацией с множеством баз данных, а также приобретенных и самостоятельно разработанных прикладных программных продуктов [3].

Сотрудниками ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России налажена регулярная двусторонняя трансляция данных из системы «1С: Бухгалтерия», что позволяет вывести из внутреннего документооборота служебную переписку с финансовыми отделами и бухгалтерией [4].

В результате ввода в эксплуатацию ИС «Документооборот НТП» современная схема движения информации становится высокоавтоматизированной и не требует постоянного согласования в форме служебных записок. Оперативность передачи информации объективно возрастает начиная с этапа регистрации заявки и заканчивая этапом отгрузки готовой продукции. Отмечается повышение количества обращений заинтересованных организаций на официальный сайт ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России как с целью приобретения НТП, так и с целью сотрудничества в иных формах.

Сочетание централизованного перевода документов в уникальную цифровую форму и последующего постоянного контроля за перемещением каждого из экземпляров обеспечивает прозрачность деятельности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [5].

В процессе эксплуатации проведена доработка ИС «Документооборот НТП», направленная на устранение выявленных недоработок и расширение функционала, запрошенного пользователями. Выполнение такого рода действий может рассматриваться как переход на более высокий уровень программного обеспечения [6, 7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Управление информатизации ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России провело подробный анализ информации, собранной в процессе разработки, создания и внедрения ИС «Документооборот НТП». Все теоретические наработки были внедрены в практику применения системы. В служебный документооборот учреждения добавлены модули, автоматизирующие ведение общего учета и тематического делопроизводства.

Сотрудниками учреждения, использующими в своей работе ИС «Документооборот НТП», предложен ряд идей, послуживших основой для оптимизации ряда бизнес-процессов, обеспечивающих коммерческую реализацию НТП. Стало возможным долгосрочное планирование загруженности

структурных подразделений ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Профильное применение системы в значительной степени повысило логичность и скорость документооборота Общего отдела, УМТО, лабораторий Испытательных центров.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР

AAAA-A18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кошечкин КА, Харченко ЮИ, Котилов ВН, Авчурицкий СВ, Коптелов КВ, Астапкович НВ и др. Автоматизированная информационная система «Документооборот поставок научно-технической продукции». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2017618164; 2017. [Koshechkin KA, Kharchenko Yul, Kotikov VN, Avchurinsky SV, Koptelov KV, Astapkovich NV, et al. Automated information system «Document flow of supplies of scientific and technical production». Certificate of state registration for computer program No. 2017618164; 2017 (In Russ.)]
2. Кошечкин КА. Перспективы применения CALS/PLM-технологий в фармацевтической отрасли Российской Федерации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2014;(1):47–9. [Koshechkin KA. Perspectives of using CALS/PLM-technologies in the pharmaceutical industry of the Russian Federation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2014;(1):47–9 (In Russ.)]
3. Кошечкин КА. Возможности внедрения CALS/PLM-технологий на основных этапах жизненного цикла лекарственных средств. *Новости GMP*. 2017;(1):205–9. [Koshechkin KA. Opportunities of CALS/PLM-technologies implementation in the main phases of life cycle of medical products. *Novosti GMP = GMP News*. 2017;(1):205–9 (In Russ.)]
4. Меркулов ВА, Бунятян НД, Кошечкин КА, Сбоев ГА. Современное состояние и перспективы развития единого информационного пространства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(4):38–41. [Merkulov VA, Bunyatyan ND, Koshechkin KA, Sboev GA. Current status and future development of single information space of the FSBI «SCEMAP» of the Russian Ministry of Health. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(4):38–41 (In Russ.)]
5. Кошечкин КА, Олефир ЮВ, Меркулов ВА. Управление информационным сопровождением жизненного цикла лекарственных средств. Концепции применения элементов CALS/PLM-технологий для информационной поддержки жизненного цикла лекарственных средств. М.: Полиграф-Плюс; 2015. [Koshechkin KA, Olefir YuV, Merkulov VA. *Management of information support of the life cycle of medicines. Concepts of using elements of CALS/PLM-technologies for information support of the life cycle of medicines*. Moscow: Poligraf-Plus; 2015 (In Russ.)]
6. Кошечкин КА. Применение методов Agile и Scrum при разработке программного обеспечения для автоматизации экспертизы лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017;7(1):64–8. [Koshechkin KA. Application of Agile and Scrum methods in software development for automation of medical products evaluation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;7(1):64–8 (In Russ.)]
7. Свиштунов АА, Олефир ЮВ, Лебедев ГС, Кошечкин КА. Формирование единого информационного пространства в сфере обращения лекарственных средств. *Фарматека*. 2017;(S2):51–5. [Svistunov AA, Olefir YuV, Lebedev GS, Koshechkin KA. Formation of a single information space in the sphere of drug circulation. *Farmateka = Pharmateca*. 2017;(S2):51–5 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Андреев Данила Павлович. Danila P. Andreev.

Козлов Алексей Викторович. Alexey V. Kozlovich. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0755-1625>

Андреев Сергей Сергеевич. Sergey S. Andreev. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0143-9907>

Раков Иван Геннадьевич. Ivan G. Rakov.

Статья поступила 27.04.2018

После доработки 14.01.2019

Принята к печати 24.05.2019

Article was received 27 April 2018

Revised 14 January 2019

Accepted for publication 24 May 2019

Возможность применения капиллярной газожидкостной хроматографии в фармацевтическом анализе при определении парабенов

А. Н. Иоутси*, М. А. Сумцов, Д. А. Артюшенко, Д. В. Быченков, А. Н. Блинов

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

Резюме. В практике фармацевтического анализа для определения парабенов применяется имеющий ряд серьезных недостатков метод классической газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием насадочных колонок. **Цель работы:** разработать методику более эффективного определения парабенов в фармацевтических субстанциях и лекарственных средствах методом капиллярной ГЖХ. **Материалы и методы:** исследования проводились на газовых хроматографах Agilent 6890N и Agilent 7890B с пламенно-ионизационным детектором, оснащенных автосамплерами Agilent 7683B и Agilent G4513A соответственно. В работе использованы хроматографические колонки ZB-1 15 м × 0,32 мм × 0,25 мкм, DB-1 30 м × 0,32 мм × 3,0 мкм, CP-Sil 5-CB 30 м × 0,32 мм × 3,0 мкм. **Результаты:** разработана методика определения метилпарабена и пропилпарабена с использованием метода газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой. Определены параметры (эффективность хроматографической системы, воспроизводимость площадей пиков, асимметрия пиков) хроматографического определения парабенов методом капиллярной ГЖХ и методом ГЖХ с насадочной колонкой. Обозначены перспективы одновременного определения нескольких соединений с помощью предложенной методики: за 9 минут была разделена четырехкомпонентная смесь метил-, этил-, пропил- и бутилпарабена. Проведена частичная валидация методики на примере лекарственного средства «Лома Люкс Псориалис». Установлен диапазон линейности методики, предел количественного определения метилпарабена и пропилпарабена, подтверждены правильность и прецизионность (сходимость и внутрилабораторная воспроизводимость). **Выводы:** проведенные испытания позволили выбрать оптимальные хроматографические условия для быстрого и прецизионного определения метилпарабена и пропилпарабена в лекарственных средствах. Разработанную методику рекомендовано использовать для контроля содержания данных соединений в средствах медицинского применения. **Ключевые слова:** контроль качества; газожидкостная хроматография; парабены; капиллярные колонки; насадочные колонки; валидация

Для цитирования: Иоутси АН, Сумцов МА, Артюшенко ДА, Быченков ДВ, Блинов АН. Возможность применения капиллярной газожидкостной хроматографии в фармацевтическом анализе при определении парабенов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):123–130. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-123-130>

***Контактное лицо:** Иоутси Анна Николаевна; Youtsis@expmed.ru

Applicability of Capillary Gas-Liquid Chromatography for Determination of Parabens in Pharmaceutical Analysis

A. N. Ioutsy*, M. A. Sumtsov, D. A. Artyushenko, D. V. Bychenkov, A. N. Blinov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The traditional gas-liquid chromatography (GLC) method using packed columns is still used in pharmaceutical analysis for determination of parabens, despite the fact that this technique has a number of serious drawbacks. **The aim** of the study was to develop a more effective capillary GLC method for determination of parabens in active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. **Materials and methods:** the study was performed using Agilent 6890N and Agilent 7890B systems with flame-ionisation detectors. The systems were equipped with Agilent 7683B and Agilent G4513A autosamplers, respectively. The following columns were used in the study: ZB-1 15 m × 0.32 mm × 0.25 μm, DB-1 30 m × 0.32 mm × 3.0 μm, CP-Sil 5-CB 30 m × 0.32 mm × 3.0 μm. **Results:** the authors developed a method for methylparaben and propylparaben determination using capillary column GLC. The chromatographic parameters (chromatographic system performance, reproducibility of peak areas, peak asymmetry) were determined for both capillary and packed column GLC. The authors outlined the prospects for simultaneous determination of several compounds using the proposed method: a four-component mixture containing methyl-, ethyl-, propyl-, and butylparaben was separated in 9 minutes. The authors used Loma Lux Psoriasis to perform partial validation of the test method. They determined the linearity range and the limit of quantitation for methylparaben and propylparaben, and verified accuracy and intermediate precision of the test method. **Conclusions:** the results of the study allowed for selection of optimal chromatographic conditions for rapid and high-precision determination of methylparaben and propylparaben in medicinal products. The developed method is recommended for control of the content of these compounds in medicinal products.

Key words: quality control; gas-liquid chromatography; parabens; capillary columns; packed columns; validation

For citation: Ioutsi AN, Sumtsov MA, Artyushenko DA, Bychenkov DV, Blinov AN. Applicability of capillary gas-liquid chromatography for determination of parabens in pharmaceutical analysis. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):123–130. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-123-130>

*Corresponding author: Anna N. Ioutsi; Youtsi@expmed.ru

Фенолкарбоновые кислоты (ФКК) — это соединения, содержащие карбоксильную группу, связанную с бензольным кольцом [1, 2]. К данной группе соединений, в частности, относятся производные бензойной кислоты. Заметно возросший интерес к этим веществам связан с их высокой антиоксидантной, антимутагенной и антиканцерогенной активностью. ФКК в свободной форме и в виде простых или сложных эфиров присутствуют во многих лекарственных растениях, чае, фруктах. Вкусовые характеристики большинства напитков растительного происхождения во многом определяются наличием в их составе этих соединений. По содержанию отдельных ФКК-маркеров можно судить о подлинности алкогольной продукции, например вин. Некоторые ФКК и их эфиры находят широкое применение в качестве консервантов.

В фармацевтической области широко используются эфиры *пара*-гидроксibenзойной кислоты — парабены. Парабены входят в состав многих лекарственных средств в качестве вспомогательных веществ, а именно консервантов. Метилпарабен и пропилпарабен особенно часто применяются в составе капсул, глазных капель, гелей, кремов и мазей для наружного применения.

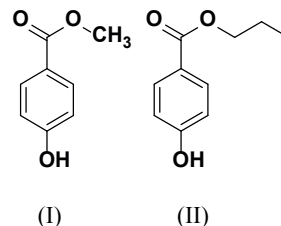
Вспомогательные вещества, содержащиеся в лекарственных средствах, могут оказывать нежелательное фармакологическое действие на организм человека, например вызвать крапивницу, связанную с непереносимостью определенного компонента. Обычно для оценки безопасности вспомогательных веществ в лекарственных формах в качестве критериев используют острую и прочие виды токсичности. Существует 5 классов токсичности вспомогательных веществ. Производные *пара*-гидроксibenзойной кислоты относятся к пятому классу (самая высокая токсичность). Таким образом, возникает необходимость в контроле содержания ФКК в лекарственных средствах. Стоит отметить, что в сочетании с другими консервантами острая токсичность парабенов не увеличивается, что позволяет использовать их для комбинированной защиты от микробиологической контаминации¹.

Содержание ФКК и их производных в различных объектах определяют в основном хроматографическими и электромиграционными методами, в том числе с помощью капиллярного электрофореза, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным детектированием,

гидрофильной хроматографии, ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии [3–7], газовой хроматографии (ГХ) [8, 9]. Для повышения чувствительности определения метод ВЭЖХ зачастую сочетают с предварительными методами концентрирования, а ГХ — с дериватизацией ФКК в их летучие аналоги².

Классическая газовая хроматография с использованием насадочных хроматографических колонок постепенно выходит из применения, уступая место газожидкостной хроматографии с использованием капиллярных колонок. Несмотря на это, пока еще разрабатываются нормативные документы (НД), регламентирующие порядок контроля качества средств медицинского применения, предполагающие использование достаточно устаревшего метода определения парабенов в различных лекарственных формах.

Целью данной работы являлась разработка методики определения парабенов — метилпарабена (I) и пропилпарабена (II) — в лекарственных средствах методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с применением капиллярной колонки.



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен и бутилпарабен (USP RS, USP, США), хлороформ (осч, «Мерк», Германия). Для приготовления растворов использовали весы аналитические XP204 («МЕТТЛЕР ТОЛЕДО», Германия), систему очистки воды Milli-Q Integral 5 (Millipore, France), шейкер IKA KS 501 digital (IKA®-Werke GmbH & Co, Germany). Для газохроматографического анализа использовали газовые хроматографы Agilent 6890N и Agilent 7890B с пламенно-ионизационным детектором, оснащенные автосамплерами Agilent 7683B и Agilent G4513A соответственно (Agilent Technologies, USA).

В качестве подвижной фазы использовали гелий (газ-носитель). В качестве неподвижных фаз использовали хроматографические капиллярные ко-

¹ Сумцов МА. Анализ и стандартизация производных парагидроксibenзойной кислоты: дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2007.

² Иоутси АН. Разделение полярных соединений капиллярным электрофорезом и ВЭЖХ на материалах, послойно модифицированных поликатионами и полианионами: дис. ... канд. хим. наук. М.; 2016.

лонки ZB-1 (15 м × 0,32 мм × 0,25 мкм) (Phenomenex, США), DB-1 (30 м × 0,32 мм × 3,0 мкм), CP-Sil 5-CB (30 м × 0,32 мм × 3,0 мкм) (Agilent Technologies, США), где в качестве модификатора поверхности выступает диметилполисилоксан (100 %), насадочную колонку, представляющую собой аналог вышеуказанных колонок SE-30 (6 футов × 1/8 дюйма, 80–100 меш) («Алтек», США).

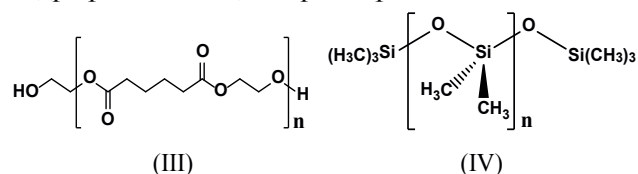
Методику испытывали на примере препарата «Лома Люкс Псориасис». В работе использовали растворы изучаемых парабенов в хлороформе с концентрацией 0,13–1,45 мг/мл. Данная концентрация соответствует диапазону 10–120 % от концентрации метил-*пара*-гидроксibenзоата, которая заявлена для препарата «Лома Люкс Псориасис». Приготовление стандартных растворов осуществляли путем растворения точного количества стандартных образцов парабенов в хлороформе. Для приготовления испытуемого раствора 4 мл препарата «Лома Люкс Псориасис» экстрагировали 5 мл хлороформа. Все растворы хранили при температуре 4 °С. Хлороформный экстракт использовали непосредственно для анализа.

Около 2,0 мл всех используемых растворов перед анализом помещали в вials для автосамплера и осуществляли ввод 1,0 мкл жидкой фазы в хроматографическую колонку. Анализ проводили при хроматографических условиях, близких к установленным НД фирмы-производителя. Регистрировали хроматограммы и проводили обработку результатов с помощью программного обеспечения Open Lab версии 2.2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методика была разработана на примере лекарственного средства «Лома Люкс Псориасис» (США). Согласно НД фирмы-производителя этого препарата для определения парабенов используют насадочную колонку размером 100 см × 0,3 см с диаметром частиц 0,1–0,125 мкм. Сорбент, заполняющий колонку, представляет собой диатомитовый носитель хромосорб AW-HMCS (основа — кремнезем), модифицированный 3 % ПЭГА (полиэтиленгликоля адипинат) и 1 % ортофосфорной кислоты. При использовании полярных неподвижных фаз природа носителя лишь в незначительной степени влияет на величины удерживания, поскольку тяжелые молекулы полярного модификатора блокируют активные полярные центры на поверхности носителя (кремнезема). Подобное модифицирование увеличивает гидрофильность стационарной фазы [10], а изучаемые соединения ввиду своей природы могут иметь высокое сродство к такой неподвижной фазе. Выбранные температуры колонки (190 °С), инжектора и детектора (220 °С) определяются высокими температурами кипения определяемых парабенов, скорость потока газа-носителя установлена 40 мл/мин.

Несмотря на то, что длина колонки в методике, предложенной фирмой-производителем, всего 1 м, и размер зерна довольно небольшой, полярные соединения метилпарабен и пропилпарабен достаточно сильно удерживаются на этой колонке и не элюируются с поверхности сорбента в течение 1 ч. Полидиметилсилоксан в капиллярной колонке покрывает всю поверхность внутренней стенки капилляра, в то время как полярный адипинат полиэтиленгликоля (III) модифицирует поверхность носителя. В случае с капиллярной колонкой, модифицированной полидиметилсилоксаном (100 %) (IV), мы имеем дело с более гидрофобной стационарной фазой.



В случае капиллярной ГЖХ помимо физико-химических свойств колонки можно в большей степени варьировать величину пробы и скорость потока газа-носителя, что открывает большие возможности для определения полярных производных *пара*-гидроксibenзойной кислоты методом ГЖХ.

Основываясь на вышесказанном, мы предположили, что колонки, модифицированные полидиметилсилоксаном, позволят элюировать парабены быстрее и получить на хроматограммах пики с лучшими хроматографическими параметрами (асимметрия пика, эффективность, разрешение между пиками и т. д.). Кроме того, такие колонки доступны и применяются для использования в самых разных сферах. Что касается насадочных колонок, то наиболее распространенными являются силиконовые подвижные фазы. Для дальнейших экспериментов мы выбрали коммерчески доступные капиллярные колонки, модифицированные полидиметилсилоксаном (100 %), и насадочную колонку SE-30, представляющую собой силиконовый эластомер (каучук) — сорбент средней полярности. Неподвижные фазы отличались фирмой-производителем и геометрическими параметрами.

Определение парабенов на насадочной колонке SE-30. На насадочной колонке SE-30, как мы и предполагали, парабены элюировались довольно быстро. Мы проводили элюирование при высоких температурах (210 °С для колонки, 220 °С — для детектора и инжектора), а скорость потока газа-носителя составила 10 мл/мин, при более высокой скорости потока газа-носителя пики парабенов на хроматограмме не разделились бы до базовой линии. Было проинжектировано 6 стандартных растворов парабенов. Содержание производных *пара*-гидроксibenзойной кислоты в них составляло примерно 100 % относительно номинала (рис. 1). Относи-

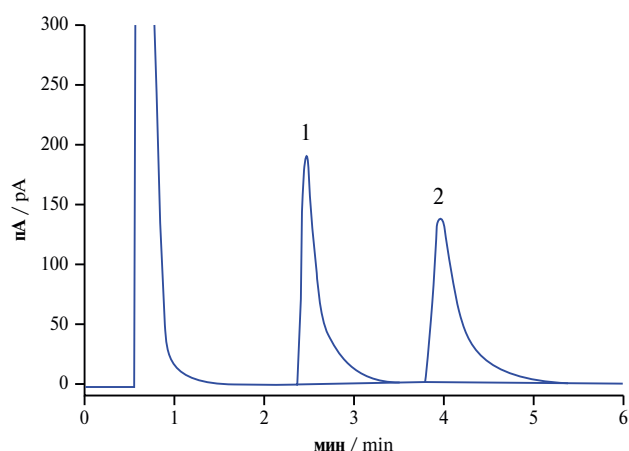


Рис. 1. Хроматограмма раствора смеси парабеов, полученная на насадочной колонке SE-30 (6 футов $\times$ 1/8 дюйма, 80–100 меш). 1 — метилпарабен, 2 — пропилпарабен. Условия эксперимента приведены в тексте

Fig. 1. Chromatogram of the solution containing a mixture of parabens, which was obtained using the packed column SE-30 (6 f $\times$ 1/8 in, 80–100 mesh). 1 — Methylparaben, 2 — Propylparaben. The test conditions are described in the text

тельное стандартное отклонение ($RSD\%$) площадей пиков составило 4,0 % для метилпарабена и 3,2 % для пропилпарабена. Коэффициенты асимметрии наблюдаемых на хроматограммах пиков составили 4,3 и 3,0 соответственно, что недопустимо высоко. Эффективность колонки в редких случаях превышала 1300 теоретических тарелок, что вполне соответствует порядку величин данного параметра для насадочных колонок. Проводить валидацию методики с таким низким уровнем хроматографических параметров мы сочли нецелесообразным.

Таким образом, даже использование более гидрофобной, чем указано в НД, колонки SE-30 не позволило добиться должной эффективности, что подтверждает нецелесообразность работы с исследуемыми объектами на насадочных колонках для газовой хроматографии.

Определение парабеов на капиллярных колонках. Удержание парабеов оценивали на достаточно короткой и узкой колонке ZB-1 с тонкой пленкой модификатора с использованием тестовой смеси метилпарабена и пропилпарабена в хлороформе с концентрацией 1,5 мг/мл для каждого соединения. Скорость потока газа-носителя гелия составила 30 см/с, температура колонки — 180 °С, температура инжектора и детектора — 220 °С. Поскольку капиллярные хроматографические колонки позволяют работать с более низкими концентрациями веществ и во избежание перегруза системы, мы использовали деление потока 40:1 (что недоступно в случае работы с насадочными колонками). Объем ввода — 1 мкл (соответствует указаниям НД фирмы-производителя). Метилпарабен и пропилпарабен элюировались с поверхности колонки достаточно быстро (до 2,5 мин).

Разрешение между пиками составило 17,3, эффективность системы достигала 46 000 теоретических тарелок, асимметрия пиков — 0,95 и 0,89 для метилпарабена и пропилпарабена соответственно. Для решения поставленной задачи данные результаты были признаны нами удовлетворительными.

Во многих продуктах фармацевтической, косметической и пищевой промышленности используются смеси консервантов, состоящие из большого количества компонентов, нежели в проанализированном нами препарате «Лома Люкс Псориасис». Мы изучили возможность применения капиллярной ГЖХ для разделения многокомпонентной смеси. Для достижения поставленной цели была использована более длинная колонка с более толстой пленкой модификатора полидиметилсилоксана (100 %). Изменение геометрии колонки могло повлечь за собой увеличение времени удерживания парабеов до разумной величины, возрастание эффективности колонки и, как следствие, позволить получить хроматограммы с более высоким разрешением пиков большого количества соединений. Для работы мы использовали колонку DB-1 длиной 30 м с толщиной модифицирующего слоя 3,0 мкм, температуру колонки варьировали в диапазоне 180–220 °С, скорость потока газа-носителя гелия — в диапазоне 30–60 см/с. Такие достаточно высокие для капиллярной ГЖХ параметры мы использовали с учетом высокой температуры кипения определяемых аналитов.

Тестовую смесь из метил-, этил-, пропил- и бутилпарабена (концентрация каждого соединения составила 1,25 мг/мл) удалось разделить с разрешением до 18,1 за 9 минут (рис. 2), при этом асимметрия пиков составила 1,0, а эффективность системы — до 58 900 теоретических тарелок. Были подобраны следующие условия хроматографирования: температура колонки — 210 °С, температуры детектора и инжектора — 220 °С, скорость потока газа-носителя (гелий) — 60 см/с.

Таким образом, поставленная задача разработки удобной и эффективной методики определения парабеов методом газожидкостной хроматографии с применением капиллярных колонок достигнута. Кроме того, полученный метод можно рекомендовать для определения многокомпонентной смеси парабеов.

Валидация методики определения метилпарабена и пропилпарабена методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Нами была проведена валидация разработанной методики применительно к препарату «Лома Люкс Псориасис» по параметрам «линейность», «предел количественного определения», «правильность», «прецизионность (сходимость и внутрилабораторная воспроизводимость)», а также оценена прецизионность предлагаемой хроматографической системы.

Линейность. Для установления зависимости между концентрацией парабенов в растворе и аналитическим сигналом пламенно-ионизационного детектора была приготовлена серия градуировочных растворов с содержанием 10, 20, 40, 60, 80, 100 и 120 % от заявленной концентрации парабенов. Коэффициенты корреляции полученных зависимостей (r для метилпарабена составил 0,9997, для пропилпарабена — 0,9991) свидетельствуют о том, что методика в пределах диапазона измерений способна давать результаты, которые прямо пропорциональны концентрации аналитов в пробе в диапазоне концентраций 0,13–1,45 мг/мл (рис. 3).

Предел количественного определения (ПКО). ПКО определяли расчетным методом из данных градуировочного графика по формуле $ПКО = 10 \times S/b$ (S — стандартное отклонение аналитического сигнала, b — коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине). Параметры линейной регрессии вычисляли согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания (Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15), ПКО — в соответствии с Руководством по валидации³. ПКО для метилпарабена составил 96 мкг/мл, для пропилпарабена — 159 мкг/мл.

Прецизионность. Прецизионность методики характеризуется рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно среднего результата (величина стандартного отклонения результата отдельного измерения, полученная для выборки большого объема). Данная валидационная характеристика подразделяется на сходимость (результаты, полученные одним химиком на одном оборудовании в течение короткого времени) и промежуточную (внутрилабораторную) прецизионность (результаты, полученные двумя химиками в разные дни на разном оборудовании).

Для оценки сходимости Химик 1 приготовил 6 испытуемых растворов препарата, каждый раствор хроматографировали трижды. Результаты и статистические параметры проведенных экспериментов представлены в таблице 1.

Внутрилабораторную прецизионность оценивали аналогичным способом с участием Химика 2. Мерой прецизионности выступало относительное стандартное отклонение (RSD , %) по 12 определениям (табл. 2). RSD количественного определения в обоих случаях составило менее 2,0 %. Таким образом, прецизионность методики является установленной.

Правильность. Для оценки правильности методики готовили модельные смеси парабенов, содержащие в своем составе 80, 90, 110 и 120 % парабенов

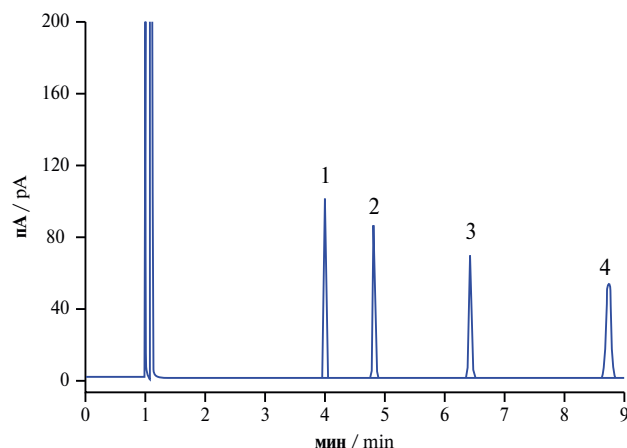


Рис. 2. Хроматограмма раствора смеси парабенов, полученная на капиллярной колонке DB-1 (30 м × 0,32 мм × 3,0 мкм). 1 — метилпарабен, 2 — этилпарабен, 3 — пропилпарабен, 4 — бутилпарабен. Условия эксперимента приведены в тексте

Fig. 2. Chromatogram of the solution containing a mixture of parabens, which was obtained using the capillary column DB-1 (30 m × 0,32 mm × 3,0 μm). 1 — Methylparaben, 2 — Ethylparaben, 3 — Propylparaben, 4 — Butylparaben. The test conditions are described in the text

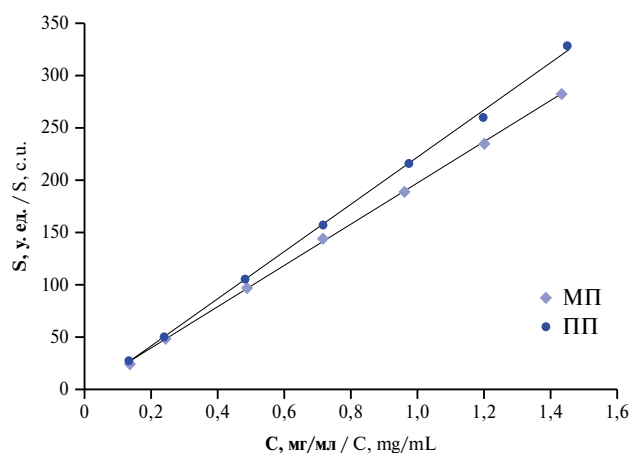


Рис. 3. Градуировочные кривые для метилпарабена (МП) и пропилпарабена (ПП)

Fig. 3. Calibration curves for methylparaben (МП) and propylparaben (ПП)

от заявленного содержания. Результаты продемонстрированы на примере метилпарабена (табл. 3). В случае пропилпарабена получены практически идентичные результаты (восстановление — 99,87 %, $RSD = 1,07$ %). Таким образом, предлагаемая методика определения парабенов методом капиллярной ГЖХ позволяет обнаружить изменение количественного содержания парабенов, при этом относительное стандартное отклонение менее 2,0 %, что позволяет сделать вывод о подтверждении правильности методики.

³ Юргель НВ, Младенцев АЛ, Бурдейн АВ, Гетьман МА, Малин АА, Косенко ВВ. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности. Методические рекомендации. Ч. 1. М.: Спорт и культура—2000; 2007.

Таблица 1. Оценка сходимости методики определения парабенов методом капиллярной газожидкостной хроматографии
Table 1. Evaluation of repeatability of the capillary GLC method of parabens determination

№ образца Sample No.	Содержание метилпарабена в образце, % Amount of methylparaben, %	Содержание пропилпарабена в образце, % Amount of propylparaben, %
1	90,54	100,94
2	91,18	100,26
3	90,55	100,79
4	91,26	101,09
5	91,54	100,69
6	91,47	100,83
X_{cp} Mean	90,90	101,0
Стандартное отклонение Standard deviation (<i>SD</i>)	0,44	0,28
<i>RSD</i> , %	0,48	0,28
Доверительный интервал Confidence interval (<i>CI</i>)	0,46	0,3

Таблица 2. Оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения парабенов методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Table 2. Evaluation of intermediate precision of the capillary GLC method of parabens determination

№ образца Sample No.	Содержание метилпарабена в образце, % — Химик 1 Amount of methylparaben, %, Operator 1	Содержание метилпарабена в образце, % — Химик 2 Amount of methylparaben, %, Operator 2	Содержание пропилпарабена в образце, % — Химик 1 Amount of propylparaben, %, Operator 1	Содержание пропилпарабена в образце, % — Химик 2 Amount of propylparaben, %, Operator 2
1	90,54	93,55	100,94	100,31
2	91,18	93,57	100,26	99,74
3	90,55	92,49	100,79	98,94
4	91,26	88,89	101,09	100,90
5	91,54	93,76	100,69	100,35
6	91,47	92,07	100,83	98,32
X_{cp} , % Mean, %	91,74		100,3	
Стандартное отклонение Standard deviation (<i>SD</i>)	1,45		0,86	
<i>RSD</i> , %	1,58		0,86	

Таким образом, проведена частичная валидация полученной методики по параметрам «линейность», «предел количественного определения», «правильность», «прецизионность (сходимость и внутрилабораторная воспроизводимость)». В случае использования нашей методики для конкретного лекарственного средства следует провести валидацию в полном объеме в соответствии с его детальным количественным составом.

Оценку пригодности хроматографической системы проводили на примере шестикратного инжестирования стандартного раствора. Содержание парабе-

нов в нем составляло примерно 100 % относительно номинала. *RSD* площади пиков на хроматограммах составили 1,26 и 1,28 % для метил- и пропилпарабена соответственно. Эффективность системы достигала 58 000 теоретических тарелок, фактор асимметрии пиков обоих парабенов составил 1,00.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на полученном опыте определения парабенов в лекарственных средствах методом газожидкостной хроматографии с использованием насадочных колонок, мы пришли к выводу о нера-

Таблица 3. Оценка правильности методики определения метилпарабена методом капиллярной газожидкостной хроматографии
Table 3. Evaluation of accuracy of the capillary GLC method of methylparaben determination

Процентное содержание метилпарабена от номинального значения, % Percentage content of methylparaben relative to the nominal value, %	Добавлено метилпарабена, мг, Methylparaben added, mg	Найдено метилпарабена, мг Methylparaben identified, mg	Среднее значение, мг Mean value, mg	Восстановление, % Recovery, %
80	19,1	19,18	19,10	100,4
	19,1	19,45		101,8
	19,1	18,67		97,7
90	21,5	21,22	21,37	99,3
	21,5	21,58		101,0
	21,5	21,30		99,7
110	26,5	26,42	26,41	100,1
	26,5	26,16		99,1
	26,5	26,64		100,9
120	28,7	28,86	28,83	100,1
	28,7	28,9		100,2
	28,7	28,74		99,7
Средняя величина восстановления, % Mean recovery, %				100,0
RSD, %				1,04

циональности использования такого подхода в экспертизе лекарственных средств. На основе оценки свойств используемых в фармацевтической промышленности парабенов, а также средства парабенов и применяемых на практике распространенных капиллярных колонок была предложена методика определения метилпарабена и пропилпарабена методом капиллярной газожидкостной хроматографии и выполнена ее валидация. Показана возможность расширения круга анализируемых парабенов с использованием разработанной методики. Данная методика может быть рекомендована к использованию фирмами-производителями при формировании нормативной документации при создании средств для медицинского применения.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pereira DM, Valentao P, Pereira JA, Andrade PB. Phenolics: from chemistry to biology. *Molecules*. 2009;14(6):2202-11. <https://doi.org/10.3390/molecules14062202>

2. Castellano G, Tena J, Torrens F. Classification of phenolic compounds by chemical structural indicators and its relation to antioxidant properties of *Posidonia Oceanica* (L.) Delile. *MATCH Commun Math Comput Chem*. 2012;67(1):231-50.

3. Porgali E, Buyuktuncel E. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. *Food Res Int*. 2012;45(1):145-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.025>

4. Natividade MM, Corrêa LC, de Souza SVC, Pereira GE, de Oliveira Lima LC. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in

grape juice for HPLC: method validation and characterization of Sao Francisco Valley samples. *Microchem J*. 2013;110:665-74. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>

5. Ostrowski W, Wojakowska A, Grajzer M, Stobiecki M. Mass spectrometric behavior of phenolic acids standards and their analysis in the plant samples with LC/ESI/MS system. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2014;967:21-7. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.07.005>

6. Ginjom I, D'Arcy BR, Caffin N, Gidley M. Phenolic compound profiles in selected Queensland red wines at all stages of the wine-making process. *Food Chem*. 2011;125(3):823-34. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.062>

7. Hung PV, Hatcher DW, Barker W. Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultraperformance liquid chro-

- matography (UPLC) and their antioxidant activities. *Food Chem.* 2011;126(4):1896–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.015>
8. Farajzadeh MA, Nouri N, Khorram P. Derivatization and micro-extraction methods for determination of organic compounds by gas chromatography. *Trends Anal Chem.* 2014;55:14–23. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.11.006>
9. Wang C, Zuo Y. Ultrasound-assisted hydrolysis and gas chromatography-mass spectrometric determination of phenolic compounds in cranberry products. *Food Chem.* 2011;128(2):562–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.066>
10. Король АН. *Неподвижные фазы в газожидкостной хроматографии*. М.: Химия; 1985. [Korol' AN. *Stationary phases for gas chromatography*. Moscow: Khimiya; 1985 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Иоутси Анна Николаевна, канд. хим. наук. *Anna N. Ioutsy*, Cand. Sci. (Chem.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7994-305X>

Сумцов Михаил Александрович, канд. фарм. наук. *Mikhail A. Sumtsov*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8483-8788>

Артюшенко Дарья Анатольевна. *Darya A. Artyushenko*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8949-5294>

Быченков Денис Владимирович, канд. хим. наук. *Denis V. Bychenkov*, Cand. Sci. (Chem.). **SCOPUS (AuthorID):** 36243022100

Блинов Антон Николаевич. *Anton N. Blinov*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1870-962X>

Статья поступила 18.12.2018

После доработки 13.02.2019

Принята к печати 24.05.2019

Article was received 18 December 2018

Revised 13 February 2019

Accepted for publication 24 May 2019

Валидация иммуноферментной тест-системы для доклинических исследований фармакокинетики ритуксимаба

В. В. Писарев^{1*}, М. М. Уляшова¹, Г. Н. Гильдеева²

¹Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственный центр Пробиотек», Ленинские Горы, д. 1, стр. 75В, Москва, 119992, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Резюме. Неотъемлемой частью доклинических фармакокинетических исследований является разработка биоаналитической методики определения лекарственного средства в биологической жидкости. **Цель работы:** оценка пригодности тест-системы на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (ООО «Научно-производственный центр Пробиотек») для количественного определения ритуксимаба в сыворотке крови лабораторных животных после внутривенного введения ритуксимаба в количестве, соответствующем терапевтической дозе у человека. **Материалы и методы:** определение ритуксимаба проводили по «сэндвич»-схеме твердофазного ИФА в две стадии с последующей детекцией на основе пероксидазы хрена. Регистрация результатов ИФА проводилась с помощью микропланшетного фотометра при длине волны 450 нм. **Результаты:** в ходе работы установлены предел обнаружения (0,24 нг/мл) и нижний предел количественного определения (1,00 нг/мл) ритуксимаба в сыворотке крови кроликов, доказана высокая селективность определения аналита в многокомпонентной биологической матрице. Найденные средние значения концентрации ритуксимаба не отклонялись от номинальных значений более чем на 14 % во всем диапазоне применения методики, внутри- и межсерийная прецизионность тест-системы не превышала 7,4 %, общая ошибка метода — 20,1 %. Продемонстрированная линейность разведения позволяет применять данную тест-систему для анализа биологических образцов в широком диапазоне концентраций ритуксимаба. Стабильность аналита в сыворотке крови кроликов подтверждена при хранении образцов в течение 6 ч при комнатной температуре, 50 дней при –35 °С и после 3 циклов замораживания-оттаивания. Валидированная тест-система была успешно апробирована в ходе определения концентрации ритуксимаба в биологических образцах, полученных в рамках исследования фармакокинетики ритуксимаба у кроликов, во всем интервале определяемых концентраций подтверждена достоверность результатов анализа, продемонстрирован параллелизм между калибровочным графиком и результатами анализа серийно разведенных образцов сыворотки крови кроликов с максимальной концентрацией ритуксимаба. **Выводы:** изученная иммуноферментная тест-система пригодна для количественного определения ритуксимаба в сыворотке крови лабораторных животных, поскольку по всем валидационным параметрам соответствует критериям приемлемости, предъявляемым международными стандартами по валидации биоаналитических методов.

Ключевые слова: ритуксимаб; биоаналог; фармакокинетика; твердофазный иммуноферментный анализ; валидация; доклинические исследования

Для цитирования: Писарев ВВ, Уляшова ММ, Гильдеева ГН. Валидация иммуноферментной тест-системы для доклинических исследований фармакокинетики ритуксимаба. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):131–139. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-131-139>

Контактное лицо: Писарев Владимир Викторович; info@probiotech.ru

Validation of Enzyme Immunoassay for Preclinical Pharmacokinetic Trials of Rituximab

V. V. Pisarev^{1*}, M. M. Ulyashova¹, G. N. Gildeeva²

¹Scientific and Production Center Probiotech LLC, 1/75B Leninskie Gory, Moscow 119992, Russian Federation

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

Abstract. An integral part of preclinical pharmacokinetic studies is the development of a bioanalytical method for determination of the drug in a biological fluid. **The aim** of the research was to assess the suitability of the test system based on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for quantitative determination of rituximab in the blood serum of laboratory animals after intravenous administration of rituximab at a dose corresponding to the therapeutic dose in humans. The test system was developed by the Scientific and Production Center Probiotech. **Materials and methods:** the determination of rituximab in biological samples was carried out using a two-stage sandwich-type ELISA, followed by detection based on horseradish peroxidase. The ELISA results were recorded using a microplate photometer at a wavelength of 450 nm. **Results:** the experiments helped to establish the detection limit (0.24 ng/mL) and the lower limit of quantitation (1.00 ng/mL) of rituximab in rabbit blood serum, they also demonstrated high selectivity of analyte determination in a multicomponent biological matrix. The mean rituximab concentration was within 14 % of the nominal value in the entire working range of the method. The within-run and between-run precision of the assay did not exceed 7.4 %, the total error of the method did not exceed 20.1 %. The linearity of dilution makes it possible to use the assay

for the analysis of biological samples with a wide range of rituximab concentrations. The stability of the analyte in the rabbit blood serum was confirmed by storing samples for 6 hours at room temperature, for 50 days at -35°C , and after 3 freeze-thaw cycles. The validated immunoassay was successfully used to determine the rituximab concentration in biological samples obtained in the rituximab pharmacokinetic trial in rabbits. The accuracy of the results was confirmed for the entire range of the determined concentrations; parallelism was demonstrated between the calibration curve and the results of analysis of serially diluted rabbit serum samples with the maximum concentration of rituximab. **Conclusions:** the proposed enzyme immunoassay test system can be used for quantitative determination of rituximab in the blood serum of laboratory animals, as it meets acceptance criteria for all validation parameters described in the international guidelines on validation of bioanalytical methods.

Key words: rituximab; biosimilar; pharmacokinetics; enzyme-linked immunosorbent assay; validation; preclinical trials

For citation: Pisarev VV, Ulyashova MM, Gildeeva GN. Validation of enzyme immunoassay for preclinical pharmacokinetic trials of rituximab. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):131–139. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-131-139>

*Corresponding author: Vladimir V. Pisarev; info@probiotech.ru

Первым анти-В-клеточным препаратом, разрешенным к применению в клинической практике, стал ритуксимаб — рекомбинантные химерные моноклональные антитела к поверхностным рецепторам В-лимфоцитов — CD20. По структуре ритуксимаб относится к IgG1 κ-иммуноглобулинам, его молекула содержит мышиные вариабельные фрагменты легких и тяжелых цепей и человеческий постоянный Fc-сегмент [1, 2]. Препарат применяется в медицине с 1997 г. для лечения В-клеточных неходжкинских лимфом [3], а в последние годы — широкого круга аутоиммунных заболеваний [4, 5]. Связываясь с трансмембранным белком CD20, ритуксимаб инициирует иммунологические реакции, опосредующие лизис В-клеток. Среди них выделяют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность с участием моноцитов, макрофагов или естественных клеток-киллеров и цитотоксичность, связанную с активацией системы комплемента. Показано также, что ритуксимаб непосредственно стимулирует апоптоз CD20+ В-клеток. Выраженного подавления функции костного мозга при этом не происходит, так как CD20-белок не продуцируется в стволовых клетках [1, 6].

Высокая стоимость оригинального препарата ритуксимаба создает острую потребность в его более доступных биоаналогах. Согласно международным рекомендациям неотъемлемой частью программы разработки биоаналогов являются доклинические и клинические фармакокинетические исследования, направленные на подтверждение биоподобия оригинальному препарату с позиций ключевых фармакокинетических параметров¹. Обязательным этапом таких исследований является разработка биоаналитической методики определения лекарственного средства в биологической жидкости — чаще всего плазме или сыворотке крови.

Большая часть публикаций, описывающих методы определения ритуксимаба в биологических жидкостях, основана на твердофазном иммунофер-

ментном анализе (ИФА). Чувствительность и калибровочные диапазоны этих методов в зависимости от типа используемых реагентов сильно варьируют от мкг-диапазона при использовании специфических пептидов [7] или поликлональных антител [8, 9] до нанограммового диапазона при использовании CD20+ лимфобластоидных клеток [10] или высокоспецифичных моноклональных антител [11, 12]. Все имеющиеся на отечественном рынке коммерческие наборы — только иностранного производства. Их пределы количественного определения варьируют от пяти до нескольких сот нг/мл, что в большинстве случаев является достаточным для изучения фармакокинетики ритуксимаба у пациентов после введения препарата в терапевтической дозе (375 мг/м² поверхности тела). Однако фармакокинетические исследования ритуксимаба у здоровых людей проводят на дозах препарата на порядки ниже терапевтической (1 мг/м² поверхности тела и ниже) [13], и в этом случае требуются аналитические методы с уже гораздо более высокой чувствительностью.

Компанией ООО «Научно-производственный центр Пробиотек» разработана тест-система на основе «сэндвич»-варианта твердофазного ИФА для количественного определения ритуксимаба в биологических жидкостях. За счет использования моноклональных антител, высокоспецифичных к вариабельным фрагментам ритуксимаба, тест-система демонстрирует высокую селективность определения аналита на фоне эндогенных компонентов в сыворотке крови лабораторных животных и человека. Преимуществами разработанной тест-системы являются высокая чувствительность, а также стоимость применения, как минимум в 3 раза меньшая, чем в случае импортных наборов ИФА.

Цель работы — оценка пригодности разработанной ИФА тест-системы для количественного определения ритуксимаба в сыворотке крови кроликов после внутривенного введения препарата, содержащего ритуксимаб, в дозе, соответствующей терапевтиче-

¹ Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev1).

Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies — non-clinical and clinical issues (EMA/CHMP/BMWP/403543/2010).

Guidelines on evaluation of similar biotherapeutic products (SBPs). World Health Organization.

ской дозе у человека. Для достижения поставленной цели необходимо было провести полную валидацию тест-системы и оценить все валидационные параметры на соответствие критериям приемлемости, предъявляемым международными стандартами².

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИФА тест-система для определения ритуксимаба в сыворотке крови (ООО «Научно-производственный центр Пробиотек») включала 96-луночный полистирольный планшет с иммобилизованными на поверхности лунок идиотипическими крысинными моноклональными антителами против ритуксимаба (клон MB2A4, Bio-Rad Laboratories, Inc., США), стандартный раствор ритуксимаба с концентрацией 10 мг/мл (приготовленный на основе препарата Мабтера® концентрат для приготовления раствора для инфузий 500 мг/50 мл («Рош Диагностика ГмбХ», Германия)), раствор конъюгата козьих поликлональных антител против Fc фрагмента IgG человека с пероксидазой хрена (A0170, Sigma-Aldrich, США), субстратный раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ), стоп-реагент, а также отмывочный буферный раствор (0,01 М фосфатно-солевой буфер с 0,05 % Твин-20) и реакционный буферный раствор (0,01 М фосфатно-солевой буфер с 1 % бычьего сывороточного альбумина).

Эксперименты на животных проводились с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Образцы сыворотки крови были получены от 7 кроликов-самцов породы «Советская шиншилла» до и после однократного введения в краевую вену уха препарата Мабтера® концентрат для приготовления раствора для инфузий 500 мг/50 мл («Рош Диагностика ГмбХ», Германия) в дозе 32 мг/кг, что соответствует терапевтической дозе человека. Образцы крови у испытуемых животных отбирали до введения и в течение 28 дней после введения препарата. Образцы крови инкубировали в течение 20 мин при температуре 37 °С для образования сгустка и центрифугировали в течение 15 мин при 1500 g. Далее образцы сыворотки крови переносили в пластиковые пробирки и замораживали при температуре –35 °С до момента проведения анализа.

Процедура валидации ИФА тест-системы включала 6 аналитических серий. В составе каждой аналитической серии были проанализированы калибровочные стандарты для построения градуировочной зависимости, а также необходимое количество бланковых (интактных) образцов сыворотки

крови кроликов и образцов для контроля качества с определенной концентрацией ритуксимаба.

Каждый образец анализировался в трех повторях. Калибровочные стандарты готовили путем добавления стандартного раствора ритуксимаба к реакционному буферу до необходимой концентрации. Образцы для контроля качества готовили аналогично, но в качестве матрицы использовали пул 7 различных бланковых сывороток крови кроликов.

На первой стадии анализа в лунки планшета помещали 100 мкл калибровочного стандарта, образца для контроля качества, бланкового образца сыворотки крови или образца сыворотки кролика с неизвестной концентрацией ритуксимаба с предварительным разведением реакционным буферным раствором в требуемое количество раз. Содержимое лунок перемешивали в течение 2 мин, после чего планшет инкубировали в течение 1 ч. Инкубацию на всех стадиях анализа проводили в защищенном от света месте при температуре 18–25 °С. Далее планшет отмывали три раза отмывочным раствором (300 мкл/лунку). На второй стадии в каждую лунку планшета вносили 100 мкл рабочего раствора конъюгата и инкубировали в течение 30 мин, после чего планшет снова отмывали трижды отмывочным раствором (300 мкл/лунку). Далее в лунки планшета вносили по 100 мкл субстратного раствора ТМБ, инкубировали 15 мин, после чего добавляли по 100 мкл стоп-реагента. Содержимое лунок перемешивали и измеряли оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм с помощью микропланшетного фотометра MRX (DYNEX Technologies, Inc., США).

Процедура валидации включала определение калибровочного диапазона, выбор регрессионного уравнения, оценку селективности, внутри- и межсерийной правильности и прецизионности, линейности разведения, стабильности биологических образцов, а также параллелизма. Отдельных исследований специфичности не проводилось, поскольку использованные для изготовления ИФА тест-системы моноклональные антитела высокоспецифичны относительно ритуксимаба и не распознают другие CD20 антитела (доказано производителем моноклональных антител).

Регрессионный анализ калибровочной зависимости, расчет коэффициентов детерминации R^2 и статистический анализ данных проводили в Microsoft Excel 2010.

При оценке параметров валидации рассчитывали среднее значение, стандартное отклонение, прецизионность (характеризовалась коэффициентом вариации), правильность (характеризовалась относительной величиной систематической погрешности) по формулам:

² Guideline on bioanalytical method validation (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**).

Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов (2016)».

$$\text{среднее значение } (\bar{x}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

$$\text{стандартное отклонение } (SD) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

$$\text{прецизионность} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (3)$$

$$\text{правильность} = \frac{\text{Полученное значение} - \text{Номинальное значение}}{\text{Номинальное значение}} \times 100 \% \quad (4)$$

Общая ошибка метода рассчитывалась как сумма модулей значений правильности и прецизионности, выраженных в процентах³.

Предел обнаружения определялся как значение концентрации ритуксимаба, соответствующее среднему значению бланкового образца матрицы + 3SD. Нижний предел количественного определения рассчитывался как значение концентрации ритуксимаба, соответствующее среднему значению бланкового образца матрицы + 10SD.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для выбора интервала ИФА тест-системы для количественного определения ритуксимаба были проанализированы растворы ритуксимаба в реакционном буфере с концентрацией 1–1000 нг/мл. По полученным данным построили график зависимости оптической плотности от значений концентрации ритуксимаба. Из данных, представленных на рисунке 1а, видно, что при концентрации ритуксимаба 250–1000 нг/мл значения оптической плотности (ОП) находятся в области плато, т.е. дальнейшее увеличение концентрации не приводит к пропорциональному возрастанию ОП. Кроме того, для

твёрдофазного ИФА рекомендуется, чтобы максимальное значение ОП не превышало 2,0 усл. ед. [14]. С учетом этого требования значения концентрации ритуксимаба выше 100 нг/мл не могут войти в область диапазона калибровочной кривой. Таким образом, калибровочный график (рис. 1б) состоял из 9 ненулевых калибровочных стандартов, охватывающих диапазон концентраций 1–100 нг/мл, а также нулевого образца, участвующего в определении регрессионного уравнения. Наилучшей регрессионной моделью в диапазоне концентраций 1–100 нг/мл оказалась квадратичная зависимость. Для всех 6 валидационных серий коэффициент детерминации R^2 для калибровочного графика превышал 0,99. По графикам был проведен обратный расчет концентраций калибровочных стандартов. Отклонения рассчитанных значений концентраций всех калибровочных стандартов от теоретических значений находились в диапазоне от –10,3 до 5,3 % и не выходили за допустимые ± 20 %.

Для нахождения предела обнаружения (ПО) и нижнего предела количественного определения (НПКО) был проанализирован образец бланковой сыворотки крови в 10 повторях. По результатам анализа

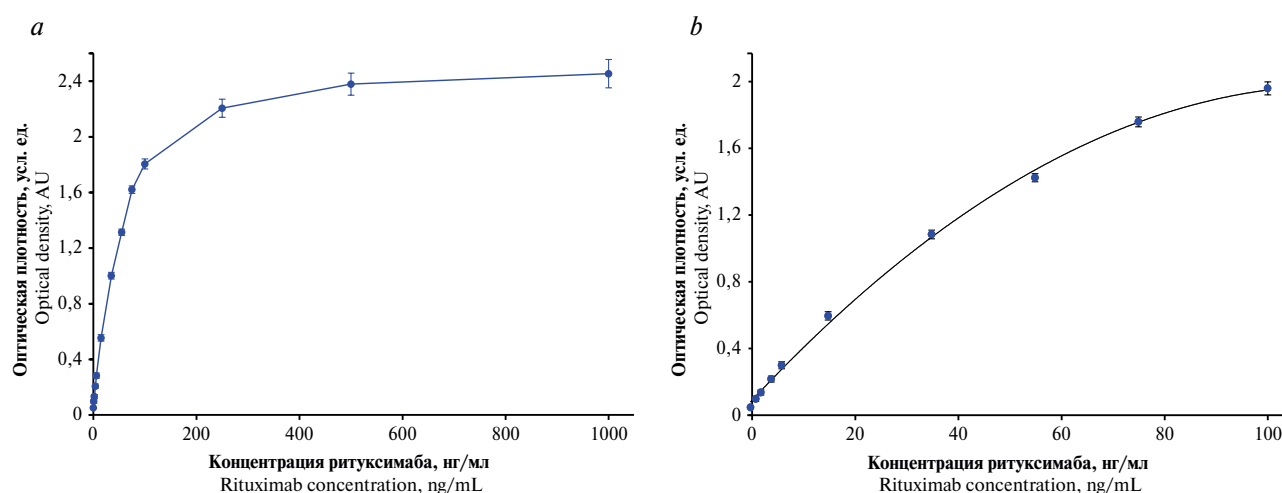


Рис. 1. График зависимости оптической плотности от концентрации ритуксимаба в калибровочных стандартах: а — для диапазона концентраций 1–1000 нг/мл, б — для диапазона концентраций 1–100 нг/мл (уравнение регрессии: $y = -0,0001x^2 + 0,0305x + 0,082$, $R^2 = 0,9986$)

Fig. 1. Plot of optical density versus rituximab concentration in calibration standards: а — for the concentration range of 1–1000 ng/mL, б — for the concentration range of 1–100 ng/mL (regression equation: $y = -0.0001x^2 + 0.0305x + 0.082$, $R^2 = 0.9986$)

³ Guideline on bioanalytical method validation (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**).

для данного образца были рассчитаны среднее значение ОП и его стандартное отклонение. Предел обнаружения метода, вычисленный как значение, которое выше среднего значения бланковой матрицы на 3 стандартных отклонения, составил 0,24 нг/мл. Для НПКО применялся уровень 10 стандартных отклонений, его значение составило 1,00 нг/мл. Показания образца для контроля качества с концентрацией 1 нг/мл, приготовленного на основе бланковой сыворотки крови, поддавались определению с прецизионностью 11,6 % и правильностью 19,1 %, не превышающих по модулю допустимые 25 %.

При оценке селективности с целью определения степени влияния эндогенных компонентов матрицы на результат количественного определения были проанализированы 10 различных образцов бланковой сыворотки крови кроликов, включая гиперлипидемические и гемолизированные образцы, в которые был добавлен ритуксимаб до конечной концентрации 1 нг/мл и 15 нг/мл. Методика была признана селективной, поскольку соответствует критерию приемлемости — полученные значения концентрации ритуксимаба во всех 10 образцах сы-

воротки крови не отклонялись от номинального значения более чем на 25 % на уровне НПКО (1 нг/мл) и более чем на 20 % на уровне 15 нг/мл.

После внутривенного введения ритуксимаба человеку или лабораторным животным в терапевтической дозе значения максимальных концентраций ритуксимаба находятся в диапазоне 10–600 мкг/мл [15–18], поэтому для проведения валидации были приготовлены образцы для контроля качества с концентрацией ритуксимаба 10, 30, 75, 275, 375 и 650 мкг/мл. Для попадания в калибровочный диапазон тест-системы образцы для контроля качества разводились реакционным буферным раствором, как минимум, в 5000 раз. Дополнительным преимуществом такого разведения было практически полное устранение эффекта матрицы.

Внутри- и межсерийные прецизионность и правильность, а также общая ошибка метода были оценены с использованием 5 образцов для контроля качества с концентрациями ритуксимаба в диапазоне 10–375 мкг/мл. После разведения в 5000 раз образцы анализировали в составе 6 аналитических серий, каждый в трех повторях.

Таблица 1. Внутри- и межсерийная прецизионность, правильность и общая ошибка методики определения ритуксимаба в сыворотке крови кроликов

Table 1. Within-run and between-run precision, accuracy and total error of the method of rituximab determination in the blood serum of rabbits

Аналитические характеристики Analytical characteristics	Образцы для контроля качества Quality control samples				
	10,00 мкг/мл µg/mL	30,00 мкг/мл µg/mL	75,00 мкг/мл µg/mL	275,00 мкг/мл µg/mL	375,00 мкг/мл µg/mL
Внутри аналитической серии (1 серия, 3 повтора для каждого образца) Within analytical run (1 run, each sample in 3 replicates)					
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	8,61	29,71	70,70	269,55	378,66
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,53	0,51	0,42	1,45	12,30
Прецизионность, % Precision, %	6,2	1,7	0,6	0,5	3,2
Правильность, % Accuracy, %	–13,9	–1,0	–5,7	–2,0	1,0
Общая ошибка, % Total error, %	20,1	2,7	6,3	2,5	4,2
Между аналитическими сериями (6 серий, 3 повтора для каждого образца) Between analytical runs (6 runs, each sample in 3 replicates)					
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	8,76	30,60	75,23	256,27	356,63
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,65	1,44	2,67	7,85	15,57
Прецизионность, % Precision, %	7,4	4,7	3,5	3,1	4,4
Правильность, % Accuracy, %	–12,4	2,0	0,3	–6,8	–4,9
Общая ошибка, % Total error, %	19,8	6,7	3,8	9,9	9,3

Полученные значения прецизионности, правильности и общей ошибки методики внутри и между аналитическими сериями представлены в таблице 1. Средние значения концентрации аналита отклонялись от номинального значения не более чем на 14 % для всех образцов для контроля качества как внутри, так и между аналитическими сериями. Внутрисерийная прецизионность (повторяемость) не превышала 6,2 %, а межсерийная (воспроизводимость) — 7,4 %. Общая ошибка не выходила за пределы 20,1 %. Таким образом, полученные значения валидационных параметров соответствуют

критериям приемлемости: в отношении правильности средние значения концентрации должны укладываться в ± 20 % от номинального значения, прецизионность не должна превышать 20 %, а общая ошибка метода — 30 %.

Из-за узкого диапазона калибровочной кривой при валидации методов ИФА, как правило, оценивают линейность разведения. Для исследования линейности разведения был использован образец для контроля качества с концентрацией 650 мкг/мл. Данный образец разводили сначала в 5000 раз, а затем последовательно еще в 2, 4, 8 и 16 раз ре-

Таблица 2. Стабильность ритуксимаба в сыворотке крови кроликов при различных условиях хранения

Table 2. Stability of rituximab in the rabbit serum under various storage conditions

Аналитические характеристики Analytical characteristics	Образцы для контроля качества Quality control samples			
	10,00 мкг/мл µg/mL	30,00 мкг/мл µg/mL	275,00 мкг/мл µg/mL	650,00 мкг/мл µg/mL
Свежеприготовленные образцы / Freshly prepared samples				
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	9,11	30,70	256,88	632,04
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,82	0,80	10,70	21,54
Прецизионность, % Precision, %	9,0	2,6	4,2	3,4
Правильность, % Accuracy, %	−8,9	2,3	−6,6	−2,8
Краткосрочная стабильность (в течение 6 ч при комнатной температуре) Short-term stability (storage for 6 hours at room temperature)				
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	8,62	28,81	251,10	616,65
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,41	1,18	4,84	15,96
Прецизионность, % Precision, %	4,8	4,1	1,9	2,6
Правильность, % Accuracy, %	−13,8	−4,0	−8,7	−5,1
Долгосрочная стабильность (в течение 50 дней при температуре −35 °C) Long-term stability (storage for 50 days at −35 °C)				
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	8,72	30,75	257,97	632,97
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,58	0,37	3,43	15,96
Прецизионность, % Precision, %	6,7	1,2	1,3	2,5
Правильность, % Accuracy, %	−12,8	2,5	−6,2	−2,6
Стабильность после 3 циклов замораживания при температуре −35 °C (12 ч) и последующего оттаивания Stability after 3 freezing cycles at −35 °C (12 hours) and subsequent thawing				
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	8,77	26,66	233,67	594,02
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	0,76	2,07	1,22	18,45
Прецизионность, % Precision, %	8,7	7,8	0,5	3,1
Правильность, % Accuracy, %	−12,4	−11,1	−15,0	−8,6

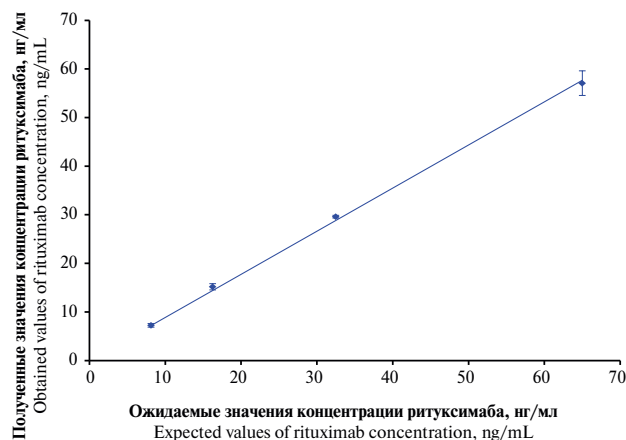


Рис. 2. Линейность разведения контрольного образца сыворотки крови кролика, содержащего ритуксимаб в концентрации 650 мкг/мл (уравнение линейной регрессии: $y = 0,8871x$, $R^2 = 0,9989$)

Fig. 2. Linearity of the dilution of the rabbit serum control sample containing 650 $\mu\text{g/mL}$ of rituximab (linear regression equation: $y = 0,8871x$, $R^2 = 0,9989$)

акционным буферным раствором. На рисунке 2 представлена зависимость полученных значений концентрации ритуксимаба в разбавленных образцах от ожидаемых значений. Данная зависимость носит линейный характер с коэффициентом детерминации, превышающим 0,99. Обратно рассчитанная концентрация ритуксимаба для каждого разведения не отклонялась более чем на 13 % от номинальной концентрации после пересчета на разведение, а прецизионность конечных концентраций по всем разведениям не превышала 6 %.

Исследование стабильности ритуксимаба в сыворотке крови кроликов охватывало краткосрочную стабильность в течение 6 ч при комнатной температуре, долгосрочную стабильность при температуре -35°C в течение 50 дней, а также стабильность после 3 циклов замораживания при -35°C на 12 ч и последующего оттаивания. Все типы стабильности оценивались на образцах для контроля качества с концентрацией ритуксимаба 10, 30, 275 и 650 мкг/мл. Согласно полученным результатам (табл. 2), среднее значение концентрации ритуксимаба на каждом уровне отклонялось от номинальной концентрации не более чем на 15 %, что соответствует критерию приемлемости (в пределах $\pm 20\%$ от номинального значения) и подтверждает стабильность ритуксимаба в вышеперечисленных условиях хранения.

Валидированный метод был применен для определения концентрации ритуксимаба в 84 биологических образцах, полученных в рамках исследования фармакокинетики ритуксимаба у кроликов. Достоверность результатов анализа была подтверждена с использованием образцов для контроля качества во всем интервале определяемых концентраций:

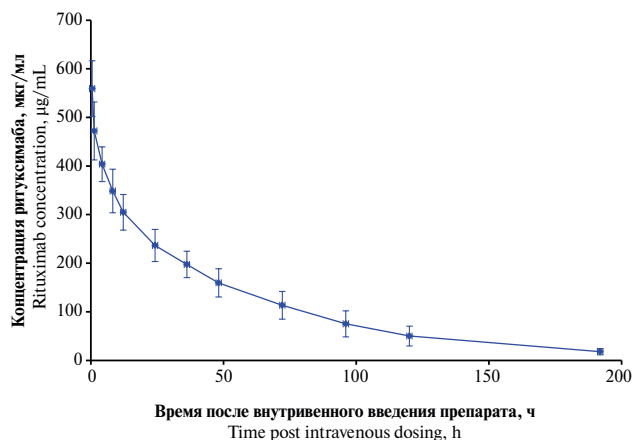


Рис. 3. Усредненный фармакокинетический профиль ритуксимаба в сыворотке крови кроликов ($n = 7$) после внутривенного введения препарата Мабтера® в дозе 32 мг/кг

Fig. 3. Mean pharmacokinetic profile of rituximab in the rabbit serum ($n = 7$) after intravenous administration of Mabthera® at a dose of 32 mg/kg

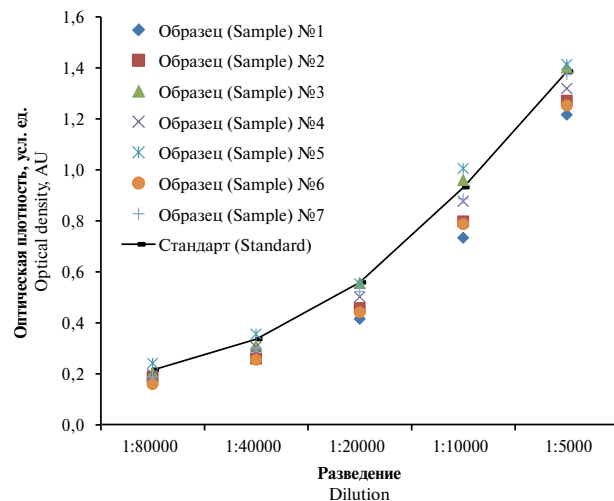


Рис. 4. Параллелизм между калибровочным графиком и серийно разведенными образцами сыворотки крови разных кроликов с концентрацией ритуксимаба, близкой к C_{max}

Fig. 4. Parallelism between the calibration standard curve and serially diluted serum samples of different rabbits with rituximab concentration close to C_{max}

значение правильности для используемых образцов для контроля качества по всем аналитическим сериям не выходило за пределы $\pm 10\%$, максимальный коэффициент вариации составил 7,6 %. В качестве отрицательного контроля в составе каждой аналитической серии анализировался образец бланковой сыворотки крови в трех повторях. Во всех аналитических сериях среднее значение ОП для данного образца +10 стандартных отклонений не превышало значение ОП для стандартного образца с концентрацией 1 нг/мл (НПКО). Полученный усредненный фармакокинетический профиль ритуксимаба в сыворотке крови 7 кроликов после однократного

Таблица 3. Параллелизм серийно разведенных образцов сыворотки крови 7 разных кроликов с концентрацией ритуксимаба, близкой к $C_{\max}$ **Table 3.** Parallelism of serially diluted serum samples of 7 different rabbits with rituximab concentration close to $C_{\max}$

Разведение Dilution	Исследуемые образцы Test samples						
	1	2	3	4	5	6	7
	Значения концентрации ритуксимаба в исследуемых образцах (пересчитанные с учетом разведения), мкг/мл Rituximab concentrations in the test samples (recalculated for dilution), µg/mL						
1:5000	285,20	309,75	387,35	334,10	397,40	300,90	366,75
1:10 000	269,20	302,10	391,30	345,30	419,30	296,40	349,30
1:20 000	251,60	287,60	372,40	324,20	369,80	273,20	342,60
1:40 000	314,40	253,60	331,60	325,60	406,80	247,60	317,60
1:80 000	222,40	291,20	336,00	320,80	452,00	204,80	291,20
Среднее значение, мкг/мл Mean, µg/mL	268,56	288,85	363,73	330,00	409,06	264,58	333,49
Стандартное отклонение, мкг/мл Standard deviation, µg/mL	34,63	21,58	28,26	9,86	30,13	39,59	29,50
Прецизионность, % Precision, %	12,9	7,5	7,8	3,0	7,4	15,0	8,8

внутривенного введения препарата Мабтера® в дозе 32 мг/кг представлен на рисунке 3 и соответствует данным литературы [15–18].

На 7 образцах сыворотки крови разных кроликов с концентрацией ритуксимаба, близкой к максимальной концентрации ($C_{\max}$), был дополнительно оценен параллелизм между калибровочным графиком и серийно разведенными исследуемыми образцами для обнаружения возможного матричного эффекта. Образцы сыворотки крови кроликов разводили в 5000, 10 000, 20 000, 40 000 и 80 000 раз. Как видно из данных, представленных на рисунке 4, полученные значения ОП для всех разведений исследуемых образцов лежат параллельно калибровочному графику. Значения концентрации ритуксимаба в исследуемых образцах, пересчитанные с учетом разведения, и рассчитанные статистические параметры представлены в таблице 3. Прецизионность между полученными значениями концентрации ритуксимаба в каждой серии разведений не превышала 15 %, что соответствует критерию приемлемости (не выше 30 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя полученные результаты, следует отметить, что иммуноферментная тест-система, разработанная ООО «Научно-производственный центр Пробиотек», пригодна для количественного определения ритуксимаба в сыворотке крови лабораторных животных, поскольку по всем валидационным параметрам соответствует критериям приемлемости, предъявляемым международными стандартами по валидации биоаналитических методов⁴. Тест-система обеспечивает высокую селективность определения аналита относительно эндогенных компонентов матрицы. Высокая чувствительность метода и доказанная линейность разведения позволяют проводить анализ биологических образцов в широком диапазоне концентраций ритуксимаба и использовать тест-систему для исследований фармакокинетики у лабораторных животных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pescovitz MD. Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody: history and mechanism of action. *Am J Transplant.* 2006;6(5 Pt 1):859–66. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01288.x>
2. Vital EM, Kay J, Emery P. Rituximab biosimilars. *Expert Opin Biol Ther.* 2013;13(7):1049–62. <https://doi.org/10.1517/14712598.2013.787064>
3. Seyfizadeh N, Seyfizadeh N, Hasenkamp J, Huerta-Yepez S. A molecular perspective on rituximab: A monoclonal antibody for B cell non Hodgkin lymphoma and other affections. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;97:275–90. <https://doi.org/10.1016/j.critrev-onc.2015.09.001>

⁴ Guideline on bioanalytical method validation (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**).

Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов (2016)».

4. Roshique KK, Ravindran V. Efficacy and safety of a biosimilar rituximab in biologic naïve patients with active rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2015;34(7):1289–92. <https://doi.org/10.1007/s10067-015-2980-4>
5. Gurcan HM, Keskin DB, Stern JN, Nitzberg MA, Shekhani H, Ahmed AR. A review of the current use of rituximab in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(1):10–25. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.10.004>
6. Weiner GJ. Rituximab: mechanism of action. *Semin Hematol*. 2010;47(2):115–23. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2010.01.011>
7. Blasco H, Lalmanach G, Godat E, Maurel MC, Canepa S, Belghazi M, et al. Evaluation of a peptide ELISA for the detection of rituximab in serum. *J Immunol Methods*. 2007;325(1–2):127–39. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2007.06.011>
8. Beum PV, Kennedy AD, Taylor RP. Three new assays for rituximab based on its immunological activity or antigenic properties: Analyses of sera and plasmas of RTX-treated patients with chronic lymphocytic leukemia and other B cell lymphomas. *J Immunol Methods*. 2004;289(1–2):97–109. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.03.012>
9. Berinstein NL, Grillo-Lopez, White CA, Bence-Bruckler I, Maloney D, Czuczman M, et al. Association of serum Rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 1998;9:995–1001. <https://doi.org/10.1023/A:1008416911099>
10. Hong K, Presta LG, Lu Y, Penn A, Adams C, Chuntharapai A, et al. Simple quantitative live cell and anti-idiotypic antibody based ELISA for humanized antibody directed to cell surface protein CD20. *J Immunol Methods*. 2004;294(1–2):189–97. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.09.003>
11. Cragg MS, Bayne MB, Tutt AL, French RR, Beers S, Glennie MJ, et al. A new anti-idiotypic antibody capable of binding rituximab on the surface of lymphoma cells. *Blood*. 2004;104(8):2540–2. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-05-1733>
12. Hampson G, Ward TH, Cummings J, Bayne M, Tutt AL, Cragg MS, et al. Validation of an ELISA for the determination of rituximab pharmacokinetics in clinical trials subjects. *J Immunol Methods*. 2010;360(1–2):30–8. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2010.05.009>
13. Schoergenhofer C, Schwameis M, Firlas C, Bartko J, Derhaschnig U, Mader RM, et al. Single, very low rituximab doses in healthy volunteers — a pilot and a randomized trial: Implications for dosing and biosimilarity testing. *Sci Rep*. 2018;8(1):124. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17934-6>
14. Crowther JR. The ELISA guidebook. *Methods Mol Biol*. 2000;149:1–413. PMID: 11028258
15. Cartron G, Blasco H, Piantaud G, Watier H, Le Guellec C. Pharmacokinetics of rituximab and its clinical use: thought for the best use? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007;62(1):43–52. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.09.004>
16. Yoo DH, Suh C-H, Shim SC, Jeka S, Cons-Molina FF, Hrycaj P, et al. A multicentre randomised controlled trial to compare the pharmacokinetics, efficacy and safety of CT-P10 and innovator rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(3):566–70. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209540>
17. Ryan AM, Sokolowski SA, Ng C, Shirai N, Collinge M, Shen AC, et al. Comparative nonclinical assessments of the proposed biosimilar PF-05280586 and Rituximab (MabThera®). *Toxicol Pathol*. 2014;42(7):1069–81. <https://doi.org/10.1177/0192623313520351>
18. da Silva A, Kronthaler U, Koppenburg V, Fink M, Meyer I, Papandriko-poulou A, et al. Target-directed development and preclinical characterization of the proposed biosimilar rituximab GP2013. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(7):1609–17. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.843090>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Писарев Владимир Викторович, канд. хим. наук. Vladimir V. Pisarev, Cand. Sci. (Chem.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3212-4369>

Уляшова Мария Морисовна, канд. хим. наук. Maria M. Ulyashova, Cand. Sci. (Chem.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3837-4759>

Гильдеева Гэлия Нязифовна, д-р фарм. наук, проф. Gelia N. Gildeeva, Dr. Sci. (Pharm.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2537-2850>

Статья поступила 21.12.2018

После доработки 19.02.2019

Принята к печати 24.05.2019

Article was received 21 December 2018

Revised 19 February 2019

Accepted for publication 24 May 2019

22–26 апреля 2019 года в Москве состоялась 8-я Международная научно-практическая конференция «Научное издание международного уровня — 2019: стратегия и тактика управления и развития». Основным организатором конференции выступила Ассоциация научных редакторов и издателей (АНРИ), членом которой с 2017 г. является ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (с 2019 г. — членом Европейской ассоциации научных редакторов, EASE).

На конференцию собралось более 400 зарубежных и российских специалистов, представляющих редакции научных журналов, государственные органы управления в области науки и образования, компании, организующие инфраструктуру издания научной периодики, представители ведущих компаний и ассоциаций в сфере научной издательской деятельности: Ассоциация научных редакторов и издателей, Европейская ассоциация научных редакторов, Clarivate Analytics, Elsevier, ИТАР-ТАСС, издательство «Наука», НП «НЭИКОН», Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU, ЗАО «Антиплагиат» и др. В мероприятии также приняли участие сотрудники отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России — Л.В. Корсун, М.Л. Хрущева, О.Ю. Гойкалова.

В связи с усилением роли научной периодики в решении задач, поставленных национальным проектом «Наука», вопросы развития российских научных периодических журналов и их продвижения в мировое научное сообщество в настоящее время приобретают особое значение.

Ключевым аспектом, обсуждаемым на пленарных и устных секциях, стал вопрос о включении журналов в международные базы научного цитирования. Эксперты Scopus и Web of Science рассказали о требованиях, предъявляемых к индексируемым журналам, и типичных ошибках, допускаемых при формировании и опубликовании контента журналов. Представители АНРИ и EASE дали подробные рекомендации редакторам по выполнению этих требований, провели мастер-класс «Как улучшить качество журнала...», а члены редколлегий ведущих российских и международных журналов поделились собственным опытом подачи заявок на включение в базы цитирования и приведения качества своих изданий в соответствие с международными требованиями.

Бурные дискуссии вызвало обсуждение вопросов этики публикаций, проблем, которые возникают в связи с особенностями многолетних традиций издания научных журналов в СССР и России. Активно обсуждались вопросы борьбы в публикациях с плагиатом, а также совершенствования механизма рецензирования рукописей научных публикаций. С тревогой говорилось о негативных тенденциях: лавинообразном снижении качества публикаций, увеличении количества фейковых журналов, самоцитировании, формальном рецензировании или его отсутствии и других проблемах. Особое внимание привлекли доклады о реорганизации базы РИНЦ, посвященные введению процедуры анкетирования журналов, изменению порядка включения в РИНЦ, исклю-



Участники конференции. Фотография предоставлена АНРИ (<https://rasep.ru/>)

чения из системы низкокачественных журналов, а также вопросы открытой публикации рецензий на статьи. Специальные секции были посвящены функционированию научных журналов, специализирующихся в отдельных предметных областях, в том числе в сфере медицины и фармации, что подтверждает особое значение научной периодики в этих отраслях науки.

Представителям редакций дали возможность оценить степень подготовленности своего журнала к включению в международную базу цитирования, каждый участник заполнил анкету с характеристиками журнала, которую затем проанализировали эксперты Scopus. Исключением не стали и журналы, издающиеся ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения», «Безопасность и риск фармакотерапии», «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение». Экспертами была проведена оценка показателей работы журналов за последний год, отмечены сильные и слабые стороны научных изданий, даны рекомендации по повышению их качества.

В рамках конференции прошел также научно-практический семинар «Scopus Only Day», в котором приняли участие представители более 80 научных журналов, в том числе журнал «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение». В качестве докладчиков выступили эксперты CSAB и представители Scopus Team. Тематика докладов была посвящена основным аспектам подготовки научного журнала для включения в реферативную базу данных Scopus, а также результатам предварительной оценки журналов локальным экспертным советом. В рамках научно-практического семинара была организована рабочая сессия — предварительная оценка журналов — участников семинара, которая сопровождалась обсуждением частных вопросов, консультированием научных редакторов, принимавших участие в мероприятии. Рекомендации, полученные на семинаре, будут активно использоваться в дальнейшей работе редакции.

В ходе конференции ее участники получили возможность повысить квалификацию и пройти аттестацию по теме «Стратегия и тактика развития и продвижения научного издания международного уровня».

С материалами конференции можно ознакомиться на сайте <https://conf.rasep.ru/index.php/WCSP/index/pages/view/Presentations>.

Ответственный секретарь Л.В. Корсун,
Научные редакторы М.Л. Хрущева,
О.Ю. Гойкалова



**Подписку на журнал можно оформить
в любом отделении «Почты России».**

Подписной индекс издания:
в каталоге Агентства «Роспечать»

**«Издания органов научно-технической
информации» — 57942**

С любого номера
в региональных агентствах подписки:

Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57942

По объединенному каталогу

«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — Ф57942

