

Volume 11, No. 1 2021

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 11, №1 2021

Журнал индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек EBSCO, WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка и др.

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ – 0,335.

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

Все статьи проходят рецензирование не менее чем 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.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без ссылки на журнал является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством Российской Федерации.

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» — рецензируемый научно-практический журнал ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Основан в 2005 г. В журнале освещаются передовые достижения по вопросам стандартизации и оценки качества лекарственных препаратов различных групп, разработки и совершенствования методик фармацевтического анализа, методологии экспертизы лекарственных средств, в том числе по установлению их взаимозаменяемости, обсуждаются новые высокотехнологичные методы доклинических и клинических исследований лекарственных средств, рассматриваются актуальные проблемы фармакологии, клинической медицины, вопросы рационального применения лекарственных препаратов на основе принципов персонализированной терапии.

К публикации в журнале принимаются обзорные и оригинальные статьи, краткие сообщения, методические материалы, тематика которых соответствует фармацевтическим и медицинским отраслям науки и следующим научным специальностям:

- 14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.04.01 Технология получения лекарств;
- 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология;
- 14.01.01 Акушерство и гинекология, 14.01.02 Эндокринология, 14.01.05 Кардиология, 14.01.06 Психиатрия, 14.01.09 Инфекционные болезни, 14.01.11 Нервные болезни, 14.01.12 Онкология, 14.01.22 Ревматология, 14.01.28 Гастроэнтерология.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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

Агатонович-Куштрин Снежана, д-р фарм. наук, проф., Университет Ла Троба (Бендиго, Австралия)

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, ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России (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)

Ордабаева Сауле Кутымовна, д-р фарм. наук, проф., Южно-Казахстанская медицинская академия (Шымкент, Республика Казахстан)

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., АО НПО «Микроген» (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 Гуломкодир Мукамал, д-р биол. наук, д-р фарм. наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе, Республика Таджикистан)

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф., ФМБА 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. (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)

РЕДАКЦИЯ

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

Губарева Ольга Николаевна, редактор перевода, канд. филол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

“The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” is a peer-reviewed journal covering topics related to applied sciences, which is published by the Federal State Budgetary Institution “Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products” of the Ministry of Health of the Russian Federation. The journal was founded in 2005. It covers the latest achievements in standardisation and quality control of various groups of medicines, development and improvement of pharmaceutical test methods, approaches to medicine quality evaluation, including approaches to establishment of medicine interchangeability. The journal discusses new high-tech methods used in pre-clinical and clinical studies, current pharmacological and clinical medicine issues, rational use of drugs based on personalised medicine principles.

The journal publishes original research articles, reviews, brief communications, and methodical approaches pertaining to one of the pharmaceutical and medical branches of science and following specialist fields:

- 14.04.02 Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy, 14.04.01 Formulation of medicines;
- 14.03.06 Pharmacology, clinical pharmacology;
- 14.01.01 Obstetrics and gynaecology, 14.01.02 Endocrinology, 14.01.05 Cardiology, 14.01.06 Psychiatry, 14.01.09 Infectious diseases, 14.01.11 Nervous diseases, 14.01.12 Oncology, 14.01.22 Rheumatology, 14.01.28 Gastroenterology.

EDITORIAL BOARD

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

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

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

Snezana Agatonovic-Kustrin, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., La Trobe University (Bendigo, Australia)

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.), Golikov Research Clinical Center 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)

Saule K. Ordabaeva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., South Kazakhstan Medical Academy (Shymkent, Republic of Kazakhstan)

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., Scientific and Production Association Microgen (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, Republic of Tajikistan)

Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Federal Medical Biological Agency (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. (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)

EDITORIAL OFFICE

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

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

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

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

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 11, № 1 2021

ОБЗОРЫ

Планирование исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19 6
Д. П. Ромодановский, А. Л. Хохлов, Д. В. Горячев

Сравнение подходов к изучению стабильности лекарственных средств
в рамках национальной процедуры в России и Евразийском экономическом союзе 16
А. И. Беланова, Е. Л. Ковалева, Л. И. Митькина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Использование биомаркеров в фармакокинетических исследованиях лекарственных препаратов
природного происхождения 24
В. М. Косман, Н. М. Фаустова, М. В. Карлина, В. Г. Макаров, М. Н. Макарова

Разработка унифицированной ВЭЖХ-методики определения родственных примесей
и количественной оценки действующего вещества препаратов папаверина гидрохлорида 36
Н. П. Антонова, Е. П. Шефер, Н. Е. Семенова, С. С. Прохвятилова, А. М. Калинин, С. А. Кучугурин, В. Н. Макухин

Совершенствование методов стандартизации лекарственных средств
на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями 44
Н. П. Антонова, И. М. Моргунов, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер, О. В. Евдокимова, А. В. Бекетова, М. Н. Лякина

Проблемы использования метода БИК-спектрометрии для установления подлинности
действующего вещества в лекарственных препаратах 49
Н. Е. Кузьмина, С. В. Моисеев, Б. К. Романов

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения бронхиальной астмы 55
Е. С. Петрова, Д. В. Горячев, А. Д. Кузнецова

ЮБИЛЕЙ

Максим Борисович Иванов (к 50-летию со дня рождения) 70

Николай Львович Шимановский (к 70-летию со дня рождения) 71

Журнал «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.

Учредитель: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

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

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» — Т57942, в каталоге агентства Урал-Пресс — 57942.

Тираж 100 экз. Цена свободная.

Издатель ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5

ООО «Типография Сити Принт»: 129226, Москва, ул. Докукина, д. 10, стр. 41

Подписано в печать: 04.03.2021

<https://www.vedomostinccsmp.ru>, e-mail: vedomosti@expmed.ru

VEDOMOSTI NAUCHNOGO TSENTRA EKSPERTIZY SREDSTV MEDITSINSKOGO PRIMENENIYA

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

CONTENTS

Volume 11, No. 1 2021

REVIEWS

Planning Bioequivalence Studies in the Context of the COVID-19 Pandemic 6
D. P. Romodanovsky, A. L. Khokhlov, D. V. Goryachev

Comparison of Approaches to Stability Testing of Medicines in the Russian Federation
and the Eurasian Economic Union 16
A. I. Belanova, E. L. Kovaleva, L. I. Mit'kina

ORIGINAL ARTICLES

Use of Biomarkers in Pharmacokinetics Studies of Medicinal Products of Natural Origin 24
V. M. Kosman, N. M. Faustova, M. N. Karlina, V. G. Makarov, M. N. Makarova

Development of a Comprehensive HPLC Method for Determination of Product-related Impurities
and Assay of Active Ingredients in Papaverine Hydrochloride Products 36
N. P. Antonova, E. P. Shefer, N. E. Semenova, S. S. Prokhvatilova, A. M. Kalinin, S. A. Kuchugurin, V. N. Makukhin

Improvement of Methods of Standardisation of Medicinal Products Made
from *Veratrum Lobelianum* Rhizomes with Roots 44
N. P. Antonova, I. M. Morgunov, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer, O. V. Evdokimova, A. V. Beketova, M. N. Lyakina

Limitations of NIR Spectrometry as an Identification Test for Active Ingredients in Medicinal Products 49
N. E. Kuz'mina, S. V. Moiseev, B. K. Romanov

METHODICAL APPROACHES

Planning a Clinical Development Programme for Medicines for Bronchial Asthma 55
E. S. Petrova, D. V. Goryachev, A. D. Kuznetsova

ANNIVERSARY

Maxim B. Ivanov (on the 50th Anniversary) 70

Nikolay L. Shimanovsky (on the 70th Anniversary) 71

Journal "Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" is registered
in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications.
Certificate PI No. FS77-53169 dated 14 March 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 of the founder and editorial office: 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051

Subscription codes are provided in the catalogues of Pressa Rossii—T57942 and Ural-Press agency—57942.
Print run: 100 copies. Free price

Publisher NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114
Printing office City Print LLC: 10/41 Dokukin St., Moscow 129226

Passed for printing: 4 March 2021

<https://www.vedomostincesmp.ru>, e-mail: vedomosti@expmed.ru

Планирование исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19

Д. П. Ромодановский^{1,*}, А. Л. Хохлов², Д. В. Горячев¹

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 бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ул. Революционная, д. 5, Ярославль, 150000, Российская Федерация

Резюме. Пандемия коронавируса (COVID-19), начавшаяся в 2020 году, затронула все сферы человеческой жизни. Не стали исключением и процессы, связанные с проведением клинических исследований лекарственных средств. Подтверждением этому являются рекомендации органов здравоохранения по всему миру, направленные на минимизацию рисков распространения вируса и соблюдение безопасности участников исследований. Одним из видов клинических исследований являются исследования биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов. Цель работы — анализ зарубежных подходов к планированию и выполнению исследований биоэквивалентности препаратов в условиях пандемии COVID-19 и разработка рекомендаций к планированию и оценке результатов исследований, проводимых в рамках Евразийского экономического союза. Рассмотрены основные положения актуальных руководств Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) и Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) по планированию, проведению и оценке клинических исследований и, в частности, исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов. Показано, что рекомендации Минздрава России, опубликованные в открытом письме всем субъектам обращения лекарственных средств и касающиеся вопросов проведения клинических исследований лекарственных препаратов в условиях пандемии коронавируса, нуждаются в дополнительной детализации. На основании проведенного анализа сформулированы рекомендации, направленные на обеспечение защиты участников клинических исследований, а также на сохранение приемлемого уровня качества и достоверности результатов исследований.

Ключевые слова: биоэквивалентность; исследования биоэквивалентности; воспроизведенные лекарственные препараты; пандемия; коронавирус; COVID-19

Для цитирования: Ромодановский ДП, Хохлов АЛ, Горячев ДВ. Планирование исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):6–15. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-6-15>

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

Planning Bioequivalence Studies in the Context of the COVID-19 Pandemic

D. P. Romodanovsky^{1,*}, A. L. Khokhlov², D. V. Goryachev¹

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

² Yaroslavl State Medical University,
5 Revolutsionnaya St., Yaroslavl 150000, Russian Federation

Abstract. The coronavirus (COVID-19) pandemic, which began in 2020, has affected all spheres of life, including clinical trial processes. Health authorities around the world issued recommendations aimed at minimising the risks of virus spreading and ensuring the safety of study participants. One of the types of clinical trials is bioequivalence studies of generic medicines. The aim of the study was to analyse current foreign approaches to planning and conduct of bioequivalence studies of medicines in the context of the COVID-19 pandemic, and to develop recommendations for planning of studies conducted in the Eurasian Economic Union and evaluation of their results. The paper discusses the main provisions of the current guidelines of the European Medicines Agency (EMA) and the US Food and Drug Administration (FDA) on the planning, conduct and evaluation of clinical trials and, in particular, bioequivalence studies of generic medicines. The paper substantiates the necessity of detailing the recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation, published in an open letter to all market stakeholders and regulating the conduct of clinical trials of medicines in the context of the coronavirus pandemic. The results of the analysis helped to develop recommendations aimed at ensuring the protection of clinical trial participants, as well as maintaining an acceptable level of quality and reliability of study results.

Key words: bioequivalence; bioequivalence studies; generic medicines; pandemic; coronavirus; COVID-19

For citation: Romodanovsky DP, Khokhlov AL, Goryachev DV. Planning bioequivalence studies in the context of the COVID-19 pandemic. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):6–15. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-6-15>

* **Corresponding author:** Dmitry P. Romodanovsky; Romodanovsky@expmed.ru

В настоящее время наблюдается вспышка респираторного заболевания, вызванного новым коронавирусом. Вирус был назван SARS-CoV-2, а вызываемое им заболевание — COVID-19 [1–3]. По состоянию на 27 января 2021 года зарегистрировано более 100 млн случаев заражения коронавирусом по всему миру¹.

В период пандемии COVID-19 во многих странах, включая Российскую Федерацию, начали применять меры, направленные на борьбу с распространением заболевания, в том числе связанные с ограничением свободы передвижения человека. Граждан обязали не покидать своего места жительства за исключением установленных случаев, временно приостановили деятельность множества организаций и реализовали ряд иных ограничивающих мероприятий [4].

Ведущие регуляторные органы (European Medicines Agency, EMA, и Food and Drug Administration, FDA) признают, что чрезвычайная ситуация, связанная с COVID-19, может повлиять на проведение клинических исследований лекарственных препаратов. Были подготовлены соответствующие руководства и разъяснения для заявителей и исследователей о необходимости соблюдения мер безопасности для участников исследований и внесения изменений в протоколы проводимых в данное время исследований².

Министерством здравоохранения Российской Федерации было опубликовано открытое письмо, адресованное субъектам обращения лекарственных средств, по вопросам проведения клинических исследований в условиях пандемии коронавируса³. Данный документ содержит положения, аналогичные представленным в зарубежных документах, вместе с тем в письме не предлагаются конкретные решения различных вопросов планирования и проведения исследований.

Проблемы, возникающие в условиях COVID-19 и связанные с планированием и проведением клинических исследований лекарственных средств, диктуют требования к разработке более подробных рекомендаций и руководств. В том числе это касается и исследований биоэквивалентности (БЭ), направленных на сравнение воспроизведенного и референтного препаратов.

Цель работы — анализ зарубежных подходов к планированию и выполнению исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19 и разработка рекомендаций к планированию и оценке результатов исследований, проводимых на территории Евразийского экономического союза.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1) провести поиск отечественных и зарубежных рекомендаций по вопросам планирования и проведения исследований БЭ в условиях пандемии COVID-19;

2) выполнить анализ отечественных рекомендаций и рекомендаций ведущих зарубежных регуляторных органов EMA и FDA;

3) на основании анализа предложить рекомендации к планированию и оценке результатов исследований БЭ в условиях пандемии COVID-19.

В работе использовали информационно-аналитический метод исследования. Материалами для исследования служили официальные документы, определяющие требования к планированию, проведению и оценке результатов клинических исследований лекарственных средств:

– Письмо Министерства здравоохранения России от 27 марта 2020 г. № 20-1/И/2-3651 «По вопросам проведения клинических исследований лекарственных препаратов в условиях пандемии коронавируса COVID-19»;

– Правила проведения исследований БЭ лекарственных средств Евразийского экономического союза (ЕАЭС), утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85;

– документы EMA и FDA, устанавливающие порядок планирования и проведения клинических исследований в условиях пандемии коронавируса⁴.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПЛАНИРОВАНИЮ И ПРОВЕДЕНИЮ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

В 2020 г. EMA опубликовало несколько документов, регламентирующих планирование и проведение клинических исследований в условиях пандемии. Руководство по проведению клинических

¹ COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. <https://www.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>

² European Medicines Agency. Guidance on the management of clinical trials during the COVID-19 (Coronavirus) pandemic. Version 3. 2020.

European Medicines Agency. Points to consider on implications of Coronavirus disease (COVID-19) on methodological aspects of ongoing clinical trials. EMA/158330/2020 Rev. 1.

Guidance for industry, investigators, and institutional review boards: Conduct of clinical trials of medical products during the COVID-19 public health emergency. FDA-2020-D-1106-0002. 2021.

³ Письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27 марта 2020 г. № 20-1/И/2-3651 «По вопросам проведения клинических исследований лекарственных препаратов в условиях пандемии коронавируса COVID-19».

⁴ European Medicines Agency. Guidance on the management of clinical trials during the COVID-19 (coronavirus) pandemic. Version 3. 2020.

European Medicines Agency. Points to consider on implications of Coronavirus disease (COVID-19) on methodological aspects of ongoing clinical trials. EMA/158330/2020 Rev. 1.

Guidance for industry, investigators, and institutional review boards: Conduct of clinical trials of medical products during the COVID-19 public health emergency. FDA-2020-D-1106-0002. 2021.

Guidance for industry: Protecting participants in bioequivalence studies for abbreviated new drug applications during the COVID-19 public health emergency. FDA-2020-D-1136. 2021.

испытаний во время пандемии COVID-19⁵ содержит инструкции о том, как следует управлять ходом клинических исследований, набором и оценкой участников исследований во время пандемии COVID-19. Приведены конкретные примеры возможных отклонений от протокола исследований и потенциальных ситуаций, которые могут привести к необходимости изменений протокола исследования. Предложены возможные решения таких проблем, как необходимость изолирования участников исследований, необходимость ограничения доступа участников к клиническим центрам и необходимость перераспределения медицинских работников в исследовательском центре.

В документе «Вопросы, которые следует учитывать в связи с последствиями коронавирусной инфекции (COVID-19) для методологических аспектов текущих клинических испытаний»⁶ перечислены действия, которые спонсоры клинических исследований должны предпринять, чтобы сохранить целостность своих исследований и возможность адекватной интерпретации их результатов, при этом обеспечивая безопасность участников исследований.

Данные руководства предполагают определенную гибкость для субъектов обращения лекарственных средств, т.е. допускают возможность отступления от утвержденных протоколов исследований для заявителей, а для регуляторных органов — при оценке результатов клинических исследований принимать во внимание влияние пандемии, ограничивающее возможности исследователей.

В США в 2020 году было выпущено руководство «Проведение клинических исследований лекарственных препаратов во время чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, связанной с COVID-19»⁷, которое содержит общие рекомендации спонсорам и исследователям по обеспечению безопасности участников исследований, соблюдению принципов Надлежащей клинической практики (Good clinical practice, GCP) и сведению к минимуму рисков для целостности исследования на время чрезвычайной ситуации, связанной с пандемией COVID-19. Предложены конкретные рекомендации для случаев введения карантина, закрытия клинических центров, ограничения передвижений, перебоев в цепочке поставок исследуемого продукта или распространения COVID-19 среди персонала центра или участников исследования. Предложены варианты внесения определенных изменений в протоколы исследований, в том числе в отношении введения или назначения исследуемых

препаратов, порядка визитов пациентов, выполнения лабораторных/диагностических исследований. В приложении к руководству даны дополнительные разъяснения и ответы на вопросы о проведении клинических исследований, которые FDA получало от спонсоров и исследователей во время пандемии COVID-19.

Общие положения по вопросам планирования и проведения клинических исследований в России, включая основанные на рекомендациях указанных руководств, нашли отражение в письме Министерства здравоохранения Российской Федерации⁸. Данные положения сводятся к следующим рекомендациям:

- рассмотреть возможность использования альтернативных методов мониторинга состояния пациентов клинического исследования (например, телефонный контакт, виртуальное посещение, выбор альтернативного места для проведения мониторинга, включая местные лаборатории или центры визуализации) при условии, что это не увеличит риски для субъектов исследования и не приведет к ущемлению их прав и законных интересов;

- расширить возможности взаимодействия с пациентами на дому (например, организовать доставку препаратов участнику исследования на дом сотрудниками медицинских центров, организовать сбор биологических образцов по месту жительства) при условии, что организатор исследования способен обеспечить должный уровень качества этого процесса (т.е. соблюдение стандартов учета препарата, обеспечение надлежащего качества образцов и т. п.);

- принять меры по минимизации воздействия на целостность клинического исследования, по предотвращению отклонений от протокола, за исключением случаев, когда они направлены на устранение непосредственной угрозы субъектам исследования или когда изменения касаются только административных и материально-технических аспектов исследования, а также уделять особое внимание документированию каждого факта и причин такого отклонения;

- принять меры, направленные на обеспечение максимально возможной защиты вовлеченного в клиническое исследование персонала.

Однако данные положения не предусматривают конкретных вариантов решения проблем, возникающих при планировании или проведении исследований. Поэтому всем заинтересованным лицам можно рекомендовать обращаться к актуальным версиям зарубежных рекомендаций, после чего

⁵ European Medicines Agency. Guidance on the management of clinical trials during the COVID-19 (Coronavirus) pandemic. Version 3. 2020.

⁶ European Medicines Agency. Points to consider on implications of Coronavirus disease (COVID-19) on methodological aspects of ongoing clinical trials. EMA/158330/2020 Rev. 1.

⁷ Guidance for industry, investigators, and institutional review boards: Conduct of clinical trials of medical products during the COVID-19 public health emergency. FDA-2020-D-1106-0002. 2021.

⁸ Письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27 марта 2020 г. № 20-1/И/2-3651 «По вопросам проведения клинических исследований лекарственных препаратов в условиях пандемии коронавируса COVID-19».

согласовывать предлагаемые изменения в протоколы исследований с Министерством здравоохранения Российской Федерации.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПЛАНИРОВАНИЮ И ПРОВЕДЕНИЮ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Чтобы получить разрешение на регистрацию лекарственного препарата, заявитель, как правило, должен продемонстрировать, среди прочего, что предлагаемый им лекарственный препарат биоэквивалентен референтному лекарственному препарату [5]. Правилами регистрации лекарственных средств в ЕАЭС предусмотрено, что воспроизведенный лекарственный препарат является биоэквивалентным референтному, если скорость и степень абсорбции лекарственного средства не демонстрируют значительных отличий от скорости и степени абсорбции референтного лекарственного средства при введении в той же молярной дозе терапевтического ингредиента в аналогичных экспериментальных условиях либо в одной дозе, либо в нескольких дозах⁹ [5, 6].

Для большинства препаратов основное внимание в исследованиях БЭ уделяется высвобождению лекарственного вещества из лекарственного препарата в системный кровоток. Во время таких исследований БЭ заявитель должен сравнить профиль системной экспозиции предлагаемого исследуемого лекарственного препарата с профилем референтного препарата [7].

Согласно законодательству США, заявитель должен использовать «наиболее точный, чувствительный и воспроизводимый подход, доступный среди тех, которые изложены» в 21 CFR 320.24¹⁰ (b), чтобы продемонстрировать БЭ. Как указано в 21 CFR 320.24, для установления БЭ могут быть использованы *in vivo* и/или *in vitro* методы. Эти методы включают сравнительные фармакокинетические (ФК) тесты; сравнительные тесты *in vitro*, позволяющие прогнозировать биодоступность препарата у человека *in vivo* (корреляция *in vitro* — *in vivo*); фармакодинамические исследования; клинические исследования с конечными точками эффективности и безопасности [5, 8, 9].

Анализ регуляторных документов показал, что в отношении исследований БЭ специфические дополнительные требования впервые были введены в США. В январе 2021 г. FDA издало дополнительное руководство¹¹ для заявителей при регистрации воспроизведенных препаратов, в котором представлены рекомендации по защите участников исследований БЭ при подаче сокращенных заявок на новые

лекарственные препараты во время чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, связанной с COVID-19.

Данное руководство предполагается к использованию только на время чрезвычайной ситуации, связанной с COVID-19. Указано, что данный документ носит рекомендательный характер и не обязывает заявителей, разработчиков лекарственных препаратов и исследователей к его соблюдению.

Общие положения. Ситуация, связанная с COVID-19, может повлиять на проведение исследований БЭ вплоть до необходимости временного прекращения исследования. Следовательно, некоторые исследования могут быть приостановлены на различных этапах — от разработки протокола до набора и скрининга добровольцев, а также во время исследования, между периодами исследования или на этапе анализа образцов крови.

Заявителям, спонсорам, исследователям и другим участникам исследований в ситуации пандемии пришлось искать краткосрочные альтернативные меры для решения возникающих проблем.

Как правило, при проведении исследований БЭ, как и прочих клинических исследований, рекомендуется применять осторожный и методичный подход для защиты здоровья и безопасности всех участников исследования. Рекомендуется учитывать потенциальное влияние участия в исследовании на здоровье добровольцев (например, диагнозы участников исследований БЭ, сопутствующие заболевания и т.д.).

Кроме того, рекомендуется обеспечить безопасность персонала исследовательских центров (клинического и аналитического) и позаботиться о том, чтобы обеспечить целостность исследования и научную достоверность данных, полученных в результате вынужденных изменений при выполнении исследований или вынужденных поправок, вносимых в протокол и дизайн исследования. Рекомендуется, чтобы исследовательские центры разрабатывали индивидуальные планы возобновления или начала исследований исходя из текущей ситуации в отношении пандемии COVID-19.

Заявители при подаче документов должны предоставлять актуальную и адекватную информацию, касающуюся любого нарушения исследования БЭ или отклонения от протокола исследования, связанного с COVID-19, даже если такие отклонения были сделаны в связи с ранее выпущенными рекомендациями.

Начало или возобновление исследований БЭ. Исследовательские клинические и лабораторные центры должны соблюдать все ограничения,

⁹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».

¹⁰ Code of Federal Regulations. Title 21 — Food and Drugs. § 320.24. Types of evidence to measure bioavailability or establish bioequivalence.

¹¹ Guidance for industry, investigators, and institutional review boards: Conduct of clinical trials of medical products during the COVID-19 public health emergency. FDA-2020-D-1106-0002. 2021.

налагаемые федеральными или местными органами власти в отношении требований по контролю над распространением вируса, включая закрытие центров до получения соответствующих разрешений на возобновление деятельности и продолжения исследований.

При возобновлении или начале новых исследований БЭ исследовательские центры должны учитывать требования к безопасности участников исследований и персонала центров.

Защита участников исследований. В исследованиях БЭ, проводимых с целью регистрации воспроизведенных препаратов, как правило, участвуют здоровые добровольцы [10]. В период пандемии COVID-19 FDA предлагает дополнительные рекомендации по процедурам, направленным на обеспечение безопасности здоровых добровольцев, включенных или планируемых к включению в исследования, а также безопасности пациентов, участвующих в исследованиях препаратов, изучение БЭ которых не разрешено у здоровых добровольцев. Возобновление и начало исследований БЭ должны соответствовать применимым (национальным или региональным) руководствам и требованиям по контролю за распространением коронавируса.

Определенные группы населения могут быть более восприимчивы к неблагоприятным клиническим исходам COVID-19 из-за возраста или других сопутствующих заболеваний (например, пациенты с хроническими заболеваниями, лица старше 65 лет). Поэтому может потребоваться изменение критериев включения/невключения в исследование.

Критерии включения. Тщательный выбор популяции участников может помочь минимизировать риск передачи SARS CoV-2 среди участников. В качестве общей стратегии набора добровольцев следует учитывать местную распространенность COVID-19, а также доступность диагностического тестирования. Всем участникам исследования необходимо выполнить тест на коронавирус, что должно быть отражено в протоколе исследования.

Критерии не включения должны учитывать сопутствующие заболевания, включая наличие в анамнезе серьезных сердечно-сосудистых и респираторных заболеваний, а также анамнез или риск других заболеваний (например, диабет, ожирение, хроническое заболевание почек). Если исследование БЭ планируется с участием пациентов, то могут потребоваться дополнительные специфические критерии не включения или исключения субъектов исследований с учетом соблюдения безопасности конкретной популяции участников.

В отсутствие «препарат-специфических руководств» для конкретных наименований лекарственных средств, описывающих специфические проблемы, связанные с безопасностью участников, FDA рекомендует реализовывать программы,

направленные на повышение безопасности для всех участников исследования, если это необходимо и если не требуются дополнительные мероприятия, направленные на устранение потенциальных уязвимостей в конкретной популяции, участвующей в исследовании БЭ. В случае необходимости рекомендуется связываться с представителями регуляторных органов, чтобы обсудить потенциальные проблемы безопасности для предполагаемых участников исследования.

Визиты в клинический центр. До начала или возобновления исследований БЭ исследовательские центры должны адаптировать процедуры скрининга, допуска участников исследований в центр и обеспечить сведение к минимуму возможного распространения коронавируса.

Скрининг. Стандартные операционные процедуры (СОП) исследовательского центра должны включать рассмотрение методов сокращения времени, затрачиваемого участником исследования на нахождение в исследовательском центре, и любых взаимодействий с другими участниками и персоналом центра. Допускается использование «электронного информированного согласия» — электронных систем и процессов, которые могут использовать несколько видов информации и электронных носителей, включая текст, графику, аудио, видео, подкасты, пассивные и интерактивные веб-сайты, устройства биологического распознавания и устройства чтения карт, чтобы передать информацию, относящуюся к исследованию, а также получить и задокументировать информированное согласие. Если получение «электронного информированного согласия» невозможно, то могут быть использованы альтернативные методы получения информированного согласия, не предусматривающие личный контакт. Важно убедиться, что эти методы позволяют обеспечить адекватный обмен информацией и документацией, а также позволяют подтвердить, что лицо, подписывающее форму согласия, является лицом, которое планирует зарегистрироваться в качестве участника исследования или является законным уполномоченным представителем участника. Крайне важны при этом аспекты соблюдения норм биомедицинской этики [11, 12].

Спонсоры должны обеспечить возможность консультации исследовательских центров, выполняющих исследования от их имени, с ведущими экспертами по инфекционным заболеваниям и организациями здравоохранения по поводу внедрения дополнительных процедур для минимизации риска передачи инфекции между участниками и персоналом. Такими процедурами могут быть скрининг симптомов перед посещением исследовательского центра и корректировка рабочего процесса с целью ограничения контактов между лицами, принимающими участие в исследованиях.

Меры по ограничению распространения COVID-19.

Чтобы свести к минимуму риски воздействия на участников и персонал центров, рекомендуются два альтернативных подхода. В зависимости от ФК профиля изучаемого лекарственного средства следует рассмотреть возможность использования комбинации этих двух подходов.

Подход 1: участники и, возможно, персонал центра находятся в специализированных изолированных помещениях в течение всего времени исследования (с начала скрининга до завершения исследования) без амбулаторных посещений. Ожидается, что это ограничит заражение участников и персонала инфицированными лицами за пределами учреждения после того, как они будут включены в исследование и размещены в клиническом центре. На территории размещения участников исследования должны проводиться регулярные проверки температуры и скрининг симптомов COVID-19, участники и персонал должны носить средства индивидуальной защиты и применять приемлемые методы дезинфекции рук. Отбор проб крови должен проводиться по месту размещения (в палате) каждого добровольца. Однако при использовании данного подхода сохраняется возможность передачи инфекции внутри учреждения и требуется дополнительная предварительная изоляция и скрининг персонала в начале исследования и по его завершении.

Для обеспечения безопасности участников и персонала необходимо выполнять и другие рабочие процедуры, а также консультации со специалистами по инфекционному контролю.

Подход 2: участники не находятся в клиническом центре в течение всего времени исследования (проживают вне центра). В этом случае используются временные точки для отбора ФК проб, которые позволяют участнику посещать клинический центр каждый день, исключая ночные интервалы времени. Ожидается, что такой дизайн позволит свести к минимуму возможное заражение участника инфекцией от источников в пределах клинического центра, повышенные риски которого в противном случае могли бы быть обусловлены длительными периодами совместного нахождения участника в центре вместе с другими участниками исследования. Согласно такому подходу в клиническом центре должны быть предусмотрены регулярные проверки температуры и скрининг симптомов COVID-19 для каждого амбулаторного визита. Необходимо соблюдение временных интервалов для исключения пересечений посещений разных участников исследований. В помещении для сбора образцов крови одновременно может присутствовать только один участник исследований, после окончания посещения обязательно проведение дезинфекции помещений. Однако при данном подходе для участников сохраняется повышенный риск заражения вирусом из внешних источников.

Отбор проб крови. Один из способов снижения вероятности заражения участников/персонала вирусом — уменьшение количества посещений за счет использования альтернативных подходов к ФК моделированию для оптимизации временных точек отбора ФК проб. Используя доступную информацию о ФК профиле референтного препарата и методы моделирования ФК, возможно сократить количество точек отбора проб крови и таким образом минимизировать количество повторных амбулаторных посещений. Если это применимо, моделирование ФК параметров (например, таких как усеченная площадь под кривой «концентрация—время» (pAUC)) может быть использовано заявителем, а их приемлемость может быть рассмотрена регуляторным органом для установления БЭ между референтным и воспроизведенным препаратом при условии отсутствия ущерба для качества данных.

Раздельное дозирование и отбор проб. Другой метод уменьшения вероятности передачи вируса между участниками — это планирование посещений участников для приема препарата с учетом исключения пересечений участников между собой. Распределение интервалов между посещениями для первоначального приема препарата каждым участником гарантирует, что последующие посещения будут аналогичным образом разделены и смещены по времени. Посредством применения альтернативных ФК подходов можно увеличить интервалы амбулаторных посещений для отбора проб, что даст возможность более гибкого планирования и исключения пересечений. Однако это может увеличить продолжительность исследования и требует дополнительного статистического обоснования, которое должно быть четко описано в протоколе в плане статистического анализа, в том числе для учета влияния дополнительного группового эффекта и минимизации потенциальной систематической ошибки.

Отбор проб вне центра (по месту проживания). Для уменьшения контактов между участниками или между участниками и сотрудниками центра в качестве подходящего альтернативного метода можно рассмотреть проведение отборов ФК проб в домашних условиях. В этом случае необходима тщательная валидация аналитического метода оценки образцов, полученных в таких условиях, в соответствии с рекомендациями по валидации биоаналитических методов, включая подтверждение того, что данные являются точными, надежными и воспроизводимыми. Кроме того, необходимо провести корреляционное исследование, чтобы гарантировать, что результаты анализа образцов, собранных дома, аналогичны результатам, полученным при анализе цельной крови, отобранной в условиях исследовательского центра. Поскольку методики отбора проб на дому не являются стандартными, рекомендуется предварительная консультация с представителями регуляторных

органов перед использованием этих методов и составлением научного обоснования для их применения. В последнее десятилетие отбор микропроб заслужил внимание как подход, ориентированный на участников исследований [13]. Согласно предложениям FDA, имеющиеся в настоящее время наборы для отбора микропроб, первоначально разработанные для терапевтического мониторинга лекарственных средств, могут позволить отобрать образцы в домашних условиях, что значительно снижает риск заражения SARS-CoV-2. Однако есть некоторые потенциальные проблемы, связанные с этим подходом, которые следует учитывать, в том числе проверку личности участника, подтверждение времени отбора проб, а также разработку и валидацию биоаналитических методов. Также отбор проб на дому вносит дополнительные сложности как для заявителей (например, необходимость найма соответствующего квалифицированного персонала, транспортировки образцов в лабораторию и т.д.), так и для экспертов, которым придется оценивать подобные результаты (например, необходимость повышения квалификации для всесторонней оценки подобных данных), поэтому в условиях выполнения исследований в России целесообразность его применения в настоящее время сомнительна.

Последующее наблюдение. Для устранения необходимости в личном посещении центра в периоде последующего наблюдения или для сокращения количества времени, проводимого участником на территории центра, могут быть рассмотрены меры, направленные на внедрение альтернативных способов оценки состояния участников. Например, персонал центра может выполнять процедуры завершения лечения во время выписки, а последующий визит может проводиться виртуально (видео- или телефонный звонок), если у участника не возникли нежелательные явления, которые следует оценить при непосредственном медицинском осмотре.

Разработка и пересмотр стандартных операционных процедур. Перед первичным открытием, повторным открытием и/или возобновлением исследовательской деятельности все клинические центры должны разработать подробный план или процедуру (СОП) снижения рисков распространения и влияния вируса на ход и результаты исследования, а также защитить участников и исследовательский персонал при сохранении целостности исследования. Для этого могут потребоваться консультации со специалистами по инфекционному контролю в медицинских учреждениях.

Защита научной достоверности данных в исследованиях БЭ. Ниже представлены рекомендации FDA в помощь заявителям по защите прав и благополучия участников исследований, а также направленные на обеспечение качества исследования и сохранение целостности данных.

Поправки и разработка протокола исследования. Как правило, изменения в протокол исследования можно вносить только после их рассмотрения и утверждения независимым этическим комитетом и регуляторным органом. Спонсорам исследований, потенциальным заявителям и клиническим исследователям рекомендуется как можно раньше взаимодействовать с этическим комитетом и регуляторным органом в случае необходимости внесения срочных изменений в протокол исследования или в текст информированного согласия из-за пандемии COVID-19. Такие изменения протокола или дизайна исследования в период пандемии, которые необходимы для устранения непосредственных рисков участников исследования, могут быть внесены в протокол до рассмотрения и утверждения этическим комитетом и регуляторным органом. Однако обо всех изменениях в обязательном порядке необходимо уведомить этический комитет и регуляторный орган в максимально возможный короткий срок, с предоставлением всей необходимой информации и подробного обоснования всех изменений.

Протокол исследования должен предусматривать проведение различных мероприятий, направленных на ведение участника и оценку данных в случае его возможного заболевания (COVID-19 либо иное заболевание) во время проведения исследования (например, необходимо определить метод оценки недостающих данных, их исключение или их замену предыдущими значениями).

Изменения в протокол и план статистического анализа следует вносить до закрытия и разослепления данных. Например, протокол должен заранее предусматривать, как будут обрабатываться недостающие данные для статистического анализа, при этом должно быть прописано соответствующее обоснование выбранного метода. Подробная информация об отсутствующих данных (например, пропуск приема препаратов или отсутствующие значения измерений, например ФК параметров) должна собираться для каждого участника исследования. Эта информация должна полностью описывать причины и следствия отсутствия данных, в том числе и то, как это связано с COVID-19. Информация должна быть максимально полной и сопровождаться соответствующим обоснованием, что отсутствующие данные не могут привести к ошибочному заключению об эквивалентности препаратов. Необходимо предоставлять подробную информацию в отношении всех участников, которые прекратили участие в исследовании.

Отклонения от протокола клинических исследований. Пандемия COVID-19 привела к различным отклонениям и нарушениям в стандартных процедурах клинических исследований. Например, введенные государственными органами

ограничительные меры, направленные на контроль распространения вируса и поддержание безопасности и здоровья населения, могли быть реализованы до утверждения изменений протокола или наоборот, после утверждения протокола, что, соответственно, привело к неизбежным отклонениям от протокола. Соблюдение правил надлежащего документирования отклонений от протокола клинических исследований играет ключевую роль для последующей правильной и всесторонней оценки результатов исследований. Кроме того, важно поддерживать оперативную и открытую связь между спонсорами исследования, наблюдателями, исследователями и этическим комитетом.

Мониторинг исследований. Ограничения передвижений, введенные государственными органами и местными учреждениями, создают потенциальные проблемы для мониторинга центров и, соответственно, контроля обеспечения качества исследований. Дистанционный мониторинг может обеспечить большую гибкость исследований БЭ, поэтому по возможности следует это предусмотреть в протоколе исследования и стандартных операционных процедурах организации, которая будет выполнять мониторинг.

Если исследования БЭ проводятся в одном исследовательском центре (в одном регионе), для контроля качества исследований могут быть использованы децентрализованные (местные) специалисты по мониторингу, что избавит от необходимости перемещения специалистов и, соответственно, необходимость поездок между регионами или странами будет сведена к минимуму.

Срок годности лекарственных препаратов. Как правило, при проведении исследования БЭ не рекомендуется использовать референтный или исследуемый препарат с истекающим в ближайшее время сроком годности, так как в этом случае препарат может не соответствовать спецификации. В случае если из-за пандемии необходима приостановка исследования, возможны ситуации, что серии исследуемого или референтного препарата могут быть просрочены. Заявителям рекомендовано проводить консультации с регуляторным органом для решения проблем, связанных с использованием лекарственных средств с истекшим сроком годности, посредством контролируемой переписки (например, какие альтернативы применению лекарственного препарата с истекшим сроком годности могут быть осуществимы).

Таким образом, резюмируя все вышеперечисленное, предлагаем дополнить имеющиеся в настоящее время в России рекомендации по вопросам планирования и проведения исследований биоэквивалентности следующими положениями:

1) в протоколе исследований и в соответствующих документах (СОП) исследовательских центров

предусмотреть выполнение тестов на коронавирус перед началом исследований для добровольцев и персонала центра;

2) в случае исследований БЭ, выполняемых у пациентов, необходимо исключить включение в исследование пациентов из групп риска, например с хроническими сопутствующими заболеваниями, и пациентов старше 65 лет;

3) необходимо минимизировать контакты между участниками исследований и между персоналом исследовательского центра, например максимально сократить число визитов в центр, по возможности сократить длительность забора образцов крови, предусмотреть разные дни и время для посещений центра участниками исследования. Допустимо использование подходов 1 или 2, описанных выше, или их комбинации;

4) по возможности следует тщательно спланировать схему отбора проб крови, в том числе на основе описанного метода моделирования ФК данных, что может также позволить сократить время нахождения участников исследования в центре и частоту их визитов в центр для взятия образцов крови;

5) для контроля качества выполнения исследования, в случае наличия ограничений на перемещение между регионами, целесообразно рассмотреть возможность дистанционного контроля или привлечения дополнительных мониторов клинических центров из числа доступных местных организаций, осуществляющих соответствующую деятельность;

6) в протоколе исследования необходимо описать процедуры статистического анализа недостающих данных, так как имеется высокий риск потери данных из-за возможности заражения вирусом добровольцев или необходимости соблюдения ими карантина, что в итоге может привести к полному отсутствию данных на каком-либо из периодов исследований;

7) не следует использовать серии воспроизведенного и референтного препаратов с истекающим сроком годности;

8) в исследовательских центрах необходимо соблюдать все необходимые ограничения, установленные на местном или федеральном уровне, предусматривать правильное использование средств индивидуальной защиты, тщательно проводить дезинфицирующие мероприятия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты информационно-аналитического исследования отечественных и зарубежных рекомендаций по планированию, проведению и оценке исследований биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов в условиях пандемии COVID-19 свидетельствуют об отсутствии отечественных документов, содержащих конкретные

предложения для решения проблем и вопросов, возникающих при планировании и проведении клинических исследований. Министерством здравоохранения Российской Федерации предложены общие положения, которые требуют дополнительной доработки для реализации мер, направленных на ограничение распространения коронавируса и безопасность участников исследований. Зарубежные рекомендации, которые постоянно пересматриваются и дополняются, предлагают четкие решения множества вопросов и проблем, связанных с проведением исследований в условиях COVID-19. В январе 2021 г. в США вышло пока единственное в мире руководство в отношении планирования и проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в условиях пандемии.

На основании анализа зарубежного опыта ЕМА и FDA в отношении управления клиническими исследованиями в условиях пандемии предложены рекомендации по планированию, проведению и оценке исследований биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных препаратов в условиях COVID-19, позволяющие повысить безопасность участников исследования и сохранить достоверность получаемых результатов. Данные рекомендации могут быть также применимы в случае возникновения новых инфекционных заболеваний, распространенность которых может достигать уровня пандемии.

Вклад авторов. Д. П. Ромодановский — идея, планирование исследования, написание всех разделов, редактирование текста, анализ и интерпретация результатов работы; А. Л. Хохлов — планирование исследования, утверждение

окончательного варианта статьи для публикации, решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи; Д. В. Горячев — идея, планирование исследования, ответственность за все аспекты работы, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Authors' contributions. Dmitry P. Romodanovsky—elaboration of the study idea, planning of the study, writing of all parts of the paper, editing of the text, analysis and interpretation of the study results; Alexander L. Khokhlov—planning of the study, approval of the final version of the paper for publication, handling issues related to the reliability of the data and integrity of all parts of the paper; Dmitry V. Goryachev—elaboration of the study idea, planning of the study, carrying responsibility for all aspects of the study, approval of the final version of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Конфликт интересов. Д. В. Горячев является членом редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП», А. Л. Хохлов является членом редакционного совета журнала «Вестник НЦЭСМП», Д. П. Ромодановский заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Dmitry V. Goryachev is a member of the Editorial Board of “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”, Alexander L. Khokhlov is a member of the Editorial Council of “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”, Dmitry P. Romodanovsky declares no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Горенков ДВ, Хантимирова ЛМ, Шевцов ВА, Рукавишников АВ, Меркулов ВА, Олефир ЮВ. Вспышка нового инфекционного заболевания COVID-19: β-коронавирусы как угроза глобальному здравоохранению. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(1):6–20. [Gorenkov DV, Khantimirova LM, Shevtsov VA, Rukavishnikov AV, Merkulov VA, Olefir YuV. An outbreak of a new infectious disease COVID-19: β-coronaviruses as a threat to global healthcare. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):6–20 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-6-20>
- Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):536–44. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Ayittey FK, Ayittey MK, Chiwero NB, Kamasah JS, Dzuvo C. Economic impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the world. *J Med Virol*. 2020;92(5):473–5. <https://doi.org/10.1002/jmv.25706>
- Плотников СИ. Ограничение прав и свобод граждан в период распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19): проблемы теории и практики. *Скиф. Вопросы студенческой науки*. 2020;(6):265–70. [Plotnikov SI. Restriction of the rights and freedoms of citizens during the spread of the new coronavirus infection (COVID-19): problems of theory and practice. *Skif. Issues of Student Science*. 2020;(6):265–70 (In Russ.)]
- Драницына МА, Захарова ТВ, Ниязов РР. Свойства процедуры двух односторонних тестов для признания биоэквивалентности лекарственных препаратов. *Ремедиум*. 2019;(3):40–7. [Drantsyna MA, Zakharova TV, Niyazov RR. Properties of the two one-sided tests procedure for the bioequivalence assessment of medicinal products. *Remedium = Remedium*. 2019;(3):40–7 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-3-40-47>
- Гильдеева ГН. Полиморфизм: влияние на качество лекарственных средств и актуальные методы анализа. *Качественная клиническая практика*. 2017;(1):56–60. [Gildeeva GN. Polymorphism: the influence on the quality of drugs and actual methods of analysis. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika* = *Good Clinical Practice*. 2017;(1):56–60 (In Russ.)]
- Ниязов РР, Рождественский ДА, Васильев АН, Гавришина ЕВ, Драницына МА, Куличев ДА. Регуляторные аспекты регистрации воспроизведенных и гибридных лекарственных препаратов в Евразийском экономическом союзе. *Ремедиум*. 2018;(7–8):6–19. [Niyazov RR, Rozhdestvensky DA, Vasiliev AN, Gavrishina EV, Drantsyna MA, Kulichev DA. Regulatory aspects of marketing authorization of generic and hybrid medicinal products in the Eurasian Economic Union. *Remedium = Remedium*. 2018;(7–8):6–19 (In Russ.)]. <http://doi.org/10.21518/1561-5936-2018-7-8-6-19>
- Васильев АН, Кукес ВГ, Меркулов ВА, Бунятян НД, Прокофьев АБ, Романов БК и др. Мировой опыт в оценке взаимозаменяемости препаратов для медицинского применения. *Врач*. 2015;(8):81–5. [Vasiliev AN, Kukes VG, Merkulov VA, Bunyatyan ND, Prokofiev AB, Romanov BK, et al. World experience in assessment of the interchangeability of products for medical use. *Vrach = Doctor*. 2015;(8):81–5 (In Russ.)]

9. Васильев АН, Бунятян НД, Гавришина ЕВ, Ниязов РР, Ромодановский ДП, Горячев ДВ и др. Терапевтическая эквивалентность и взаимозаменяемость лекарственных препаратов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015;78(9):32–8. [Vasiliev AN, Bunyatyan ND, Gavrishina EV, Niyazov RR, Romodanovsky DP, Goryachev DV, et al. Therapeutic equivalence and interchangeability of medicinal products. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2015;78(9):32–8 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2015-78-9-32-38>
10. Лилеева ЕГ, Мирошников АЕ. Исследования биоэквивалентности: психологический портрет добровольца. *Universum: медицина и фармакология*. 2016;(1–2). [Lileeva EG, Miroshnikov AE. Research of bioequivalent: a psychological portrait of the volunteer. *Universum: meditsina i farmakologiya = Universum: Medicine and Pharmacology*. 2016;(1–2) (In Russ.)]
11. Чучалин АГ, Гребенщикова ЕГ, Хохлов АЛ. Пандемия коронавируса: вызовы и уроки для медицинской этики. *Медицинская этика*. 2020;(2):3–7. [Chuchalin AG, Grebenshchikova EG, Khokhlov AL. Coronavirus pandemic: Challenges and lessons for medical ethics. *Meditsinskaya etika = Medical Ethics*. 2020;(2):3–7 (In Russ.)]
12. Тищенко ПД. Биоэтические вызовы пандемии COVID-19. *Медицинская этика*. 2020;(2):13–8. [Tishchenko PD. Bioethical challenges of the COVID-19 pandemic. *Meditsinskaya etika = Medical Ethics*. 2020;(2):13–8 (In Russ.)]
13. Spooner N, Anderson KD, Siple J, Wickremsinhe ER, Xu Y, Lee M. Microsampling: considerations for its use in pharmaceutical drug discovery and development. *Bioanalysis*. 2019;11(10):1015–38. <https://doi.org/10.4155/bio-2019-0041>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Ромодановский Дмитрий Павлович, канд. мед. наук. *Dmitry P. Romodanovsky, Cand. Sci. (Med.)*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2980-4518>
Хохлов Александр Леонидович, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН. *Alexander L. Khokhlov, Dr. Sci. (Med.)*, Professor, Corresponding Member of RAS. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>
Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук. *Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.)*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Статья поступила 29.01.2021
После доработки 11.02.2021
Принята к печати 20.02.2021

Article was received 29 January 2021
Revised 11 February 2021
Accepted for publication 20 February 2021

Сравнение подходов к изучению стабильности лекарственных средств в рамках национальной процедуры в России и Евразийском экономическом союзе

А. И. Беланова*, Е. Л. Ковалева, Л. И. Митькина

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. Изучение стабильности лекарственных средств позволяет получить необходимые данные о влиянии на их качество таких факторов, как температура, свет, влажность и др. На основании полученных результатов осуществляется выбор подходящей первичной и вторичной упаковки, определяются условия хранения и устанавливается срок годности. Цель работы — сравнительный анализ требований к изучению стабильности лекарственных средств, действующих в настоящее время в сфере обращения лекарственных средств на территории Российской Федерации и Евразийского экономического союза. Анализ проведен в отношении стабильности лекарственных средств синтетического происхождения. В работе описана динамика изменений подходов к изучению стабильности лекарственных средств в Российской Федерации. Отмечены основные отличия требований к изучению стабильности лекарственных средств согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIII и XIV изданий и нормативным документам Евразийского экономического союза. Проведенный анализ показал, что в Российской Федерации отсутствуют нормативные документы, устанавливающие конкретные требования к изучению стабильности при внесении изменений в регистрационное досье на лекарственное средство. Так, в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания не отражено, в каком объеме должно быть проведено изучение стабильности при замене производителя фармацевтической субстанции или введении новой производственной площадки, на которой планируется производство лекарственного средства. При этом в нормативных документах Евразийского экономического союза указаны необходимые требования по изучению стабильности для каждого вида из наиболее часто вносимых в регистрационное досье изменений. Для решения данного вопроса необходимо дальнейшее приведение нормативных документов Российской Федерации в соответствие с требованиями Евразийского экономического союза.

Ключевые слова: стабильность лекарственных средств; срок годности лекарственного препарата; дата переконтроля; период до проведения повторных испытаний; климатическая зона; ускоренное изучение стабильности; активная фармацевтическая субстанция

Для цитирования: Беланова АИ, Ковалева ЕЛ, Митькина ЛИ. Сравнение подходов к изучению стабильности лекарственных средств в рамках национальной процедуры в России и Евразийском экономическом союзе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):16–23. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23>

* Контактное лицо: Беланова Алла Ивановна; belanova@expmed.ru

Comparison of Approaches to Stability Testing of Medicines in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union

A. I. Belanova*, E. L. Kovaleva, L. I. Mit'kina

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

Abstract. Stability testing gives necessary data on the effect of such factors as temperature, light, humidity, etc. on the medicinal product quality. The results of these studies help to select suitable primary and secondary packaging and to determine storage conditions and shelf life for the product. The aim of this study was to compare current requirements for stability testing of medicinal products in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union (EAEU). The study covered stability testing of small-molecule medicines. The paper describes evolution of approaches to stability testing in the Russian Federation. It summarises the main differences in basic requirements for stability testing as stipulated in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (Ph. Rus.) XIII edition, Ph. Rus. XIV edition, and EAEU regulations. The study demonstrated that the Russian Federation lacks regulations containing specific requirements for stability testing performed to support variations to marketing authorisation documentation. The Ph. Rus. XIV edition does not specify the extent of stability testing to be performed after switching to another manufacturer of the active ingredient or introduction into operation of a new manufacturing site where the medicinal product will be produced. At the same time, the EAEU regulatory documents contain requirements for stability testing for each type of the most frequent variations to marketing authorisation documentation. The study demonstrated the continuing relevance of bringing the Russian regulations on stability testing in line with those of the EAEU.

Key words: stability of medicinal products; shelf life of a medicinal product; retest date; retest period; climatic zone; accelerated stability studies; active pharmaceutical ingredient

For citation: Belanova AI, Kovaleva EL, Mit'kina LI. Comparison of approaches to stability testing of medicines in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):16–23. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23>

* Corresponding author: Alla I. Belanova; belanova@expmed.ru

Правила изучения стабильности лекарственных средств (ЛС), действовавшие до настоящего времени в Российской Федерации (с 1973 по 2019 г.), существенно отличались от требований в данной области, принятых в зарубежной практике (рекомендации 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)¹, руководств Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA)² и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)³) [1–3]. Отличия в требованиях к изучению стабильности ЛС усложняли выход на российский рынок зарубежных ЛС и отечественных лекарственных препаратов (ЛП) — в другие страны [4, 5]. На значительные отличия российских подходов к программе исследования стабильности от зарубежных требований неоднократно указывали специалисты, работающие в сфере обращения ЛС, в публикациях по данной тематике [1, 4–7]. В настоящее время происходит формирование единого рынка обращения ЛС в Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС). При этом обращение ЛП, зарегистрированных по национальной процедуре, будет продолжено до 31 декабря 2025 г. согласно Правилам регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденных Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78⁴. В связи с созданием единого рынка ЕАЭС анализ различий между требованиями, принятыми в Российской Федерации и в ЕАЭС, является актуальной задачей.

Цель работы — сравнительный анализ требований к изучению стабильности лекарственных средств, действующих в настоящее время в сфере обращения лекарственных средств на территории Российской Федерации и Евразийского экономического союза.

НАЦИОНАЛЬНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К ИЗУЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Согласно ОСТ 42-2-72 под термином «срок годности ЛС» понималось время, в течение которого

ЛС должны были полностью удовлетворять всем требованиям фармакопейной статьи⁵. Срок годности на ЛП устанавливался независимо от сроков годности действующего вещества (фармацевтической субстанции). При этом для производства/изготовления ЛП допускалось использовать только те фармацевтические субстанции, установленный срок годности которых истекал не более чем на 20% (для фармацевтических субстанций со сроком годности до 3 лет) или не более чем на 30% (для фармацевтических субстанций со сроком годности свыше 3 лет)⁶. Изучение стабильности ЛП проводилось на сериях, полученных из разных серий фармацевтических субстанций, одна из которых должна была быть с истекающим сроком годности⁷. Работы по определению срока годности начинались на лабораторных или опытно-лабораторных образцах не менее чем за 6 мес. до момента передачи ЛС на клинические испытания⁸. Изучение стабильности ЛС проводилось с целью установить влияние внешних факторов (влаги, кислород, углерода диоксид, температура, свет) на химические и физические свойства ЛС в течение заданного периода времени при определенных условиях хранения⁹. На основании полученных результатов устанавливались требования к материалу первичной и вторичной упаковки, герметичности, условиям хранения [5]. Затем изучение стабильности ЛС в выбранных условиях хранения и упаковке продолжалось с целью определения первоначального срока годности¹⁰.

Для фармацевтических субстанций с установленным химическим строением и ЛП, содержащих такие субстанции в качестве действующих веществ, разрешалось определение первоначального срока годности проводить методом «ускоренного старения»¹¹. Применение данного метода не распространялось на растительное сырье, полипептиды, белковые, эндокринные и другие препараты биологического происхождения, не имеющие установленного состава или содержащие компоненты с неустановленной химической структурой. Срок годности, установленный с помощью метода «ускоренного старения», в общем случае не должен был превышать 3 лет [5]. Метод основан на правиле Вант-Гоффа о 2–4-кратном росте скоростей

¹ Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. ICH harmonised tripartite guideline. 2003.

² European Medicines Agency. Guideline on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products. CPMP/QWP/122/02, Rev.1 corr.

³ Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. WHO technical report series, No. 953, Annex 2. 2009.

⁴ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 23 декабря 2020 г. № 128 «О внесении изменений в Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78».

⁵ ОСТ 42-2-72. Лекарственные средства. Порядок установления сроков годности. М.: 1973.

⁶ Там же.

⁷ Инструкция по проведению работ по изучению устойчивости лекарственных средств-субстанций к воздействию влаги и других химически активных компонентов воздуха (И 64-15-77). М.: 1977.

⁸ ОСТ 42-2-72. Лекарственные средства. Порядок установления сроков годности. М.: 1973.

⁹ Инструкция по проведению работ по изучению устойчивости лекарственных средств-субстанций к воздействию влаги и других химически активных компонентов воздуха (И 64-15-77). М.: 1977.

¹⁰ ОСТ 42-2-72. Лекарственные средства. Порядок установления сроков годности. М.: 1973.

¹¹ Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре (И-42-2-82). М.: ЦБНТИмедпром, 1983.

химических реакций при увеличении температуры на 10 °С, при этом зависимость, связывающая срок годности C при температуре хранения t_{xp} с экспериментальным сроком годности C_3 при повышенной температуре экспериментального хранения t_3 , определялась по формуле:

$$C = C_3 \times A^{\frac{t_3 - t_{xp}}{10}}, \quad (1)$$

где A — температурный коэффициент скорости химической реакции — был принят равным 2.

Инструкция¹² не исключала использование в отдельных случаях экспериментально определенных уточненных значений коэффициента A [1], а также прогнозирования сроков годности ЛС на основании более строгих зависимостей, например уравнения Аррениуса.

В 2008 г. была введена в действие Государственная фармакопея Российской Федерации XII изд. (ГФ РФ XII), в которую впервые была включена общая фармакопейная статья (ОФС) «Сроки годности лекарственных средств» (ОФС 42-0075-07). Согласно требованиям ОФС 42-0075-07 были сняты ограничения по остаточному сроку годности фармацевтической субстанции, используемой для изготовления ЛП, было добавлено указание о минимальном первоначальном сроке годности, который, как правило, должен быть не менее 2 лет, и рекомендация, ограничивающая установление срока годности свыше 5 лет (даже если результаты изучения стабильности позволяли это сделать)¹³. Наряду с ОФС 42-0075-07 продолжала действовать и инструкция¹⁴ по применению метода «ускоренного старения» [8].

В Государственную фармакопею Российской Федерации XIII изд. (ГФ РФ XIII) были включены обновленная и дополненная ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств» и вводимая впервые ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств». В ОФС.1.1.0009.15 были определены такие понятия, как стабильность, долгосрочные испытания стабильности, испытания стабильности методом «ускоренного старения», стресс-исследования; добавлены методы, основанные на принятых в международной практике подходах к изучению стабильности ЛС¹⁵: метод крайних вариантов, матричный метод и экстраполяция данных, полученных

по результатам долгосрочного хранения; приведены рекомендации относительно исследований стабильности ЛП после вскрытия первичной многодозовой упаковки, стерильных ЛП после восстановления, проведения стресс-исследований и изучения фотостабильности [9]. Эти же методы исследования стабильности более подробно описаны в Руководстве по экспертизе лекарственных средств¹⁶, в котором также приведены примеры оформления протоколов изучения стабильности.

Следует отметить, что согласно ОФС.1.1.0009.15 температурный коэффициент скорости химических реакций A (формула (1)) был изменен¹⁷ и принят равным 2,5. Изменение значения температурного коэффициента скорости химических реакций A при хранении ЛС в течение 6 мес. при 40 °С для установления срока годности 2 года было введено на переходный период до введения в действие требований, согласованных с международными¹⁸.

СРАВНЕНИЕ И ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТРЕБОВАНИЙ ГФ РФ XIV И ГФ РФ XIII К ИЗУЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

С вступлением в действие Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV) подходы к изучению стабильности ЛС претерпевают ряд существенных изменений. Так, в ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств», разработанной взамен ОФС.1.1.0009.15, введены термины и подходы, соответствующие международным руководствам¹⁹ ICH и ЕМА: новая фармацевтическая субстанция (фармацевтическая субстанция, содержащая новую молекулу химического вещества, которое ранее не было включено в состав какого-либо зарегистрированного ЛП)²⁰; существующая фармацевтическая субстанция (фармацевтическая субстанция, которая была разрешена к применению в составе соответствующего ЛП, зарегистрированного в установленном порядке); стабильная фармацевтическая субстанция (фармацевтическая субстанция считается стабильной, если соответствует требованиям спецификации при хранении при температуре 25 °С и относительной влажности (ОВ) 60% или при температуре 30 °С и ОВ 60% (65%) в течение 2 лет, а также

¹² Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре (И-42-2-82). М.: ЦБНТИмедпром, 1983.

¹³ Государственная фармакопея Российской Федерации. XII изд. Ч. 1. М.; 2008.

¹⁴ Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре (И-42-2-82). М.: ЦБНТИмедпром, 1983.

¹⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015.

¹⁶ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. М.: Гриф и К; 2014.

¹⁷ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. М.: Гриф и К; 2014.

Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015.

¹⁸ Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. ICH harmonised tripartite guideline. 2003.

European Medicines Agency. Guideline on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products. CPMP/QWP/122/02, Rev.1 corr.

¹⁹ Там же.

²⁰ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. № 69 «Об утверждении требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций».

при температуре 40 °С и ОВ 75% при хранении в течение 6 мес.)²¹; период до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических субстанций (период времени до проведения повторных испытаний, в течение которого стабильная фармацевтическая субстанция соответствует спецификации качества и пригодна для производства ЛП при надлежащих условиях ее хранения)²². Также даны определения понятиям промышленной серии (серия фармацевтической субстанции или ЛП промышленного масштаба, произведенная в производственном помещении с использованием производственного оборудования таким образом, как указано в регистрационном досье) и опытно-промышленной серии (серия фармацевтической субстанции или ЛП, произведенная на промышленном оборудовании в соответствии с технологией (или посредством ее моделирования), используемой при полномасштабном серийном производстве). Предусмотрена возможность двух видов спецификаций качества ЛС (на выпуск и на срок годности). Введено понятие значительных изменений в процессе изучения стабильности фармацевтической субстанции и ЛП. Отмечена необходимость выбора условий проведения долгосрочных испытаний с учетом климатических зон в зависимости от региона, в котором предполагается реализация, хранение и применение ЛС [10]. Согласно классификации²³ в Российской Федерации рекомендованными условиями для проведения долгосрочных испытаний стабильности ЛС являются температура (25 ± 2) °С и ОВ (60 ± 5)%, характерные для II климатической зоны (субтропический или средиземноморский климат).

Кроме этого, были изменены базовые принципы проведения исследований стабильности ЛС с целью гармонизации требований российских и международных нормативных документов²⁴. Предусмотрена возможность предоставления неполных данных по изучению стабильности, полученных в ходе долгосрочных испытаний, подтверждающих лишь часть предполагаемого срока годности ЛС, при этом должны быть представлены данные ускоренных и, при необходимости, промежуточных испытаний. Продолжительность испытаний для первоначального установления срока годности определяется в зависимости от выбора лекарственной формы ЛП и стабильности фармацевтической субстанции.

Следует отметить, что существенным отличием требований ГФ РФ XIV к изучению стабильности ЛС по сравнению с требованиями ГФ РФ XIII стала невозможность использования метода «уско-

ренного старения» как самостоятельного метода для установления срока годности ЛС. Согласно ОФС.1.1.0009.18 ускоренные испытания проводятся только в дополнение к долгосрочным испытаниям стабильности, и полученные результаты могут быть использованы для оценки возможных краткосрочных отклонений от заявленных условий хранения [11].

Изменились требования к выбору серий для изучения стабильности. Если в рамках изучения стабильности согласно ГФ РФ XIII требовалось предоставление данных, полученных на образцах ЛС не менее трех серий, произведенных в условиях лабораторного или опытно-промышленного регламента, то согласно требованиям ГФ РФ XIV количество серий, необходимых для изучения стабильности, в ряде случаев может быть менее трех. Должны использоваться промышленные и опытно-промышленные серии, а результаты исследования стабильности лабораторных серий могут быть применены только в качестве вспомогательной информации. Изменились требования к периодичности проводимых испытаний после второго года хранения ЛС. В соответствии с требованиями ГФ РФ XIII ежегодный интервал получения аналитических данных при изучении стабильности допускался только после третьего года хранения, а согласно требованиям ГФ РФ XIV ежегодный интервал может быть введен начиная с третьего года хранения.

Для стабильной фармацевтической субстанции вместо срока годности устанавливается период до проведения повторных испытаний²⁵ (дата переконтроля). Таким образом, если согласно ОСТ 42-2-72 для производства ЛП допускалось использовать фармацевтические субстанции с ограниченным остаточным сроком годности, по требованиям ГФ РФ XII была предусмотрена возможность для производства ЛП использовать фармацевтическую субстанцию в течение всего срока ее годности, то в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV стабильная фармацевтическая субстанция после даты переконтроля может быть использована для производства ЛП до тех пор, пока качество фармацевтической субстанции продолжает соответствовать спецификации. Срок годности согласно ГФ РФ XIV устанавливается для малоустойчивой фармацевтической субстанции или ЛП. Однако в настоящее время подходы, декларируемые ГФ РФ XIV в отношении установления периода до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических субстанций вместо срока годности, противоречат Федеральному закону Российской

²¹ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. № 69 «Об утверждении требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций».

²² Там же.

²³ Там же.

²⁴ Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. ICH harmonised tripartite guideline. 2003.

European Medicines Agency. Guideline on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products. CPMP/QWP/122/02, Rev.1 corr.

²⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018.

Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (гл. 6, ст. 18, 33 и 34) (Федеральный закон № 61-ФЗ), согласно которому в отношении фармацевтических субстанций, произведенных для реализации, и фармацевтических субстанций, входящих в состав ЛП и вносимых в государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС), должен устанавливаться срок годности. Таким образом, для приведения в соответствие российских требований с международными необходимо внесение поправок в Федеральный закон № 61-ФЗ и соответствующие Приказы Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В настоящее время в рамках национальной процедуры регистрации действующими нормативными документами, регламентирующими требования к изучению стабильности и установлению сроков годности фармацевтических субстанций синтетического, минерального и растительного происхождения и соответствующих ЛП на их основе, а также гомеопатических ЛС являются ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» и ОФС.1.1.0010.18 «Хранение лекарственных средств» ГФ РФ XIV, введенные взамен соответствующих статей ГФ РФ XIII. ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств» и ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств» ГФ РФ XIII продолжают действовать для ЛС, заявления о государственной регистрации которых представлены в Минздрав России до введения ОФС ГФ РФ XIV согласно Приказу²⁶.

Сравнительный анализ требований к изучению стабильности ЛС позволяет сформулировать следующие основные отличия ГФ РФ XIV от ГФ РФ XIII (табл. 1):

- возможность предоставления неполных данных, подтверждающих часть предполагаемого срока годности при регистрации ЛП;
- отказ от использования метода «ускоренного старения» как самостоятельного метода для установления срока годности ЛС;
- сокращение количества серий для изучения стабильности и при этом необходимость использования опытно-промышленных и/или промышленных серий, в то время как согласно ГФ РФ XIII для изучения стабильности отбирались образцы ЛС, специально произведенные по условиям лабораторного или опытно-промышленного регламента;
- установление периода до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических

субстанций, по истечении которого стабильную фармацевтическую субстанцию повторно анализируют на соответствие спецификации с тем, чтобы незамедлительно использовать для производства ЛП;

- указания к исследованию стабильности ЛП, упакованных в полупроницаемую упаковку: долгосрочные испытания проводят при ОВ 40%, промежуточные — при ОВ 35% и ускоренные — при ОВ 25%.

СРАВНЕНИЕ ТРЕБОВАНИЙ К ИЗУЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, ИЗЛОЖЕННЫХ В ГФ РФ XIV И ПРИНЯТЫХ В ЕАЭС

В ЕАЭС изучение стабильности фармацевтических субстанций синтетического происхождения и соответствующих ЛП должно проводиться в соответствии с Требованиями к исследованию стабильности ЛП и фармацевтических субстанций (Требования ЕАЭС)²⁷, которые соответствуют международным стандартам (руководства ICH и ЕМА)²⁸.

Подходы к изучению стабильности ЛС, принятые в Требованиях ЕАЭС, имеют общие принципы с требованиями ГФ РФ XIV в отношении программы исследования стабильности, выбору серий, периодичности испытаний и установлению срока годности или периода до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических субстанций, однако в Требованиях ЕАЭС эти принципы и оценка данных по стабильности описаны более детально. Кроме того, в Требованиях ЕАЭС, в отличие от ГФ РФ XIV, указан порядок изучения стабильности ЛП в случае внесения изменений в материалы регистрационного досье с подробным описанием, в каких случаях должно быть проведено дополнительное исследование стабильности после регистрации ЛП и в каком объеме следует представлять данные по изучению стабильности фармацевтических субстанций и ЛП. Так, например, в Требованиях ЕАЭС рассмотрены изменения, касающиеся замены или добавления новой производственной площадки для части или всех процессов производства готового препарата; изменение процесса производства ЛП: существенные изменения в процессе производства, которые могут повлиять на безопасность, качество или эффективность ЛП; применение нестандартного метода конечной стерилизации; внесение изменений в состав ЛП; качественные или количественные изменения одного или более вспомогательных веществ, которые

²⁶ Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31 октября 2018 г. № 748 «О признании не действующими на территории Российской Федерации приказа Минздрава СССР от 8 апреля 1991 г. № 99 «О введении в действие фармакопейной статьи «Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов» и Государственных фармакопей СССР X и XI изданий».

²⁷ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. № 69 «Об утверждении требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций».

²⁸ Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. ICH harmonised tripartite guideline. 2003. European Medicines Agency. Guideline on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products. CPMP/QWP/122/02, rev.1 corr.

Таблица 1. Сравнение требований к изучению стабильности лекарственных средств в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС)

Table 1. Comparison of requirements to stability testing of medicines in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union

ГФ РФ XIII / Ph. Rus. XIII	ГФ РФ XIV / Ph. Rus. XIV	ЕАЭС / EAEU
Должен быть подтвержден весь заявленный срок годности ЛС при верхней температуре заявленного режима хранения The whole period of the stated shelf life has to be confirmed at the upper limit of the recommended storage temperature range	Для установления первичного срока годности допускается предоставлять неполные данные, подтверждающие часть предполагаемого срока годности: - долгосрочные (25 °C / 60% ОВ), - ускоренные (40 °C / 75% ОВ), - и, если необходимо, промежуточные (30 °C / 65% ОВ) Preliminary shelf life may be established based on incomplete data supporting part of the estimated shelf life: - long-term (25 °C / 60% RH), - accelerated (40 °C / 75% RH), - intermediate, if necessary (30 °C / 65% RH)	Для установления первичного срока годности допускается предоставлять неполные данные, подтверждающие часть предполагаемого срока годности: - долгосрочные (25 °C / 60% ОВ), - ускоренные (40 °C / 75% ОВ), - и, если необходимо, промежуточные (30 °C / 65% ОВ) Preliminary shelf life may be established based on incomplete data supporting part of the estimated shelf life: - long-term (25 °C / 60% RH), - accelerated (40 °C / 75% RH), - intermediate, if necessary (30 °C / 65% RH)
Допускается использование метода «ускоренного старения» для установления срока годности ЛС (данные по долгосрочному испытанию стабильности представляются позже) Accelerated stability studies may be used to establish shelf lives of medicinal products (long-term testing results are provided at a later stage).	Отказ от использования метода «ускоренного старения» как самостоятельного метода для установления срока годности ЛС; данные, полученные при ускоренных испытаниях стабильности ЛС, являются дополнительными к результатам долгосрочных испытаний Accelerated stability studies cannot be used as an independent method for establishing shelf life; accelerated stability data support long-term stability data	Данные, полученные при ускоренных испытаниях стабильности ЛС, являются дополнительными к результатам долгосрочных испытаний Accelerated stability data support long-term stability data
Необходимо предоставление данных, полученных не менее чем на 3 сериях ЛС The applicant has to provide data obtained for at least three batches	В ряде случаев количество серий ЛС может быть менее трех In some cases, data from fewer than three batches may be sufficient	В ряде случаев количество серий ЛС может быть менее трех In some cases, data from fewer than three batches may be sufficient
Для всех фармацевтических субстанций устанавливается срок годности Shelf life has to be established for all active pharmaceutical ingredients	В отношении стабильной фармацевтической субстанции предусмотрена возможность установления периода переконтроля (период до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических субстанций) A retest period (a period after which repeated stability testing is carried out for stable active pharmaceutical ingredients) may be established for a stable active pharmaceutical ingredient	В отношении стабильной фармацевтической субстанции предусмотрена возможность установления периода переконтроля (период до проведения повторных испытаний стабильных фармацевтических субстанций) A retest period (a period after which repeated stability testing is carried out for stable active pharmaceutical ingredients) may be established for a stable active pharmaceutical ingredient
При проведении долгосрочных испытаний для ряда ЛФ могут требоваться дополнительные испытания при нижней температуре установленного режима хранения (например, для мягких ЛФ, для которых возможны изменения их физико-химического состояния при пониженных температурах) Long-term studies may require additional testing at the lowest temperature of the recommended storage temperature range for a number of dosage forms (e.g., for semi-solid dosage forms whose physico-chemical properties may change at low temperatures)	При проведении долгосрочных испытаний для ряда ЛФ могут требоваться дополнительные испытания при нижней температуре установленного режима хранения (например, для мягких ЛФ, для которых возможны изменения их физико-химического состояния при пониженных температурах) Long-term studies may require additional testing at the lowest temperature of the recommended storage temperature range for a number of dosage forms (e.g., for semi-solid dosage forms whose physico-chemical properties may change at low temperatures)	Не предусмотрено Not applicable
Не предусмотрено Not applicable	Не предусмотрено Not applicable	Приведены требования к изучению стабильности ЛП при внесении изменений в материалы регистрационного досье Regulations include requirements for stability testing in cases of variations to marketing authorisation documentation

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

ГФ РФ XIII / Ph. Rus. XIII	ГФ РФ XIV / Ph. Rus. XIV	ЕАЭС / EAEU
Указания к исследованию стабильности ЛП в полупроницаемой упаковке отсутствуют There are no requirements for stability testing of medicinal products packaged in semi-permeable containers	Для ЛП в полупроницаемой упаковке исследование стабильности должно проводиться при пониженной влажности In the case of medicinal products packaged in semi-permeable containers, stability testing should be performed at low humidity levels	Для ЛП в полупроницаемой упаковке исследование стабильности должно проводиться при пониженной влажности In the case of medicinal products packaged in semi-permeable containers, stability testing should be performed at low humidity levels

Примечание: ГФ РФ XIII — Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд.; ГФ РФ XIV — Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд.; ОВ — относительная влажность; ЛС — лекарственное средство; ЛП — лекарственный препарат; ЛФ — лекарственная форма.

Note: Ph. Rus. XIII—State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII ed.; Ph. Rus. XIV—State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed.; RH—relative humidity.

могут значительно повлиять на безопасность, качество или эффективность ЛП; добавление нового показателя качества, изменения по которому могут происходить в процессе хранения; изменение или введение нового вида упаковочного материала, соприкасающегося с ЛП и влияющего на доставку, применение, безопасность или стабильность ЛП; и другие изменения, требующие оценки данных по стабильности.

Согласно требованиям ГФ РФ XIV, при проведении долгосрочных испытаний для ряда лекарственных форм могут требоваться дополнительные испытания при нижней температуре установленного режима хранения (например, для мягких лекарственных форм, для которых возможны изменения их физико-химического состояния при пониженных температурах)²⁹, что не предусмотрено положениями Требований ЕАЭС (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение правил надлежащей производственной практики и создание единого рынка обращения лекарственных средств в ЕАЭС позволило гармонизировать национальные подходы к изучению стабильности с международными, при этом требования, действовавшие ранее в Российской Федерации, претерпели значительные изменения. Требования ГФ РФ XIV приведены в соответствие с основными положениями международных нормативных документов по программе изучения стабильности ЛС и требованиями, принятыми в ЕАЭС. Однако в нормативных документах Российской Федерации не установлены конкретные требования относительно изучения стабильности в случае внесения изменений в регистрационное досье на ЛП или фармацевтическую субстанцию. При этом в нормативных правовых актах ЕАЭС указаны требования и необходимый объем данных по изучению стабильности для каждого вида из наиболее часто вносимых изменений, которые возможны после регистрации

ЛП. Для решения вопроса о том, в каких случаях в рамках национальной процедуры должны быть собраны дополнительные данные по стабильности фармацевтических субстанций и ЛП при внесении изменений в регистрационное досье, и в каком объеме следует представлять эти данные, в Российской Федерации необходимо создание дополнительного нормативного документа или руководства.

До 31 декабря 2025 г., пока действуют национальная фармакопея и правила национальной регистрации ЛС, согласование работы заявителей, производителей и экспертов по изучению стабильности ЛС при внесении изменений в материалы регистрационного досье вызывает затруднения, и необходимость приведения в соответствие нормативных документов, действующих на территории Российской Федерации и ЕАЭС сохраняется.

Вклад авторов. А. И. Беланова — сбор данных, анализ и интерпретация результатов работы, написание, редактирование текста; Е. Л. Ковалева — идея, планирование исследования, ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи, консультация по вопросам проведения отдельных этапов аналитических работ; Л. И. Мутькина — редактирование текста и критический пересмотр его содержания.

Authors' contributions. Alla I. Belanova—collection of data, analysis and interpretation of the study results, editing of the text; Elena L. Kovaleva—elaboration of the study idea, planning of the study, carrying responsibility for all aspects of the study, handling of issues related to the reliability of the data and integrity of all parts of the paper, providing consultation on implementation of individual analytical stages; Lidia I. Mir'kina—revision and editing of the text.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project № 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

²⁹ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. М.: Гриф и К; 2014.
Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015.
Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018.

Конфликт интересов. Е. Л. Ковалева является членом редколлегии журнала «Ведомости НЦЭСМП», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Elena L. Kovaleva is a member of the Editorial Board of "The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products", the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сакаева ИВ, Бунятян НД, Ковалева ЕЛ, Саканян ЕИ, Митькина ЛИ, Прокопов ИА и др. Основные подходы к изучению стабильности лекарственных средств: отечественный и международный опыт. *Ведомости Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(3):8–11. [Sakaeva IV, Bunyatyan ND, Kovaleva EL, Sakanyan EI, Mit'kina LI, Prokopov IA, et al. Basic approaches to drug stability studies: domestic and international experience. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(3):8–11 (In Russ.)]
2. Мешковский АП. Рекомендации Всемирной организации здравоохранения по изучению стабильности воспроизведенных фармацевтических продуктов. *Фарматека*. 1995;(6):12–15. [Meshkovsky AP. World Health Organization guidelines for studying the stability of generic pharmaceutical products. *Pharmateca = Farmateka*. 1995;(6):12–15 (In Russ.)]
3. Рудакова ИП. О рекомендациях ВОЗ по изучению стабильности воспроизведенных фармацевтических продуктов. *Фарматека*. 1996;(1):39–40. [Rudakova IP. On WHO recommendations for studying the stability of generic pharmaceutical products. *Pharmateca = Farmateka*. 1996;(1):39–40 (In Russ.)]
4. Машковский МД. Проблема стабильности и сроков годности лекарств актуальна для России. *Фарматека*. 1996;(1):38. [Mashkovsky MD. Stability and shelf life of medicines are relevant issues in Russia. *Pharmateca = Farmateka*. 1996;(1):38 (In Russ.)]
5. Мешковский АП. Нормативные проблемы установления сроков годности. *Ремедиум*. 2008;(3):36–9. [Meshkovsky AP. Regulatory issues in setting expiry dates for medicinal products. *Remedium = Remedium*. 2008;(3):36–9 (In Russ.)]
6. Мешковский АП. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных препаратов. *Фарматека*. 2000;(2):25–34. [Meshkovsky AP. Stability testing and establishing shelf lives of medicinal products. *Pharmateca = Farmateka*. 2000;(2):25–34 (In Russ.)]
7. Прокопов ИА, Ковалева ЕЛ, Митькина ЛИ, Шаназаров КС. Вопросы стабильности лекарственных средств, взаимосвязь с первичной упаковкой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014;(4):198–202. [Prokopov IA, Kovaleva EL, Mit'kina LI, Shanazarov KS. Stability issues of drugs, relationship with primary packaging. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug Development and Registration*. 2014;(4):198–202 (In Russ.)]
8. Чекрышкина ЛА, Бабинова ЕА, Слепова НВ. Изучение стабильности и установление срока годности субстанции мономекаина. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;(2-2):485. [Chekryshkina LA, Babikova EA, Slepova NV. The study of stability and establishment of shelf-life of the substance of monomekaine. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2015;(2-2):485 (In Russ.)]
9. Митькина ЛИ, Ковалева ЕЛ, Прокопов ИА. Стресс-исследования и фотостабильность как часть данных по фармацевтической разработке лекарственного средства. *Ведомости Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(2):9–12. [Mit'kina LI, Kovaleva EL, Prokopov IA. Stress studies and photostability as a part of pharmaceutical drug development data. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2015;(2):9–12 (In Russ.)]
10. Bott RF, Oliveira WP. Storage conditions for stability testing of pharmaceuticals in hot and humid regions. *Drug Dev Ind Pharm*. 2007;33(4):393–401. <https://doi.org/10.1080/03639040600975022>
11. Ермолаева ИИ, Попова ТВ, Котляр МА. Исследование стабильности лекарственных препаратов. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2020;(4):109–11. [Ermolaeva II, Popova TV, Kotlyar MA. Study of the stability of drugs. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya = Proceedings of GGTU. Medicine, Pharmacy*. 2020;(4):109–11 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Беланова Алла Ивановна. Alla I. Belanova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7593-2860>

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук. Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>

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

Статья поступила 22.09.2020

После доработки 04.02.2021

Принята к печати 20.02.2021

Article was received 22 September 2020

Revised 4 February 2021

Accepted for publication 20 February 2021

Использование биомаркеров в фармакокинетических исследованиях лекарственных препаратов природного происхождения

В. М. Косман*, Н. М. Фаустова, М. В. Карлина, В. Г. Макаров, М. Н. Макарова

Закрытое акционерное общество «Санкт-Петербургский институт фармации»,
Заводская ул., 3, к. 245, г.п. Кузьмолловский, Всеволожский р-н,
Ленинградская обл., 188663, Российская Федерация

Резюме. Лекарственные препараты природного происхождения имеют широкое применение благодаря их фармакологической активности и относительной безопасности. Химический состав таких препаратов, как правило, сложен — они могут являться гетерополимерами или смесями, содержащими пептиды, полисахариды и другие эндогенные компоненты и/или соединения, быстро метаболизируемые в живом организме. Традиционные подходы к изучению таких препаратов, основанные на хроматографических методах, зачастую оказываются неприменимы. Для изучения фармакокинетики препаратов природного происхождения возможно применение методов, основанных на оценке биологического действия и фармакодинамических свойствах таких препаратов, связанных с определением уровней биологических маркеров (биомаркеров). **Цель работы** — обобщение накопленного экспериментального опыта по применению биомаркеров для оценки фармакокинетики на примере нескольких препаратов природного происхождения. **Материалы и методы:** объектами исследования служили фукоидан, выделенный из *Fucus vesiculosus*; комплекс биологически активных веществ и гликозилированный полипептид, выделенные из гонад зеленых морских ежей *Strongylocentrotus droebachiensis*. Корреляции между концентрациями исследуемых смесей и активностью/концентрацией потенциальных биомаркеров были установлены на базе *in vitro* / *ex vivo* экспериментов. Для установления специфичности, калибровочного (линейного) диапазона отклика биомаркера, его нативного уровня были получены экспериментальные данные по его содержанию в плазме или сыворотке (*in vitro*) и цельной крови (*ex vivo*) до и после внесения добавок известных количеств исследуемых препаратов. Аналитические методики были основаны на применении хромогенного (оптического) метода определения активности анти-Ха фактора, определении активности ферментов дипептидилпептидазы IV типа и лактатдегидрогеназы кинетическим методом со спектрофотометрическим детектированием продуктов ферментативных реакций. **Результаты:** анализ результатов исследований ряда лекарственных препаратов природного происхождения (фукоидана, выделенного из *F. vesiculosus*; гликозилированного полипептида и комплекса биологически активных веществ, выделенных из внутренних органов *S. droebachiensis*) показал, что подход к изучению фармакокинетики подобных препаратов с использованием биомаркеров оправдан. Его применение позволило корректно рассчитать фармакокинетические параметры. **Выводы:** обсуждаемый подход может быть использован в различных биологических моделях и эффективен для исследования соединений, которые трудно или невозможно детектировать методами, традиционно используемыми для анализа биопроб при исследованиях фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов.

Ключевые слова: фармакокинетика; препараты природного происхождения; биологическая активность; биомаркеры; анти-Ха фактор; дипептидилпептидаза IV типа; лактатдегидрогеназа; энзиматический анализ; кинетические методы; фукоидан; *Fucus vesiculosus*; биологически активные вещества; гликозилированный полипептид; *Strongylocentrotus droebachiensis*

Для цитирования: Косман ВМ, Фаустова НМ, Карлина МВ, Макаров ВГ, Макарова МН. Использование биомаркеров в фармакокинетических исследованиях лекарственных препаратов природного происхождения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):24–35. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-24-35>

* Контактное лицо: Косман Вера Михайловна; kosman.vm@doclinika.ru

Use of Biomarkers in Pharmacokinetics Studies of Medicinal Products of Natural Origin

V. M. Kosman*, N. M. Faustova, M. V. Karlina, V. G. Makarov, M. N. Makarova

St.-Petersburg Institute of Pharmacy,
3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky urban-type settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

Abstract. Medicinal products of natural origin are widely used by virtue of their pharmacological efficacy and relative safety. Chemical composition of such medicines is usually complex, they may be represented by heteropolymers or mixtures containing peptides, polysaccharides, and other compounds which are endogenous and/or rapidly metabolised in a living organism. Conventional, chromatography-based approaches to evaluation of such medicines are often not applicable. Pharmacokinetics of medicinal products of natural origin may be studied by methods based on assessment of biological action and pharmacodynamic properties of such medicines, which involves determination of biological marker (biomarker) levels. **The aim** of the study was to summarise the accumulated experimental data on the use of biomarkers in pharmacokinetics studies as illustrated by a few medicinal products of natural origin. **Material and methods.** The authors studied fucoidan from *Fucus vesiculosus*, as well as a complex of bioactive compounds and a glycopeptide—both isolated from gonads of green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *In vitro* / *ex vivo* experiments were used to establish correlation between the concentrations of the test mixtures and the activity/concentration of potential biomarkers. Experiments showing the biomarker concentration in plasma or serum (*in vitro*) and whole blood (*ex vivo*) before and after spiking with the studied products were performed in order to assess specificity, calibration (linear) range of the biomarker response, and its native concentration. The analytical procedures were based on the chromogenic (optical) anti-factor Xa activity (AXA) assay, and determination of dipeptidyl peptidase 4 and lactate dehydrogenase activity by kinetic

analysis with spectrophotometric detection of enzymatic reaction products. **Results.** The analysis of the results of studies of a number of natural products (fucoidan from *Fucus vesiculosus*; a complex of bioactive compounds isolated from gonads of green sea urchins *S. droebachiensis*; a glycopeptide isolated from internal organs of *S. droebachiensis*) demonstrated the feasibility of using biomarkers in pharmacokinetics studies of such products. This approach allowed for accurate calculation of pharmacokinetic parameters. **Conclusion.** The discussed approach may be used for various biological models and is an effective means of studying compounds that are difficult or impossible to detect by conventional bioassays in pharmacokinetics and bioequivalence studies.

Key words: pharmacokinetics; medicinal products of natural origin; biological activity; biomarkers; anti-factor Xa; dipeptidyl peptidase 4; lactate dehydrogenase; enzymatic assay; kinetic methods; fucoidan; *Fucus vesiculosus*; biologically active compounds; glycosylated polypeptide; *Strongylocentrotus droebachiensis*

For citation: Kosman VM, Faustova NM, Karlina MV, Makarov VG, Makarova MN. Use of biomarkers in pharmacokinetics studies of medicinal products of natural origin. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):24–35. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-24-35>

*Corresponding author: Vera M. Kosman; kosmanvm@doclinika.ru

Лекарственные препараты природного (животного и растительного) происхождения, а также полученные в ходе биологического синтеза, имеют широкое медицинское применение благодаря фармакологической активности и относительной безопасности. Сложность изучения фармакокинетического профиля препаратов природного происхождения связана с тем, что они часто имеют сложный гетерогенный состав, и точно установить структуру составляющих их соединений не всегда возможно. Концентрации маркерных биологически активных соединений низки, и определение таких соединений может быть затруднительным в связи с тем, что основу такого рода препаратов составляют полисахариды, пептиды, белки и другие вещества, являющиеся эндогенными и/или быстро метаболизирующимися в живом организме. Поэтому традиционные подходы к изучению фармакокинетики, основанные на хроматографических методах (высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым, флуориметрическим, масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-УФ/ФЛ/МС), газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС) и др.), оказываются неэффективными для изучения препаратов сложного состава. Альтернативным вариантом является изучение их фармакокинетики, основанное на использовании биологических маркеров (биомаркеров), уровень содержания которых связан с биологической активностью изучаемых препаратов и их фармакодинамическими свойствами.

Подход к оценке фармакокинетики с использованием биомаркеров (в литературе используют также термины «суррогатные маркеры концентрации», «конечные точки фармакокинетики») описан в ряде нормативных документов¹ и монографий (например, [1]). Такой подход наиболее разработан в отношении

низкомолекулярных гепаринов. В документе² в главе 15.6 «Доклинические и клинические исследования биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов на основе гепаринов низкой молекулярной массы» указано: «Гетерогенность низкомолекулярных гепаринов не позволяет проведение обычного исследования фармакокинетических свойств. Поэтому оценка всасывания и элиминации низкомолекулярных гепаринов проводится при изучении фармакодинамических свойств по показателям (включая анти-Ха и анти-Па), которые могут быть использованы в качестве суррогатных маркеров концентрации препарата». Согласно руководству Европейского агентства по лекарственным средствам³ (European Medicines Agency, EMA), оценку фармакокинетики, биоэквивалентности препаратов низкомолекулярных гепаринов следует проводить по их анти-Ха, анти-Па активностям и концентрации ингибитора пути тканевого фактора (TFPI). Этот подход активно использован в ряде работ, посвященных изучению фармакокинетики и/или биоэквивалентности гепаринсодержащих препаратов (на основе эноксапарина, далтепарина и др.) [2–7].

Логическим продолжением использования такого подхода явилось применение биомаркеров для оценки фармакокинетики ряда препаратов природного происхождения, основанное на корреляции между концентрацией исследуемых препаратов и активностью/концентрацией потенциальных биомаркеров [8–11]. В опубликованных недавно работах по изучению фармакокинетики фукоидана, являющегося гетерогенным полисахаридом, экстрагированным из природного сырья, расчет концентрации фукоидана в биопробах выполнен на основании корреляции концентрации фукоидана в биоматериале и противосвертывающей активности, определенной по активности анти-Ха

¹ Guidance for industry. Exposure-response relationships — study design, data analysis, and regulatory. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). 2003.

Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low-molecular-weight-heparins. EMEA/CHMP/BMWP/118264/2007 Rev. 1. 2017.

Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. 2016.

² Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. 2016.

³ Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low-molecular-weight-heparins. EMEA/CHMP/BMWP/118264/2007 Rev. 1. 2017.

фактора [8, 9]. Фармакокинетика экстракта гонад морских ежей (*Strongylocentrotus droebachiensis*) после однократного перорального введения кроликам охарактеризована методом, основанным на выявленной авторами корреляции концентрации препарата и изменения активности фермента дипептидилпептидазы IV типа (ДПП-4, DPP-4) [10]. Еще одним подобным примером применения биомаркеров может служить оценка фармакокинетики гликозилированного полипептида (ГПП), выделенного из внутренних органов морских ежей *S. droebachiensis*, — расчет концентрации препарата в биопробах выполнен на основании корреляции концентрации препарата и изменения активности фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [11].

Цель работы — обобщение накопленного экспериментального опыта по применению биомаркеров для оценки фармакокинетики на примере нескольких лекарственных препаратов природного происхождения для дальнейшего расширения применения подобного подхода для изучения фармакокинетики препаратов сложного гетерогенного или неустоенного состава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований являлись фукоидан, полученный из слоевищ фукуса пузырчатого *Fucus vesiculosus* по оригинальной технологии [12], и готовые лекарственные формы (фармацевтические композиции) на его основе для перорального [13] и наружного [9] применения; экстракт гонад морских ежей (*S. droebachiensis*), полученный по запатентованной технологии [14]; спрей для интраназального применения, содержащий ГПП, выделенный из внутренних органов *S. droebachiensis* [11, 15].

Количественное содержание фукоидана в биопробах определяли с помощью хромогенного (оптического) метода определения анти-Ха активности, основанного на способности комплекса антитромбина III нейтрализовать активированный фактор Ха, с помощью наборов реагентов «Реахромепагин» (НПО «Ренам») [8].

Активность фермента ДПП-4 в биопробах определяли с помощью хромогенного субстрата глицил-L-пролин-п-нитроанилида и спектрофотометрического детектирования продукта реакции (п-нитроанилина) при длине волны 405 нм⁴ [16]. Подробное описание процедуры определения приведено в работе [10].

Количественное содержание ГПП определяли по изменению уровня активности фермента ЛДГ

в крови. Измерения проводили на биохимическом автоматическом анализаторе RandomAccess A-25 (BioSystem S.A.) с использованием набора реагентов для определения концентрации (активности) ЛДГ (Biosystems).

Экспериментальные исследования *in vivo* проводили согласно нормативным документам, регулирующим проведение доклинических исследований с использованием лабораторных животных (Правила лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33044-2014); Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, и др.). Проведение исследований было одобрено на заседаниях биоэтической комиссии (заключения № 8.12/16, 9.12/16, 1.17/17, 1.73/17 и 1.26/18).

Валидация биоаналитических методик выполнена согласно рекомендациям⁵.

Параметры фармакокинетики рассчитывали внемоделным методом статистических моментов [17, 18] с использованием приложения PKSolver для Microsoft Office Excel; при статистической обработке результатов рассчитывали средние арифметические значения ($\bar{X}$), соответствующие им стандартные отклонения (SD), стандартные ошибки среднего значения (Sx). Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании данных литературы и результатов собственных исследований для изучения фармакокинетики препаратов природного происхождения *in vivo* мы предлагаем использовать корреляцию между биологическим действием препарата и его концентрацией в плазме крови (или ином биоматериале) животных. Для реализации такого подхода важно выбрать специфический маркер (биохимический параметр, активность фермента и т.п.), связанный с механизмом действия изучаемого препарата и коррелирующий с его концентрацией в биоматериале. Аналитические методики в этом случае могут быть основаны на применении методов иммуноферментного анализа (ИФА), ферментативных, биологических методов и др. Необходимыми этапами изучения фармакокинетики с использованием биомаркеров являются *in vitro* / *ex vivo* эксперименты, а также пилотный эксперимент (*in vivo*) с использованием лабораторных животных в качестве биологической модели. Эксперименты с плазмой или сывороткой

⁴ Dipeptidyl peptidase IV. Enzymatic assay. <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/cell-signaling-enzymes/dipeptidyl-peptidase-iv.html>

⁵ ICH, Q2A, Harmonized tripartite guideline, text on validation of analytical procedures, IFPMA. Geneva; 1994.

ICH, Q2B, Harmonized tripartite guideline, validation of analytical procedure: methodology, IFPMA. In: Proceedings of the International Conference on Harmonization. Geneva; 1996. P. 1–8.

Guidance for industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S.; 2018.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London; 2011.

(*in vitro*) и цельной кровью (*ex vivo*) до и после внесения добавок известных количеств исследуемых препаратов необходимы для установления специфичности, линейного диапазона отклика биомаркера, его нативного уровня. Пилотный эксперимент *in vivo* необходим для оценки интенсивности изменения концентрации (отклика) выбранного биомаркера на введение исследуемого препарата, а также согласованности времени проявления отклика и выбранного пути введения. На данных этапах возможно рассмотрение нескольких аналитических подходов к оценке фармакокинетики (в том числе нескольких биомаркеров) для выбора оптимального.

При реализации обсуждаемых подходов важно учесть базовый или нативный уровень измеряемых показателей в биоматериале, не связанный с введением исследуемого препарата⁶. На этапе экспериментов *in vitro* для этого использовали отклик, регистрируемый при анализе интактного биоматериала (как полученного от индивидуальных животных, так и пулированного), а на стадии экспериментов *in vivo* — от животных, которым не вводили исследуемый препарат («нулевая» точка или пробы, отобранные до введения исследуемого препарата). Значения базового (нативного) уровня определяемого параметра, выбранного в качестве биомаркера, вычитали из значений, получаемых для модельных смесей и экспериментальных проб, или находили значение изменения активности фермента по отношению к базовому уровню (в процентах или долях).

Для выбора математической модели обработки данных, необходимой для линеаризации полученных калибровочных зависимостей, использовали общие принципы и рекомендации, аналогичные моделям, применяемым для обработки данных ИФА [19].

Фукоидан из фукуса пузырчатого и оценка его содержания по анти-Ха активности

Фукоиданы — сложные разветвленные гетерополисахариды, присутствующие в составе бурых водорослей и некоторых иглокожих, основным моносахаридом которых является L-фукопираноза [20, 21]. Для определения количества фукоидана в растворах и биологических жидкостях могут быть применены физико-химический метод, основанный на способности сульфатированного полисахарида фукоидана образовывать окрашенное соединение с метиленовым голубым [22], и ИФА-метод, основанный на способности фукоидана взаимодействовать со специально полученными антителами [19, 21]. Физико-химический метод

(спектрофотометрический) не подходит для анализа биоматериала из-за недостаточной селективности используемой цветной реакции и маскирующего влияния на ход реакции других компонентов плазмы крови. Метод ИФА имеет определенные преимущества вследствие высокой чувствительности и использования специфических антител к данному полисахариду, однако готовые наборы или коммерчески доступные антитела к фукоидану отсутствуют.

Наиболее доступными и специфичными методами определения в биоматериале концентрации антикоагулянтов (гепарина и других соединений, обладающих противосвертывающей активностью, к которым относится фукоидан) являются коагулологические методы (основаны на способности антикоагулянта удлинять время свертывания плазмы крови, в частности активированного частичного тромбопластинового времени) и хромогенный метод (основан на измерении остаточной амидолитической активности фактора Ха после катализируемой антикоагулянтом инактивации их антитромбином III, АТ III)⁷ [23]. Хромогенный метод точнее и значительно чувствительнее по сравнению с коагулологическим тестированием. Именно такой аналитический подход применен при изучении фармакокинетики и/или биоэквивалентности гепаринсодержащих препаратов [2–7] согласно рекомендациям⁸ [1].

Хромогенный метод основан на способности комплекса АТ III—антикоагулянт нейтрализовать активированный фактор Ха. Фукоидан, как и гепарин, обладает ингибирующим действием на фактор свертывания Ха, поэтому активность фукоидана в плазме можно определить, добавляя к ней избыток АТ III и фактора Ха. При этом происходит ингибирование фактора Ха комплексом АТ III—фукоидан пропорционально его количеству в плазме. Оставшееся количество фактора Ха катализирует отщепление п-нитроанилина от синтетического хромогенного субстрата. Абсорбция свободного п-нитроанилина, определяемая спектрофотометрическим методом при длине волны 405 нм, обратно пропорциональна анти-Ха активности (и соответственно количеству) фукоидана в испытуемой пробе.

В ходе *in vitro* экспериментов с раствором субстанции фукоидана и модельными смесями интактного биоматериала (плазмы крови крыс) с добавками аналита получены убывающие линейные зависимости оптической плотности растворов от концентрации фукоидана, соответствующие

⁶ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. М.: Гриф и К; 2013.

⁷ Берковский АЛ, Сергеева ЕВ, Суворов АВ, Мелкумян АЛ, Козлов АА, Нешкова ЕА, Яровая ГА. Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие. М.: РМАПО; 2015.

⁸ Guidance for industry. Exposure-response relationships — study design, data analysis, and regulatory. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). 2003.

Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low-molecular-weight-heparins. EMEA/CHMP/BMWP/118264/2007 Rev. 1. 2017.

Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. 2016.

данным литературы [21], и подобные зависимости, получаемой при анализе плазм-калибраторов с известным содержанием (активностью) гепарина (рис. 1).

Следует отметить, что область линейности зависимости аналитического сигнала от концентрации для фукоидана, как и для гепарина, отличается достаточно узким интервалом, выход за пределы линейности приводит к существенным ошибкам определения количества фукоидана. Таким образом, для каждого анализируемого образца необходимо подбирать разбавление таким образом, чтобы концентрация аналита находилась в пределах линейного диапазона методики, что повышает трудоемкость аналитического этапа анализа биопроб. Отметим также, что согласно инструкции к набору реагентов⁹ рекомендовано использовать один уровень разбавления проб (в 5 раз) при анализе образцов плазмы крови человека, оптимизированный согласно средним определяемым значениям (0,1–0,3 анти-Ха ед./мл при введении гепарина в профилактических целях; 0,3–0,7 анти-Ха ед./мл при введении гепарина в терапевтических целях), который не учитывают при построении калибровочной зависимости. При работе с образцами, полученными от лабораторных животных, потребовались иные уровни разбавления проб (в 2–4 раза), что повлекло необходимость изменения алгоритма построения калибровочных зависимостей. Для исключения применения дробных коэффициентов при построении зависимостей использовали активности/концентрации в реакционных смесях с учетом

разбавления проб. Такого рода экспериментальные особенности необходимо принимать во внимание при применении обсуждаемых подходов.

Важным, с нашей точки зрения, является переход от выражения активности/концентрации препарата в единицах активности (анти-Ха ед./мл, МЕ/мл и т.п.) к массовым концентрациям (мкг/мл и т.п.). Первый вариант (выражение в единицах активности) традиционно применяют при использовании ферментативных реакций в целом и в работах по фармакокинетике гепаринсодержащих препаратов в частности (например, [2–7]). Второй подход (выражение в массовых концентрациях) более привычен для классических работ и руководств по оценке фармакокинетики различных лекарственных препаратов (например,¹⁰). Результаты по оценке активности экспериментальных проб могут быть выражены в массовых концентрациях анализируемого препарата на основании пересчета с использованием соответствующих зависимостей. Для расчетов концентрации фукоидана в анализируемых пробах различного биоматериала была построена зависимость концентрации фукоидана от анти-Ха активности калибровочных растворов (модельных смесей) с плазмой крови и получено соответствующее линейное уравнение (рис. 2). С нашей точки зрения, такой подход более корректен для сложных по составу объектов природного происхождения.

Методики оценки фукоидана в различных видах биоматериала лабораторных животных (крыс) по корреляции концентрации фукоидана в биоматериале и анти-Ха активности были валидированы согласно общепринятым рекомендациям¹¹

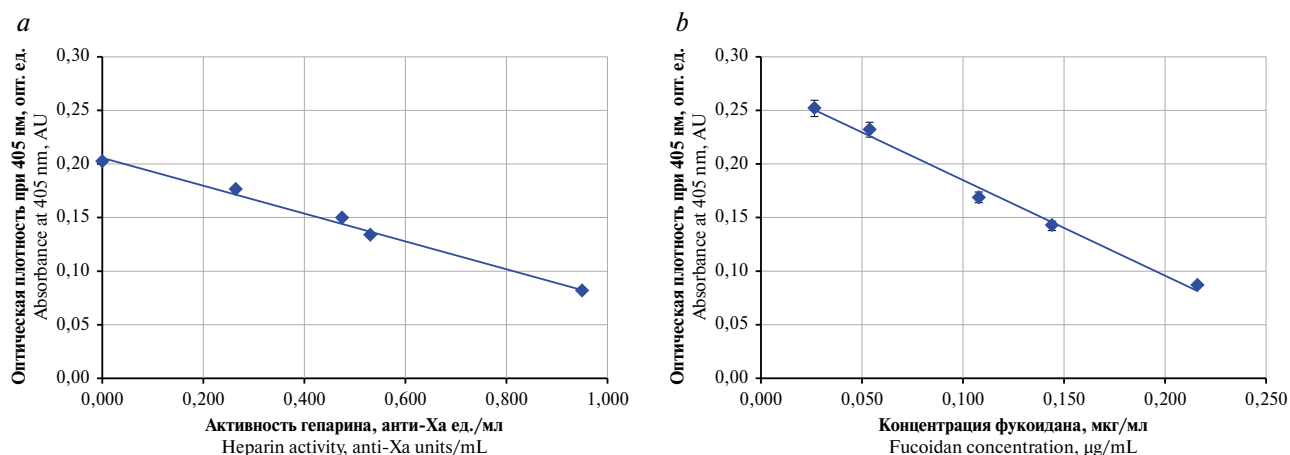


Рис. 1. Примеры зависимости оптической плотности реакционной смеси от: (а) концентрации гепарина в плазмах-калибраторах ($y = -0,1282x + 0,2057$, коэффициент корреляции $r = 0,9957$), (б) концентрации фукоидана в плазме ($y = -0,8932x + 0,2754$, коэффициент корреляции $r = 0,9956$)

Fig. 1. Examples of correlation between absorbance of the reaction mixture and (a) heparin concentration in the plasma control samples ($y = -0,1282x + 0,2057$, correlation coefficient $r = 0,9957$), (b) fucoidan concentration ($y = -0,8932x + 0,2754$, correlation coefficient $r = 0,9956$)

⁹ Инструкция к набору реагентов для определения анти-Ха активности гепарина оптическим методом (Реахром-гепарин) по ТУ 9398-032-05595541-2011. <http://genam.ru/reahrom-geparin>

¹⁰ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012.

и применены для оценки результатов фармакокинетического эксперимента [8, 9].

Предложенный аналитический подход позволил изучить параметры фармакокинетики фукоидана у крыс при однократном пероральном введении в дозе 100 мг/кг и однократном и многократном нанесении в дозах 50, 100 и 150 мг/кг [8, 9]. Полученные результаты позволили подтвердить системную доступность препарата, определить абсолютную биодоступность (по сравнению с результатами, полученными при внутривенном введении субстанции) и оценить его распределение в органах и тканях [8, 9].

Экстракт гонад морских ежей и оценка его содержания по ингибированию активности специфического фермента

На примере анализа экстракта гонад морских ежей [10] были протестированы несколько аналитических подходов к оценке фармакокинетики: оценка содержания токоферолов и каротиноидов (методом ВЭЖХ-УФ); оценка содержания суммы жирных кислот (методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с денситометрическим детектированием); оценка уровней содержания триглицеридов и холестерина (с использованием автоматического биохимического анализатора), а также определение концентрации экстракта по активности фермента ДПП-4 (методом ИФА).

Выбор фермента ДПП-4 в качестве маркера для оценки фармакокинетики экстракта гонад морских ежей основан на данных о его фармакологическом действии и ингибирующей активности в отношении данного фермента [24, 25]. В ходе экспериментов *in vitro* (с модельными пробами плазмы крови с добавками экстракта гонад морских ежей) выявлена способность экстракта гонад морских ежей ингибировать активность фермента ДПП-4, коррелирующая с его концентрацией в образцах, что позволяет рассчитать содержание экстракта в пробах плазмы крови на основании изменения активности фермента ДПП-4. Дозозависимое изменение активности ДПП-4 в плазме крови наблюдали в широком диапазоне концентраций (1,9–2200 мкг/мл); для линеаризации полученной зависимости использовали логарифмическое преобразование logit-log. Этот вид преобразований позволил линеаризовать зависимость для максимально широкого диапазона концентраций (1,9–710 мкг/мл) [10]; при применении других математических моделей верхний предел количественного определения, входящий в область линейности, оказывался ниже.

Полученные результаты позволили перейти к валидации методики, выполненной согласно

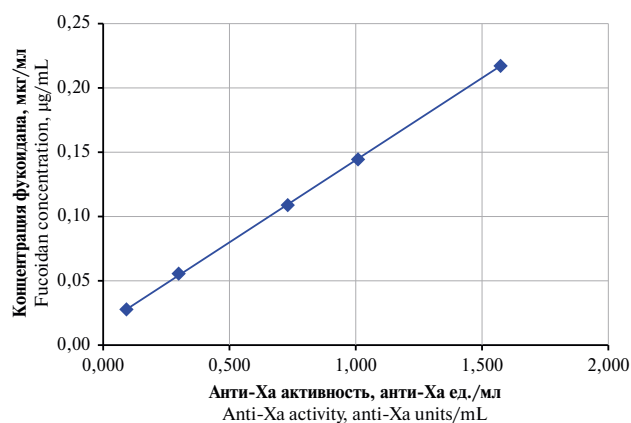


Рис. 2. Зависимость концентрации фукоидана (мкг/мл) от анти-Ха активности калибровочных растворов (модельных смесей) с плазмой крови ($y = 0,1278x + 0,015$, коэффициент корреляции $r = 1$)

Fig. 2. Correlation between fucoidan concentration (µg/mL) and anti-Xa activity of calibration solutions (model mixtures) with blood plasma ($y = 0.1278x + 0.015$, correlation coefficient $r = 1$)

общепринятым рекомендациям¹², и применить ее для оценки результатов фармакокинетического эксперимента [10].

По результатам предварительного эксперимента на кроликах традиционные подходы, основанные на оценке содержания действующих веществ (каротиноидов, токоферолов, жирных кислот, триглицеридов, холестерина), оказались неэффективными. Поскольку в экстракте не выявлено вещество (или группа веществ), преобладающее количественно, вклад каждой группы веществ в биологическую активность экстракта не установлен, а ингибирующее действие в отношении фермента ДПП-4 может быть обусловлено несколькими группами действующих веществ, входящих в состав экстракта, оптимальным для оценки фармакокинетики оказался подход с использованием биомаркера [10].

Гликозилированный полипептид и оценка его содержания по биохимическому параметру

ГПП, выделенный из внутренних органов морских ежей, был охарактеризован методами вертикального гель-электрофореза в полиакриламидном геле, высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-, МС- и рефрактометрическим детекторами, рядом интегральных параметров (содержание белков, пептидов) и др. Поскольку точная структура соединения не установлена, применение хроматографических методов для определения концентрации этого аналита в биоматериале затруднительно.

¹¹ PICN, Q2A, Harmonized tripartite guideline, text on validation of analytical procedures, IFPMA. Geneva; 1994.

ICH, Q2B, Harmonized tripartite guideline, validation of analytical procedure: methodology, IFPMA. In: Proceedings of the International Conference on Harmonization. Geneva; 1996.

Guidance for industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S.; 2018.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London; 2011.

¹² Там же.

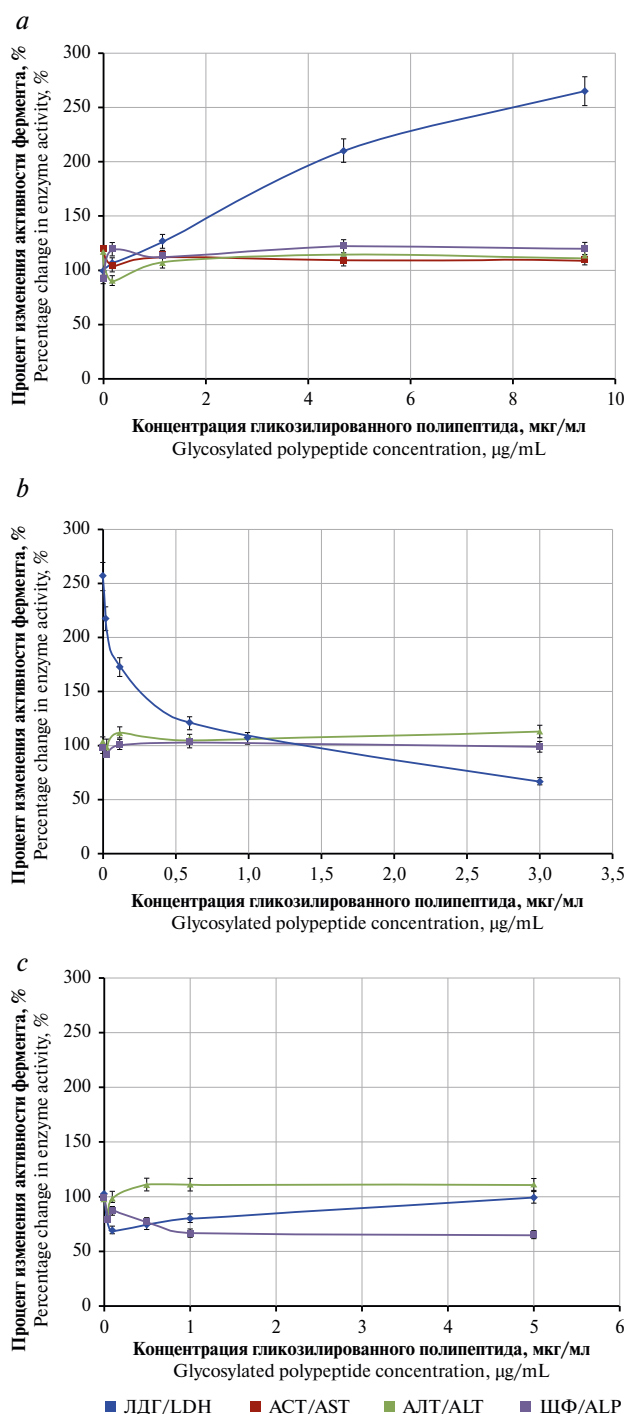


Рис. 3. Корреляция между изменением активности ферментов и концентрацией гликозилированного полипептида в модельных пробах плазмы крови (а), гомогенатов печени (б) и гомогенатов почек (в) (ЛДГ — лактатдегидрогеназа, АСТ — аспаратаминотрансфераза, АЛТ — аланинаминотрансфераза, ЩФ — щелочная фосфатаза)

Fig. 3. Correlation between changes in enzyme activities and glycosylated polypeptide concentrations in (a) model samples of blood plasma, (b) liver homogenates, and (c) kidney homogenates (LDH—lactate dehydrogenase, AST—aspartate aminotransferase, ALT—alanine aminotransferase, ALP—alkaline phosphatase)

Отсутствие готовых наборов или коммерчески доступных антител к выделенному полипептиду делало невозможным применение метода ИФА для целей исследования.

ГПП в экспериментах *in vitro* обладает выраженной антирадикальной активностью в отношении DPPH-радикала, вызывает снижение фосфорилирования митогенактивированной протинкиназы (МАРК) р38 и дозозависимое увеличение фосфорилирования JNK2 концевой киназы, обладает ингибирующей активностью в отношении фермента циклооксигеназы-2, а также противовоспалительным действием, установленным на моделях острого вирусного синусита и экспериментального подострого бронхита [26–29]. Однако такие маркеры невозможно использовать для оценки фармакокинетики ГПП на здоровых животных, так как их активность или концентрация изменяется только при развитии (моделировании) воспаления в организме.

Для определения ГПП в биоматериале апробирован специфический подход, основанный на выявленной корреляции концентрации гликозилированного полипептида с одним из биохимических показателей крови. В ходе экспериментальных исследований *in vitro* с использованием цельной крови и гомогенатов органов (печени, почек и слизистой оболочки носа) были определены с помощью биохимических анализаторов активности ряда ферментов: щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), g-глутаматтрансферазы (ГГТ). Дозозависимое изменение активности было достаточно широко диапазоне концентраций было получено только для фермента ЛДГ. Изменения активности других ферментов были незначительны (около 20%) и не имели дозозависимости (рис. 3), поэтому был сделан вывод о специфическом воздействии ГПП на активность ЛДГ.

ЛДГ — внутриклеточный гликолитический фермент, который участвует в обратимом превращении лактата в пируват и содержится в большинстве тканей организма. Многие анестетики, нестероидные противовоспалительные средства, рентгеноконтрастные соединения, антибактериальные и противогрибковые препараты вызывают повышение активности ЛДГ, а такие вещества, как амикацин, аскорбиновая кислота, гидроксимочевина, эналаприл, метронидазол, противосудорожные препараты, снижают активность данного фермента¹³.

Молекула ЛДГ представляет собой тетрамер, состоящий из одного или двух типов субъединиц, обозначаемых как М (muscle) и Н (heart). Активный центр содержит несколько аминокислотных остатков, наиболее значимые аргинин-171, аргинин-109 и гистидин-195, а также специальную подвижную петлю 98-111; аргининовые фрагменты протонированы

¹³ Fischbach FT, Dunning MB. A manual of laboratory and diagnostic tests. 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2008.

(H⁺) и могут взаимодействовать с COO⁻-группами субстратов [30]. Различия между активными центрами двух субъединиц заключаются в замене аланина (в М-цепи) глутамином (в Н-цепи) [31]. Существует 5 изоформ ЛДГ¹⁴; общая каталитическая активность фермента убывает в ряду: почки, сердце, скелетные мышцы, поджелудочная железа, селезенка, печень, легкие, сыворотка крови. Изоформы ЛДГ-4 и ЛДГ-5 (М-типы ЛДГ) работают эффективно в анаэробных условиях, ЛДГ-1 и ЛДГ-2 (Н-типы) — в аэробных, когда пируват быстро окисляется до CO₂ и H₂O, а не восстанавливается до молочной кислоты [31].

В клинической практике уровень ЛДГ может являться важным и специфическим маркером тканевой деструкции. При заболеваниях, сопровождающихся повреждением тканей и разрушением клеток, активность ЛДГ в крови повышается¹⁵. Однако умеренное увеличение уровня ЛДГ в крови (в 2–2,5 раза) может происходить при увеличении проницаемости клеточных мембран без их разрушения. В модельных пробах крови и гомогенатов печени и почек мы не наблюдали гемолиза и повышения активности ферментов АСТ и АЛТ (т.е. не происходило деструкции тканей).

ЛДГ может регулироваться аллостерически. Этот тип регуляции является одним из основных для ферментов, имеющих доменную структуру; изменение конформации может являться обратимой; в некоторых бактериях (*E. coli*, *Bifidobacterium longum* и др.) данный тип регуляции фермента может быть активирован фруктозо-1,6-дифосфатом [32, 33]. Изоформа ЛДГ-5, выделенная из мышц кролика, является аллостерическим ферментом, в то время как ЛДГ-1 из того же источника — нет [34].

ГПП может быть положительным аллостерическим активатором ЛДГ и может активировать изменение конформаций различных субъединиц и/или изоформ фермента. Преобладание тех или иных изоформ в разных органах и тканях определило разнонаправленность изменений активности ЛДГ под влиянием ГПП (рис. 3) и необходимость выполнения экспериментов *in vitro* с модельными пробами с добавками ГПП с различными видами биоматериала, отбор и анализ которых планировался при изучении фармакокинетики ГПП.

На основании данных, полученных в экспериментах с модельными пробами плазмы крови с добавками ГПП в широком диапазоне концентраций, выявлена линейность зависимости аналитического сигнала от концентрации ГПП в более узком диапазоне концентраций 0,01–7,05 мкг/мл (рис. 4).

Полученные результаты позволили валидировать методику анализа ГПП в плазме лабораторных животных согласно рекомендациям¹⁶, адаптировать и ревалидировать ее для анализа органов и тканей и применить для определения концентрации целевого аналита в биопробах, полученных при выполнении фармакокинетического эксперимента [11].

Отметим, что при планировании и выполнении экспериментальной работы (*in vivo*) в эксперимент сначала были включены две группы животных (одна группа крыс и одна группа кроликов), которым препарат был введен в максимальной из планируемых к изучению доз (200 мкг/кг). По результатам этой работы была установлена системная доступность препарата, далее в эксперимент были включены остальные группы животных. Такая последовательность позволила минимизировать количество задействованных в эксперименте животных, соблюсти принципы гуманности и биоэтики — принцип «трех R». Предложенный аналитический подход позволил выполнить весь объем исследований, необходимый для оригинального препарата¹⁷ [35]: определить параметры фармакокинетики ГПП при однократном интраназальном введении крысам в трех дозах, установить линейность фармакокинетики в исследованном диапазоне доз, оценить абсолютную биодоступность (на основании сопоставления данных с результатами после внутривенного введения), распределение по органам и тканям, наличие некоторой кумуляции при многократном

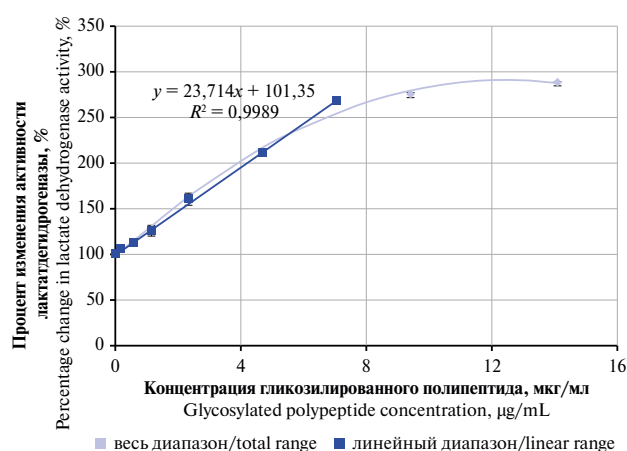


Рис. 4. Зависимость изменения активности лактатдегидрогеназы от концентрации гликозилированного полипептида в плазме крови крыс

Fig. 4. Correlation between changes in lactate dehydrogenase activity and glycosylated polypeptide concentration in rat plasma

¹⁴ Северин ЕС, ред. Биохимия: Учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медицина; 2003.

¹⁵ Fischbach FT, Dunning MB. A manual of laboratory and diagnostic tests. 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2008.

¹⁶ ICH, Q2A, Harmonized tripartite guideline, text on validation of analytical procedures, IFPMA. Geneva; 1994.

ICH, Q2B, Harmonized tripartite guideline, validation of analytical procedure: methodology, IFPMA. In: Proceedings of the International Conference on Harmonization. Geneva; 1996.

Guidance for industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S.; 2018.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London; 2011.

¹⁷ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012.

введении, а также выведение с двумя видами экскретов, линейность и абсолютную биодоступность при введении кроликам (рис. 5, табл. 1).

Фармакокинетические кривые и значения фармакокинетических параметров, полученные на основании подхода с применением биомаркера, вполне соответствовали общим закономерностям, характерным для выбранных путей введения. Так, при внутривенном введении максимальную концентрацию действующего вещества наблюдали на первой временной точке, далее фиксировали достаточно интенсивное снижение плазменной концентрации анализатора [11]. При интраназальном

введении и крысам, и кроликам наблюдали дозозависимый подъем фармакокинетической кривой, отражающий всасывание и поступление препарата в кровь, максимум (около 0,7–1 ч) и постепенное снижение концентрации в плазме крови, отражающее выведение действующего вещества из системного кровотока (рис. 5). В то же время в органы и ткани препарат поступал не одновременно, а по мере распределения по организму — наименьшее время достижения максимальной концентрации (около 0,9 ч) получено для слизистой носа, являющейся в данном случае местом введения, а наибольшее (около 3,6 ч) — для печени,

Таблица 1. Фармакокинетические параметры гликозилированного полипептида после введения крысам (по данным [11]) и кроликам

Table 1. Pharmacokinetic parameters of glycosylated polypeptide after administration to rats (according to [11]) and rabbits

Биоматериал Biosample	Путь введения Route of administration	Доза, мкг/кг Dose, µg/kg	Параметр (среднее ± стандартная ошибка, число животных $n = 5$ для крыс (на временную точку), $n = 6$ для кроликов) Parameter (mean ± standard error, number of animals: $n = 5$ for rats (per time point), $n = 6$ for rabbits)				
			C_{max} , мкг/мл (µg/mL)	T_{max} , ч (h)	AUC_{0-24} , ч×мкг/мл (h × µg/mL)	MRT, ч (h)	$T_{1/2}$, ч (h)
Крысы (Rats)							
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	50	2,90 ± 0,35	0,67 ± 0,08	3,93 ± 0,73	1,54 ± 0,14	0,77 ± 0,14
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	100	4,15 ± 0,66	0,75 ± 0,00	7,14 ± 2,25	5,58 ± 2,04	3,53 ± 1,34
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	200	6,22 ± 0,62	0,70 ± 0,04	12,64 ± 2,44	4,62 ± 1,88	4,03 ± 1,59
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	100*	6,99 ± 1,32	1,00 ± 0,50	22,98 ± 12,68	60,04 ± 21,9	3,70 ± 1,63
Плазма крови Blood plasma	в/в (IV)	100	—	—	8,87 ± 1,59	1,11 ± 0,26	0,80 ± 0,17
Слизистая носа Nasal mucosa	и/н (IN)	100	53,66 ± 8,01	0,85 ± 0,14	248,75 ± 24,45	8,00 ± 4,53	4,46 ± 3,03
Печень Liver			0,73 ± 0,20	1,60 ± 0,55	2,40 ± 0,71	7,40 ± 7,46	4,48 ± 5,26
Почки Kidney			0,98 ± 0,37	3,60 ± 0,89	3,50 ± 1,85	8,07 ± 3,36	6,42 ± 2,91
Селезенка Spleen			2,53 ± 0,70	2,40 ± 0,89	28,90 ± 7,24	10,20 ± 2,28	6,48 ± 2,09
Мышцы Muscle			1,74 ± 1,28	1,85 ± 2,33	12,98 ± 9,05	8,18 ± 5,42	4,98 ± 3,38
Надпочечники Adrenal glands			2,67 ± 1,17	2,40 ± 0,89	27,06 ± 6,73	21,42 ± 8,30	14,69 ± 5,89
Кролики (Rabbits)							
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	50	3,44 ± 0,57	1,00 ± 0,00	7,65 ± 0,48	4,63 ± 1,39	4,63 ± 1,39
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	100	3,89 ± 0,44	1,04 ± 0,20	14,89 ± 1,60	7,04 ± 1,35	7,04 ± 1,35
Плазма крови Blood plasma	и/н (IN)	200	4,31 ± 0,44	1,13 ± 0,18	19,70 ± 2,37	9,53 ± 1,26	4,63 ± 1,39
Плазма крови Blood plasma	в/в (IV)	100	—	—	16,42 ± 1,83	2,92 ± 0,23	2,17 ± 0,23

Примечание. $C_{\max}$ — максимальная концентрация, для органов, — мг/г; $T_{\max}$ — время достижения максимальной концентрации, AUC_{0-24} — площадь под кривой «концентрация—время», для органов — ч×мкг/г; MRT — среднее время удержания, $T_{1/2}$ — период полувыведения, и/н — интраназально, в/в — внутривенно; «—» — не определяют для внутривенного введения.

Note. $C_{\max}$ — maximum concentration (in mg/g for organs), $T_{\max}$ — time to maximum concentration, AUC_{0-24} — area under the concentration-time curve (h×µg/g for organs), MRT — mean residence time, $T_{1/2}$ — half-life, IN — intranasal administration, IV — intravenous administration; — not determined for intravenous administration.

* Многократное введение 3 раза в день в дозе 100 мкг/кг в течение 7 дней.

* Repeated administration 3 times a day at a dose of 100 µg/kg for 7 days.

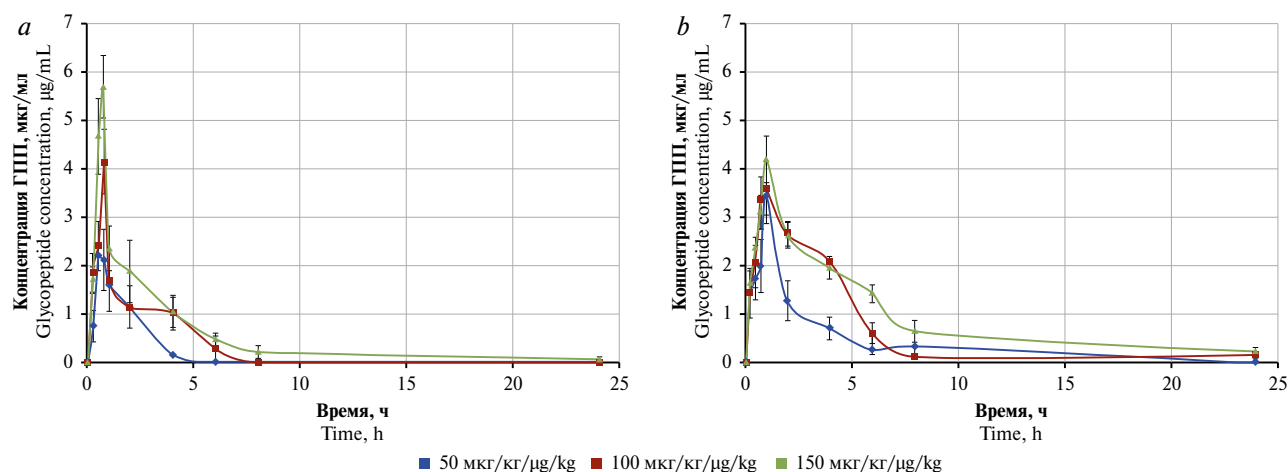


Рис. 5. Кривая «концентрация—время» гликозилированного полипептида после однократного интраназального введения в трех различных дозах крысам (а) (число животных на временную точку $n = 5$) и кроликам (б) (число животных $n = 6$), среднее $\pm$ стандартная ошибка

Fig. 5. Concentration-time curve of glycosylated polypeptide following single intranasal administration in three different doses to (a) rats (number of animals per time point, $n = 5$), and (b) rabbits (number of animals, $n = 6$), mean $\pm$ standard error

отвечающей за метаболизм лекарственных веществ (табл. 1). Такого рода закономерности подтверждали корректность выбора биомаркера для оценки фармакокинетики ГПП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение биомаркеров и расчет концентраций препарата на основании соответствующих корреляций целесообразны для изучения фармакокинетики лекарственных препаратов природного происхождения сложного гетерогенного или неуставленного состава, в том числе кинетики их всасывания, распределения и элиминации.

Предложенный подход (применение биомаркеров для оценки фармакокинетических параметров) является одним из способов решения проблемы оценки фармакокинетики уже зарегистрированных и успешно применяемых препаратов сложного гетерогенного или неуставленного состава. Применение данного подхода позволяет оценить все основные фармакокинетические параметры — максимальную концентрацию (C_{max}), площадь под фармакокинетической кривой (AUC), время достижения максимальной концентрации (T_{max}), период полувыведения ($T_{1/2}$), среднее время удержания (MRT); охарактеризовать фармакокинетику препарата; показать ее линейность в изученном диапазоне доз; оценить распределение в ткани и органы, и др. Таким образом, с помощью обсуждаемого

подхода возможно решить основные задачи фармакокинетических исследований.

Вклад авторов. В. М. Косман — идея исследования, обработка и систематизация экспериментальных данных, подготовка и доработка рукописи; Н. М. Фаустова — экспериментальная аналитическая работа по выбору биомаркеров, разработке и валидации методик и анализу биопроб; М. В. Карлина — обсуждение и интерпретация результатов, доработка текста; В. Г. Макаров — концепция исследования; М. Н. Макарова — критический пересмотр текста публикации и иллюстративного материала.

Authors' contributions. Vera M. Kosman—elaboration of the study idea, processing and systematisation of experimental data, drafting and editing of the paper; Natalia M. Faustova—experimental analytical selection of biomarkers, development and validation of test procedures, analysis of biosamples; Marina V. Karlina—discussion and interpretation of the results, revision of the paper; Valery G. Makarov—elaboration of the study concept; Marina N. Makarova—revision of the text and illustrative material.

Благодарности. Работа выполнена как инициативное исследование без финансовой поддержки.

Acknowledgements. The study was performed as unsolicited independent research without financial support.

Конфликт интересов. М. Н. Макарова является членом редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Marina N. Makarova is a member of the Editorial Board of “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Evens R., ed. *Drug and biological development: From molecule to product and beyond*. New York: Springer; 2007.
2. Hoffmann U, Harenberg J, Bauer K, Huhle G, Tolle AR, Feuring M, Christ M. Bioequivalence of subcutaneous and intravenous body-weight-independent high-dose low-molecular-weight heparin Certoparin on anti-Xa, Heptest, and tissue factor pathway inhibitor activity in volunteer. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2002;13(4):289–96. <https://doi.org/10.1097/00001721-200206000-00003>
3. Feng L, Shen-Tu J, Liu J, Chen J, Wu L, Huang M. Bioequivalence of generic and branded subcutaneous enoxaparin: A single-dose, randomized-sequence, open-label, two-period crossover study in healthy Chinese male subjects. *Clin Ther*. 2009;31(7):1559–67. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2009.07.017>

4. Gadiko C, Thota S, Tippabotla SK. Pharmacokinetic parameters to be evaluated for selected low molecular weight heparins in bioequivalence studies. *Int J Pharm Sci Res.* 2012;3(11):4065–72. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3\(11\).4065-72](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(11).4065-72)
5. Gadiko C, Tippabotla SK, Thota S, Cheerla R, Betha MR, Vobalaboina V. Bioequivalence study of two subcutaneous formulations of dalteparin: randomized, single-dose, two-sequence, two-period, cross-over study in healthy volunteers. *J Drug Assess.* 2013;2(1):21–9. <https://doi.org/10.3109/21556660.2013.781504>
6. Boubaker H, Grissa MH, Sassi M, Chakroun T, Beltaief K, Hassine M, et al. Generic and branded enoxaparin bioequivalence: A clinical and experimental study. *J Bioequiv Availab.* 2015;7(5):225–8. <https://doi.org/10.4172/jbb.1000244>
7. Martinez González J, Monreal M, Ayani Almagia IA, Llaudo Garín J, Ochoa Diaz de Monasterioguren L, Gutierrez Adúriz I. Bioequivalence of a biosimilar enoxaparin sodium to Clexane® after single 100 mg subcutaneous dose: results of a randomized, double-blind, crossover study in healthy volunteers. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:575–82. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S162817>
8. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Faustova NM, Obluchinskaya ED, Kosman VM, Vuorela H, Makarov VG. Pharmacokinetic and tissue distribution of fucoidan from *Fucus vesiculosus* after oral administration to rats. *Mar Drugs.* 2018;16(4):132–42. <https://doi.org/10.3390/md16040132>
9. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Obluchinskaya ED, Vuorela H. The pharmacokinetics of fucoidan after topical application to rats. *Mar Drugs.* 2019;17(12):687–96. <https://doi.org/10.3390/md17120687>
10. Косман ВМ, Фаустова НМ, Уракова ИН, Карлина МН, Макаров ВГ. Ингибирование фермента дипептидилпептидазы-4 после перорального введения кроликам экстракта гонад морских ежей (*Strongylocentrotus droebachiensis*) как возможный биомаркер фармакокинетики. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2020;9(3):158–65. [Kosman VM, Faustova NM, Urakova IN, Karlina MN, Makarov VG. Dipeptidylpeptidase IV activity inhibition after oral administration to rabbits of *Strongylocentrotus droebachiensis* gonads extract as possible biomarker of pharmacokinetics. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug Development and Registration.* 2020;9(3):158–65 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-158-165>
11. Shikov AN, Pozharitskaya ON, Faustova NM, Kosman VM, Razzazi-Fazeli E, Novak J. Pharmacokinetic study of bioactive glycopeptide from *Strongylocentrotus droebachiensis* after intranasal administration to rats using biomarker approach. *Mar Drugs.* 2019;17:577–90. <https://doi.org/10.3390/md17100577>
12. Облущинская ЕД. Сухой экстракт фукуса, способ его получения и антикоагулянтная мазь на его основе. Патент Российской Федерации № 2506089; 2014. [Obluchinskaya ED. Dry fucus extract, method for preparing it, and base anticoagulant ointment. Patent of the Russian Federation No. 2506089; 2014 (In Russ.)]
13. Облущинская ЕД, Карлина МВ, Пожарицкая ОН, Демченко ДВ, Шиков АН, Макарова МН, Макаров ВГ, Фомичев ЮС. Фармацевтическая композиция на основе фукоидана для перорального применения и способ ее получения. Патент Российской Федерации № 2657615 C1; 2018. [Obluchinskaya ED, Karlina MV, Pozharitskaya ON, Demchenko DV, Shikov AN, Makarova MN, Makarov VG, Fomichev YuS. Pharmaceutical composition on the basis of fucoidan for oral use and method of its production. Patent of the Russian Federation No. 2657615 C1; 2018 (In Russ.)]
14. Пожарицкая ОН, Уракова ИН, Шиков АН, Макаров ВГ. Способ комплексной переработки морских ежей. Патент Российской Федерации № 2432956 C1; 2011. [Pozharitskaya ON, Urakova IN, Shikov AN, Makarov VG. Method of complex processing of echinus. Patent of the Russian Federation No. 2432956 C1 (In Russ.)]
15. Пожарицкая ОН, Демченко ДВ, Макаров ВГ, Макарова МН, Шиков АН, Кательникова АЕ. Средство с гликозилированным полипептидом и способ его получения. Патент Российской Федерации № 2712235 C1; 2020. [Pozharitskaya ON, Demchenko DV, Makarov VG, Makarova MN, Shikov AN, Katelnikova AE. Agent with a glycosylated polypeptide and a method for production thereof. Patent of the Russian Federation No. 2712235 C1; 2020 (In Russ.)]
16. Lin Lu I, Tsai K-C, Chiang Y-K, Jiaang W-T, Wu S-H, Mahindroo N, et al. A three-dimensional pharmacophore model for dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2008;43(8):1603–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.11.014>
17. Пиотровский ВК. Метод статистических моментов и интегральные модельно-независимые параметры фармакокинетики. *Фармакология и токсикология.* 1986;49(5):118–27. [Piotrovsky VK. The method of statistical moments and integral model-independent parameters of pharmacokinetics. *Farmakologiya i toksikologiya = Pharmacology and Toxicology.* 1986;49(5):118–27 (In Russ.)]
18. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed.* 2010; 99(3):306–14. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2010.01.007>
19. Свежова НВ, Шаркова ВЕ, Громов ДБ, Головаченко ВА, Полинцев ДГ. Методы математической обработки данных в иммуноферментном анализе. 1. Теоретические основы. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2008;(1):3–9. [Svezhova NV, Sharikova VE, Gromov DB, Golovachenko VA, Polyntsev DG. Methods for mathematical data processing in enzyme immunoassay. I. Theoretical basis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics.* 2008;(1):3–9 (In Russ.)]
20. Mizuno M, Nishitani Y, Tanoue T, Matoba Y, Ojima T, Hashimoto T, Kanazawa K. Quantification and localization of fucoidan in *Laminaria japonica* using a novel antibody. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009;73(2):335–8. <https://doi.org/10.1271/bbb.80542>
21. Ушакова НА, Морозевич ГЕ, Устюжанина НЕ, Билан МИ, Усов АИ, Нифантьев НЗ, Преображенская МЕ. Антикоагулянтная активность фукоиданов из бурых водорослей. *Биомедицинская химия.* 2008;54(5):597–606. [Ushakova NA, Morozovich GE, Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Usov AI, Nifantiev NE, Preobrazhenskaya ME. Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae. *Biochem (Mosc.) Suppl Ser B Biomed chem.* 2009;(3):77–83]. <https://doi.org/10.1134/S1990750809010119>
22. Irhimeh MR, Fitton JH, Lowenthal RM, Kongtawelert P. A quantitative method to detect fucoidan in human plasma using a novel antibody. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2005;27(10):705–10. <https://doi.org/10.1358/mf.2005.27.10.948919>
23. Селемев ВФ, Хохлова ОН, Хохлов ВЮ, Щербинин РЛ. Определение гепарина спектрофотометрическим и фотоколориметрическим методами. *Химико-фармацевтический журнал.* 1999;(8):47–8. [Selemenev VF, Khokhlova ON, Khokhlov VYu, Scherbinin RL. Heparin determination by spectrophotometric and photocolormetric methods. *Pharm Chem J.* 1999;33(8),450–1]. <https://doi.org/10.1007/BF02510101>
24. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Laakso I, Sappanen-Laakso T, Makarenko IE, Faustova NM, Makarova MN, Makarov VG. Bioactivity and chemical characterization of gonads of green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* from Barents Sea. *J Funct Foods.* 2015;17:227–34. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.030>
25. Kashkin V, Selezneva AI, Makarova MN, Makarov VG. Therapeutic activity of new drug from hydrobionts in the model of metabolic syndrome in rats. *17th International Congress "Phytopharm", Vienna, Austria, 8–10 July 2013. Abstract Book.*
26. Кательникова АЕ, Крышень КЛ, Макарова МН, Макаров ВГ, Воробьева ВВ, Шиков АН. Изучение специфической фармакологической активности комплекса гликозилированных полипептидов, выделенных из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis* на модели острого бронхита у крыс. *Биомедицина.* 2018;(2):85–94. [Katelnikova AE, Kryshen KL, Makarova MN, Makarov VG, Vorobieva VV, Shikov AN. Specific pharmacological activity study of glycosylated polypeptide complex extracted from sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in the model of acute bronchitis in rats. *Biomeditsina = Biomedicine.* 2018;(2):85–94 (In Russ.)]
27. Кательникова АЕ, Крышень КЛ, Макарова МН, Макаров ВГ, Шиков АН. Механизмы противовоспалительного действия комплекса полипептидов выделенного из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Российский иммунологический журнал.* 2018;21(1):73–9. [Katelnikova AE, Kryshen KL, Makarova MN, Makarov VG, Shikov AN. Mechanisms of anti-inflammatory effect of glycosylated polypeptide complex extracted from sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology.* 2018;21(1):73–9 (In Russ.)]

28. Кательникова АЕ, Воробьева ВВ, Крышень КЛ, Макаров ВГ, Шиков АН. Противовоспалительная и антиоксидантная активность комплекса гликозилированных полипептидов, выделенных из морских ежей. *Медицинский академический журнал*. 2016;16(4):183–4. [Katelnikova AE, Vorobieva VV, Kryshen KL, Makarov VG, Shikov AN. Antiinflammatory and antioxidative activity of complex of glycosylated polypeptides isolated from sea urchin. *Meditinskij akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*. 2016;16(4):183–4 (In Russ.)]
29. Кательникова АЕ, Крышень КЛ, Макарова МН, Макаров ВГ, Воробьева ВВ, Пожарицкая ОН, Шиков АН. Изучение специфической фармакологической активности комплекса гликозилированных полипептидов выделенного из морских ежей *Strongylocentrotus droebachiensis* на модели острого бронхита индуцированного формалином у крыс. *Биофармацевтический журнал*. 2016;8(6):50–7. [Katelnikova AE, Kryshen KL, Makarova MN, Makarov VG, Vorobieva VV, Pozharitskaya ON, Shikov AN. Specific pharmacological activity study of glycosylated polypeptide complex extracted from sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in the model of acute bronchitis induced by formalin in rats. *Biofarmatsevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2016;8(6):50–7 (In Russ.)]
30. Кольман Я, Рем К-Г. *Наглядная биохимия*. М.: Мир; 2004. [Kohlmann J, Rem K-G. *Visual biochemistry*. Moscow: Mir; 2004 (In Russ.)]
31. Eventoff W, Rossmann MG, Taylor SS, Torff HJ, Meyer H, Keil W, Kiltz HH. Structural adaptations of lactate dehydrogenase isozymes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74(7):2677–81. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.7.2677>
32. Fushinobu S, Kamata K, Iwata S, Sakai H, Ohta T, Matsuzawa H. Allosteric activation of L-lactate dehydrogenase analyzed by hybrid enzymes with effector-sensitive and -insensitive subunits. *J Biol Chem*. 1996;271(41):25611–6. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.41.25611>
33. Cameron AD, Roper DI, Moreton KK, Kathleen M, Muirhead H, Holbrook JJ, Wigley DB. Allosteric activation in *Bacillus steatothermophilus* lactate dehydrogenase investigated by an X-ray crystallographic analysis of a mutant designed to prevent tetramerization of the enzyme. *J Mol. Biol.* 1994;238(4):615–25. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1994.1318>
34. Fritz PJ. Rabbit muscle lactate dehydrogenase 5; a regulatory enzyme. *Science*. 1965;150(3694):364–6. <https://doi.org/10.1126/science.150.3694.364>
35. Карлина МВ, Пожарицкая ОН, Шиков АН. Экспериментальная фармакокинетика, современные требования, исследования *in vitro*. *Международный вестник ветеринарии*. 2015;(3):98–102. [Karlina MV, Pozharitskaya ON, Shikov AN. Experimental pharmacokinetics, modern requirements, *in vitro* studies. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2015;(3):98–102 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Косман Вера Михайловна, канд. фарм. наук. *Vera M. Kosman*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>
Фаустова Наталья Михайловна, канд. хим. наук. *Natalia M. Faustova*, Cand. Sci. (Chem.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>
Карлина Марина Валерьевна, канд. биол. наук. *Marina V. Karlina*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>
Макаров Валерий Геннадиевич, д-р мед. наук. *Valery G. Makarov*, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>
Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук. *Marina N. Makarova*, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

Статья поступила 11.11.2020
После доработки 23.12.2020
Принята к печати 20.02.2021

Article was received 11 November 2020
Revised 23 December 2020
Accepted for publication 20 February 2021

Разработка унифицированной ВЭЖХ-методики определения родственных примесей и количественной оценки действующего вещества препаратов папаверина гидрохлорида

Н. П. Антонова, Е. П. Шефер*, Н. Е. Семенова, С. С. Прохвятилова,
А. М. Калинин, С. А. Кучугурин, В. Н. Макухин

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. Препараты папаверина гидрохлорида применяются в медицинской практике в качестве спазмолитического средства. В большинство зарегистрированных нормативных документов на эти препараты включена методика оценки родственных примесей методом тонкослойной хроматографии, для определения действующего вещества используется УФ-спектрофотометрия. Количественное определение папаверина гидрохлорида в лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) не проводится. **Цель работы:** разработка методики определения родственных примесей и количественного определения папаверина гидрохлорида в растворе для инъекций, таблетках и суппозиториях ректальных методом ВЭЖХ. **Материалы и методы:** объектами исследования являлись образцы препаратов папаверина отечественных производителей: «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл», «Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг», «Папаверин, таблетки 40 мг». Исследование проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity II DAD System, регистрацию УФ-спектров — на спектрофотометре Agilent 8453E UV-Vis System. Оценку содержания родственных примесей и количественное определение действующих веществ проводили одновременно методом ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке Kromasil 100-5-C18, размер колонки 250×4,6 мм, размер частиц 5 мкм, в условиях градиентного элюирования с детектированием при 238 нм. В качестве стандартных образцов использовали папаверина гидрохлорид квалификации USP RS с содержанием действующего вещества 99,9% и носкапин квалификации EP CRS. **Результаты:** показана возможность одновременного определения родственных примесей и количественного определения действующих веществ в препаратах папаверина методом ВЭЖХ. **Выводы:** предложена методика определения действующих веществ в препаратах папаверина методом ВЭЖХ, удовлетворяющая принципу сквозной стандартизации, которая может быть рекомендована для включения в проект фармакопейных статей на препараты папаверина. **Ключевые слова:** папаверина гидрохлорид; ВЭЖХ; спектрофотометрия; фармакопейные методы анализа; раствор для инъекций; таблетки; суппозитории ректальные

Для цитирования: Антонова НП, Шефер ЕП, Семенова НЕ, Прохвятилова СС, Калинин АМ, Кучугурин СА, Макухин ВН. Разработка унифицированной ВЭЖХ-методики определения родственных примесей и количественной оценки действующего вещества препаратов папаверина гидрохлорида. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):36–43. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-36-43>

* **Контактное лицо:** Шефер Елена Павловна; shefer@expmed.ru

Development of a Comprehensive HPLC Method for Determination of Product-related Impurities and Assay of Active Ingredients in Papaverine Hydrochloride Products

N. P. Antonova, E. P. Shefer*, N. E. Semenova, S. S. Prokhvatilova,
A. M. Kalinin, S. A. Kuchugurin, V. N. Makukhin

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

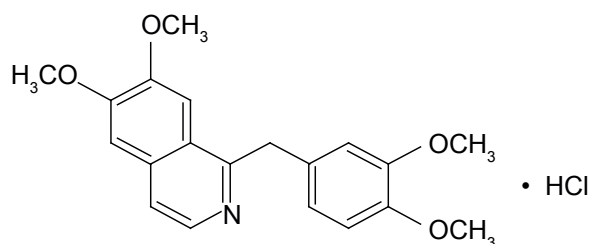
Abstract. Papaverine hydrochloride products are used as anticonvulsants in routine medical practice. Most of the approved product specification files include thin-layer chromatography for assessment of product-related impurities and UV spectrophotometry for determination of active pharmaceutical ingredients. An HPLC assay is not used for determination of papaverine hydrochloride in drug dosage forms. **The aim of the study** was to develop an HPLC test method for determination of product-related impurities and for quantification of papaverine hydrochloride in solutions for injection, tablets, and rectal suppositories. **Materials and methods:** samples of the following Russian-made papaverine products were used in the study: Papaverine, solution for injection, 20 mg/mL; Papaverine, rectal suppositories, 20 mg; Papaverine, tablets, 40 mg. The Agilent 1260 Infinity II DAD System was used for the HPLC assay, and the Agilent 8453E UV-Vis System was used for recording UV spectra. The determination of product-related impurities and the assay of active ingredients were performed simultaneously by HPLC using a reversed-phase column Kromasil 100-5-C18, 250×4.6 mm, 5 µm, the gradient elution mode, and detection at 238 nm. Papaverine Hydrochloride USP RS, 99% purity, and Noscapine EP CRS were used as reference standards. **Results:** the study demonstrated that determination of product-related impurities and assay of active ingredients in papaverine products can be performed simultaneously using HPLC. **Conclusions:** the authors proposed an HPLC test method for determination of active ingredients in papaverine products, which is aligned with the “consistent standardisation” principle and can be recommended for inclusion into draft monographs for papaverine products.

Key words: papaverine hydrochloride; HPLC; spectrophotometry; pharmacopoeial tests; solution for injection; tablets; rectal suppositories

For citation: Antonova NP, Shefer EP, Semenova NE, Prokhvatilova SS, Kalinin AM, Kuchugurin SA, Makukhin VN. Development of a comprehensive HPLC method for determination of product-related impurities and assay of active ingredients in papaverine hydrochloride products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):36–43. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-36-43>
***Corresponding author:** Elena P. Shefer; shefer@expmed.ru

Папаверина гидрохлорид (*Papaverini hydrochloridum*) — лекарственное средство, относящееся к группе миотропных спазмолитиков. Применяется в медицинской практике в виде раствора для инъекций, суппозиторий ректальных и таблеток при спазмах гладких мышц органов брюшной полости, бронхов, периферических сосудов, сосудов головного мозга, почек; стенокардии в составе комбинированной терапии, также в качестве вспомогательного средства для премедикации. Фармакологическое действие основано на способности папаверина гидрохлорида ингибировать фермент фосфодиэстеразу, вызывать накопление в клетке циклического 3',5'-аденозинмонофосфата и уменьшать содержание внутриклеточного кальция. В результате снижается тонус гладких мышц внутренних органов и сосудов при спастических состояниях, что ведет к расширению артерий и способствует увеличению кровотока¹.

Впервые папаверин был выделен из млечного сока незрелых плодов мака снотворного (*Papaver somniferum*) — опиума, где его содержание достигает 1%. В настоящее время субстанцию папаверина получают синтетическим путем. В медицинской практике папаверин применяется в виде гидрохлорида [1, 2]. По химическому строению папаверина гидрохлорид относится к алкалоидам, производным бензлизохинолина (1-[(3,4-диметоксифенил)метил]-6,7-диметоксиизохинолина гидрохлорид):



К родственным примесям папаверина относят носкапин, тебаин, которые являются сопутствующими алкалоидами при получении папаверина из опиума; а также папаверинол, дигидропапаверин, папавералдин, тетрагидропапаверин, относящиеся к промежуточным продуктам синтеза папаверина гидрохлорида [3]. В обзоре методов количественного

определения алкалоидсодержащих лекарственных препаратов показано, что наиболее широко в настоящее время применяются хроматографические, оптические и электрохимические методы, в частности, потенциометрия [4].

В Государственный реестр лекарственных средств² включена 241 запись с международным непатентованным названием папаверин, из них в лекарственной форме раствора для инъекций — 114 препаратов, в виде таблеток — 62 препарата, в виде суппозиторий ректальных — 46 препаратов. Субстанция и препараты папаверина гидрохлорида описаны в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ XIV изд.) и ряде зарубежных фармакопей.

В ГФ РФ XIV изд. включена статья только на субстанцию папаверина гидрохлорида³, согласно которой для оценки содержания родственных примесей используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), для определения содержания основного вещества предусмотрен метод потенциометрического титрования. Согласно Европейской фармакопее⁴ и Государственной фармакопее Республики Беларусь⁵ контроль качества субстанции по вышеназванным показателям проводится аналогично с использованием метода ВЭЖХ и потенциометрического титрования. В Британской фармакопее⁶ для инъекционных растворов папаверина для оценки показателей «Родственные примеси» и «Количественное определение» рекомендован метод ВЭЖХ. По Фармакопее США⁷ в лекарственных формах родственные примеси не контролируют, для определения неорганических примесей в субстанции используют метод гравиметрии, предел содержания родственных алкалоидов папаверина (криптопина, тебаина) и других органических примесей определяют путем визуального сравнения с соответствующим эталонным раствором.

Обзор нормативной документации, регламентирующей контроль качества различных лекарственных форм папаверина, показал, что в большинстве случаев родственные примеси определяются количественно с помощью метода тонкослойной хроматографии, для определения действующего вещества используется метод УФ-спектрофотометрии. Определение родственных примесей методом ВЭЖХ

¹ Справочник лекарственных препаратов Vidal. <https://www.vidal.ru>

² <https://grls.rosminzdrav.ru>

³ ФС.2.1.0153.18. Папаверина гидрохлорид. Папаверин. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 3. М.; 2018. Monograph 01/2008:0102. Papaverine hydrochloride. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

⁴ Папаверина гидрохлорид. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 3. Минск; 2008.

⁵ Papaverine Injection. Monograph. British Pharmacopoeia. London; 2009.

⁶ United States Pharmacopoeia. <https://online.uspnf.com/uspnf>

включено в ряд нормативных документов (НД) на зарегистрированные препараты: «Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг» и «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл» производства ОАО «Дальхимфарм», Россия, и «Папаверин, таблетки 40 мг» производства ООО «Ирбитский ХФЗ», Россия, и ОАО «Фармстандарт-Томскхимфарм», Россия.

Количественное определение папаверина гидрохлорида в лекарственных формах методом ВЭЖХ не предусмотрено НД. В связи с этим актуальной задачей является разработка методики контроля качества препаратов папаверина на основе чувствительного и селективного метода ВЭЖХ с возможностью одновременной оценки содержания родственных примесей и количественного определения действующего вещества. Использование ВЭЖХ-методики для анализа родственных примесей в субстанции также позволяет рассмотреть этот метод для целей сквозной стандартизации лекарственных препаратов папаверина.

Цель работы — разработка унифицированной методики определения родственных примесей и содержания папаверина гидрохлорида в различных лекарственных формах (растворе для инъекций, таблетках и суппозиториях ректальных) методом ВЭЖХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы препаратов папаверина отечественных производителей: «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл», «Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг», «Папаверин, таблетки 40 мг». Исследование осуществляли методами ВЭЖХ с УФ-детектированием на жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity II DAD System и спектрофотометрии с регистрацией УФ-спектров на спектрофотометре Agilent 8453E UV-Vis System. Для пробоподготовки использовали ультразвуковую ванну Bandelin SONOREX™ Digital 10 P DK 255 P. В качестве стандартных образцов использовали папаверина гидрохлорид квалификации USP RS с содержанием действующего вещества 99,9% и носкапин квалификации EP CRS.

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований (доверительная вероятность $P = 95\%$) проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XIV изд. с помощью валидированных программ статистической обработки экспериментальных данных (Microsoft Excel) с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения. Валидация предложенной методики выполнена согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV изд.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ методик количественного определения папаверина в различных лекарственных формах методами спектрофотометрии и ВЭЖХ.

Для проведения исследований методом спектрофотометрии готовили испытуемые и стандартные растворы с концентрацией 0,02 мг/мл. В качестве растворителя использовали 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре в максимуме поглощения при 309 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание папаверина гидрохлорида в испытуемых образцах составило: 19,0 мг/мл (относительное стандартное отклонение (RSD) = 0,23%) в препарате «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл», 18,0 мг/супп. (RSD = 1,25%) в препарате «Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг», 38,4 мг/табл. (RSD = 0,17%) в препарате «Папаверин, таблетки 40 мг».

Определение родственных примесей и содержания папаверина гидрохлорида проводили методом ВЭЖХ с использованием подходов, описанных в монографии Европейской фармакопеи⁸.

Пробоподготовку проводили в зависимости от лекарственной формы. В качестве растворителя использовали смесь ацетонитрила (Fisher Scientific, квалификация «для ВЭЖХ») и фосфатного буферного раствора с pH 3,0 в соотношении 20:80. Для всех форм готовили испытуемый раствор с концентрацией 2 мг/мл для определения родственных примесей и с концентрацией 0,1 мг/мл для количественного определения папаверина.

Объем препарата для инъекций, соответствующий 20 мг папаверина гидрохлорида, довели растворителем до метки в мерной колбе.

Навеску порошка растертых таблеток, соответствующую 40 мг папаверина гидрохлорида, помещали в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляли 10 мл растворителя, обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин, охлаждали до комнатной температуры, довели объем раствора тем же растворителем до метки и фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Пробоподготовка суппозиторий заключалась в освобождении от основы. Для этого массу измельченных суппозиторий, соответствующую 50 мг папаверина гидрохлорида, помещали в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляли растворитель, нагревали на водяной бане до расплавления основы и тщательно взбалтывали при подогревании. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры, фильтровали в мерную колбу

⁸ Monograph 01/2008:0102. Papaverine hydrochloride. European Pharmacopeia. 10th ed. Strasbourg; 2019.

вместимостью 25 мл и довели объем раствора растворителем до метки.

Хроматографирование проводили на обращенно-фазовой колонке Kromasil 100-5-C18, размер колонки 250×4,6 мм, размер частиц 5 мкм. Детектирование осуществляли с помощью спектрофотометрического детектора при длине волны 238 нм. Скорость потока — 1,0 мл/мин, температура колонки — 35 °С, объем вводимой пробы — 5 мкл. Подвижная фаза А (ПФА) — фосфатный буферный раствор рН 3,0 (1)⁹, подвижная фаза Б (ПФБ) — ацетонитрил, подвижная фаза В (ПФВ) — метанол. Использовали градиентный режим хроматографирования (табл. 1).

Для расчета содержания определяемых веществ применяли метод внешнего стандарта. Время удерживания папаверина гидрохлорида в описанных условиях составляло около 20 мин. Относительное

время удерживания носкапина (по папаверину гидрохлориду) — около 1,07 (рис. 1).

Для оценки содержания родственных примесей в качестве стандартного раствора использовали 0,004% раствор стандартного образца папаверина гидрохлорида.

Тест пригодности хроматографической системы проводили по раствору для проверки разделительной способности, содержащему носкапин и папаверина гидрохлорид (рис. 1), и раствору для проверки чувствительности хроматографической системы, представляющему собой 0,05% раствор папаверина гидрохлорида относительно концентрации основного вещества в испытуемом растворе.

Норма содержания родственных примесей в папаверине растворе для инъекций, таблеток и суппозиториях ректальных для любой

Таблица 1. Программа градиентного элюирования для оценки содержания родственных примесей и количественного определения действующего вещества в препаратах папаверина гидрохлорида

Table 1. Gradient elution programme used for determination of product-related impurities and assay of active ingredients in papaverine hydrochloride products

Время, мин Time, min	Подвижная фаза А, % Mobile phase A, %	Подвижная фаза Б, % Mobile phase B, %	Подвижная фаза В, % Mobile phase C, %
0–5	85	5	10
5–12	85 → 60	5	10 → 35
12–20	60	5	35
20–24	60 → 40	5 → 20	35 → 40
24–27	40	20	40
27–32	40 → 85	20 → 5	40 → 10
32–40	85	5	10

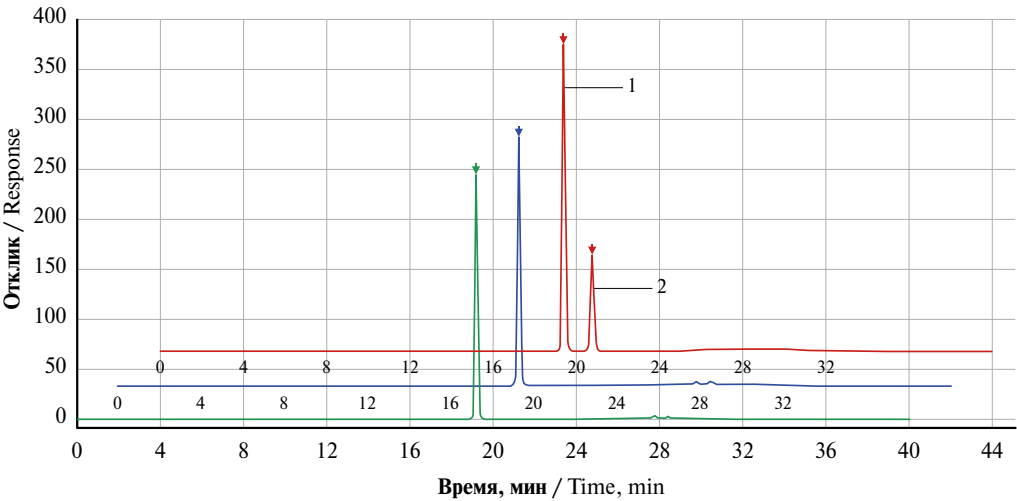


Рис. 1. Типичные хроматограммы исследуемых растворов: — испытуемый раствор препарата; — стандартный раствор папаверина гидрохлорида; — раствор для проверки разделительной способности (1 — папаверина гидрохлорид, 2 — носкапин)

Fig. 1. A typical chromatogram of: — a test solution; — a standard solution of papaverine hydrochloride; — a resolution solution (1—papaverine hydrochloride, 2—noscapine)

⁹ ОФС.1.3.0003.15. Буферные растворы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

неидентифицированной примеси составляет «не более 0,2%», для суммы примесей — «не более 1,0%». Во всех изученных образцах лекарственных препаратов «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл», «Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг», «Папаверин, таблетки 40 мг» содержание родственных примесей составило менее 0,05%.

При определении количественного содержания действующего вещества в изучаемых объектах в качестве стандартного раствора использовали 0,01% раствор папаверина гидрохлорида.

С учетом фактически полученных результатов для оценки пригодности хроматографической системы были установлены следующие требования:

- значение асимметрии пика папаверина гидрохлорида должно быть не более 2,0;

- эффективность колонки по пику папаверина гидрохлорида должна быть не менее 2000 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площади пика папаверина гидрохлорида для 6 определений должно быть не более 5,0%.

Каждый испытуемый образец анализировали в виде трех параллельных проб, по результатам анализов которых рассчитывали относительное стандартное отклонение (*RSD*).

Содержание папаверина гидрохлорида (*X*) в таблетках, суппозиториях ректальных, растворе для инъекций (табл. 2) вычисляли по формулам (1)–(3) соответственно:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 20 \cdot 20 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot 25 \cdot 100 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 100}, \text{ мг/табл.}, \quad (1)$$

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 20 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot 25 \cdot 100 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 100}, \text{ мг/супп.}, \quad (2)$$

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 10 \cdot 20 \cdot P}{S_0 \cdot 25 \cdot 100 \cdot V \cdot 1 \cdot 100}, \text{ мг/мл}, \quad (3)$$

где S_1 — площадь пика папаверина на хроматограмме испытуемого раствора; S_0 — площадь пика папаверина на хроматограмме стандартного раствора; a_0 — навеска стандартного образца папаверина гидрохлорида, мг; a_1 — навеска препарата, мг; V — объем препарата, мл; P — содержание папаверина гидрохлорида в стандартном образце папаверина гидрохлорида, %; G — средняя масса одной таблетки (одного суппозитория), мг.

Таким образом, результаты количественного определения папаверина гидрохлорида в различных лекарственных формах методами спектрофотометрии и ВЭЖХ сопоставимы, и в качестве альтернативной может быть предложена ВЭЖХ-методика.

В рамках валидационных исследований была проведена оценка специфичности, линейности, внутрилабораторной прецизионности, правильности, повторяемости.

Условия регистрации хроматограмм приведены выше. Полученные данные статистически обрабатывали и строили график зависимости аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики. Зависимость содержания действующих веществ в испытуемом образце от площади пика папаверина линейна, квадрат коэффициента корреляции (r^2) составляет 0,9998 (критерий линейности $\geq 0,99$), что подтверждает линейность в рассматриваемом диапазоне.

Правильность методики оценивали по величине отношения найденного количества папаверина к количеству папаверина в модельной смеси с добавками, которая составила 98,6–100,8%, что не выходит за пределы допустимого диапазона (критерий приемлемости 97–103%). Результаты валидации представлены в таблице 3 на примере

Таблица 2. Сводная таблица результатов количественного определения папаверина в препаратах методами спектрофотометрии и ВЭЖХ

Table 2. The results of papaverine determination in medicinal products (spectrophotometry and HPLC)

Испытуемый образец Test sample	Единицы измерения Unit	Норма Requirements	Количественное определение Assay			
			спектрофотометрия spectrophotometry		ВЭЖХ HPLC	
			результат анализа test result	относительное стандартное отклонение (<i>RSD</i>), % relative standard deviation (<i>RSD</i>), %	результат анализа test result	относительное стандартное отклонение (<i>RSD</i>), % relative standard deviation (<i>RSD</i>), %
Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл Papaverine, solution for injection, 20 mg/mL	мг/мл mg/mL	19,0–21,0	19,0	0,23	19,8	0,30
Папаверин, таблетки 40 мг Papaverine, tablets, 40 mg	мг/табл. mg/tablet	37,0–43,0	38,4	0,17	38,8	1,09
Папаверин, суппозитории ректальные, 20 мг Papaverine, rectal suppositories, 20 mg	мг/супп. mg/suppository	18,0–22,0	18,0	1,25	18,6	0,25

Таблица 3. Результаты валидации аналитической методики количественного определения в растворе папаверина гидрохлорида

Table 3. The results of validation of the assay as applied to the papaverine hydrochloride solution

Характеристика Parameter	Требования Requirements	Результат Results	
Специфичность Specificity	Присутствие сопутствующих компонентов не влияет непредусмотренным образом на результат анализа The presence of related compounds does not inadvertently affect test results	Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика папаверина на хроматограмме раствора стандартного образца папаверина гидрохлорида. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности разрешение (<i>R</i>) между пиками папаверина и носкапина составляет 4,5 The retention time of the main peak in the chromatogram of the test solution corresponds to the retention time of the papaverine peak in the chromatogram of the papaverine hydrochloride standard solution. The resolution (<i>R</i>) between the papaverine peak and the noscapine peak in the chromatogram of the resolution solution is 4.5	
Линейность Linearity	Данные экспериментальных измерений аналитических сигналов 5 проб с различным содержанием определяемых веществ обработаны методом наименьших квадратов с использованием линейной модели: $y = bx + a$ Experimental data obtained from measurements of analytical signals of 5 samples containing different amounts of the analyte were processed using the least squares method and the linear model: $y = bx + a$ Коэффициент корреляции Correlation coefficient: $ r \geq 0,99$	Содержание папаверина гидрохлорида в растворе Amount of papaverine hydrochloride in the solution	Площадь пика, у.е. Peak area, a.u.
		мг (mg)	%
		16	80
		18	90
		20	100
		22	110
		24	120
		Уравнение прямой Line equation: $y = 126,01x - 0,107$ Коэффициент корреляции Correlation coefficient: $r^2 = 0,9998$ $ r > 0,99$	
Аналитическая область Range	Методика применима в интервале 80–120% от минимального допустимого значения The method is applicable in the range 80–120% of the minimum acceptable value	Соответствует на основании данных по изучению линейности The result is satisfactory based on linearity data	
Правильность Trueness	Величина отношения найденного количества папаверина к количеству папаверина в модельной смеси с добавками не выходит за пределы допустимого диапазона (97–103%) The ratio of the measured amount of papaverine to the amount of papaverine in the spiked model mixture is within the acceptable range (97–103%)	Найдено, мг/мл Amount measured, mg/mL	Отношение найденного количества папаверина к количеству папаверина в модельной смеси с добавками, % The ratio of the measured amount of papaverine to the amount of papaverine in the spiked model mixture, %
		15,86	99,1
		17,83	99,0
		19,84	99,2
		21,7	98,6
		24,2	100,8

Продолжение таблицы 3
Table 3 (continued)

Характеристика Parameter	Требования Requirements	Результат Results		
Прецизионность Precision Повторяемость Repeatability	<i>RSD</i> результатов 6 определений количественного содержания папаверина гидрохлорида ≤ 3,0% <i>RSD</i> of 6 determinations of papaverine hydrochloride ≤ 3.0%	Результаты 6 определений количественного содержания папаверина гидрохлорида: The results of 6 determinations of papaverine hydrochloride		
		№	Значение, мг/мл Result, mg/mL	
		1	19,89	
		2	19,85	
		3	19,78	
		4	19,90	
		5	19,85	
		6	19,77	
		Среднее значение Mean	19,84	
		<i>RSD</i> = 0,30%		
Межлабораторная прецизионность Intermediate precision	Значение критерия Фишера (<i>F</i> _{pract.}), вычисленное по результатам проведения испытаний разными исполнителями на разном оборудовании, должно быть меньше табличного значения (<i>F</i> _{teor.}) The <i>F</i> -test value (<i>F</i> _{pract.}) calculated from the results obtained by different operators using different equipment is less than the tabular value (<i>F</i> _{teor.}) <i>F</i> _{pract.} = <i>s</i> ₁ ² / <i>s</i> ₂ ² ≤ <i>F</i> _{teor.}	№	Исполнитель 1 Оборудование 1 Operator 1 Equipment 1	Исполнитель 2 Оборудование 2 Operator 2 Equipment 2
		1	19,90 мг/мл	19,88 мг/мл
		2	19,85 мг/мл	19,87 мг/мл
		3	19,78 мг/мл	19,80 мг/мл
		<i>s</i>	0,060	0,065
		<i>s</i> ²	0,0036	0,004225
		<i>F</i> _{pract.} = 0,004225/0,0036 = 1,17 <i>F</i> _{teor.} (0,05; 2; 2) = 19,00 <i>F</i> _{pract.} < <i>F</i> _{teor.}		

Примечание. $t(0,95; n-2)$ — коэффициент Стьюдента; s_1, s_2 — большее и меньшее стандартные отклонения полученных результатов соответственно; s — стандартное отклонение свободного члена.

Note. $t(0.95; n-2)$ —Student's *t*-test; s_1, s_2 —the higher and lower standard deviations of the obtained results, respectively; s —standard deviation of the intercept.

образца препарата «Папаверин, раствор для инъекций 20 мг/мл».

В ходе проведения валидации методики получены результаты, соответствующие критериям приемлемости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенной экспериментальной работы показана возможность совместного определения родственных примесей и количественного определения действующего вещества в растворе для инъекций, таблетках и суппозиториях ректальных папаверина гидрохлорида методом ВЭЖХ. Предложена унифицированная методика

определения родственных примесей и содержания папаверина гидрохлорида в растворе для инъекций, таблетках и суппозиториях ректальных методом ВЭЖХ. Методика позволяет получить достоверные и воспроизводимые результаты, является высокочувствительной, селективной и может быть использована для количественного определения действующего вещества в препаратах папаверина. Методика может быть рекомендована в качестве альтернативной для включения в проекты фармакопейных статей для Государственной фармакопеи Российской Федерации «Папаверин, раствор для инъекций», «Папаверин, суппозитории ректальные», «Папаверин, таблетки».

Вклад авторов. *Н. П. Антонова* — концепция и дизайн работы, написание текста статьи и критический пересмотр его содержания; *Е. П. Шефер* — сбор данных литературы, написание текста статьи и критический пересмотр его содержания; *Н. Е. Семенова* — проведение экспериментальных исследований методом ВЭЖХ; *С. С. Прохвятилова* — сбор и анализ данных литературы, критический пересмотр содержания текста статьи; *А. М. Калинин* — статистическая обработка экспериментальных данных, заключительные стадии редактирования; *С. А. Кучугурин* — проведение экспериментальных исследований методом спектрофотометрии; *В. Н. Макухин* — проведение экспериментальных исследований методами ВЭЖХ и спектрофотометрии.

Authors' contributions. *Natalia P. Antonova*—elaboration of the study concept and design, drafting and revision of the paper; *Elena P. Shefer*—literature review, drafting and revision of the paper; *Natalia E. Semenova*—experimental part of the study (HPLC); *Svetlana S. Prokhvatilova*—collection and analysis of literature data; *Artem M. Kalinin*—statistical processing of

experimental data, final editing of the paper; *Sergey A. Kuchugurin*—experimental part of the study (spectrophotometry); *Viktor N. Makukhin*—experimental part of the study (HPLC and spectrophotometry).

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

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

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Солодухина ЛА, Абросимова ЛА. Способ получения папаверина гидрохлорида. Патент Российской Федерации № 2647583 C2; 2018. [Method for the preparation of papaverine hydrochloride. Patent of the Russian Federation No. 2647583 C2; 2018 (In Russ.)]
2. Маринченко ДМ. Алкалоиды группы изохинолина и их применение в медицине и фармации. В кн.: Сикорский АВ, Доронина ОК, ред. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации*. Сб. тезисов докладов LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Минск: БГМУ; 2017. С. 202. [Marinchenko DM. Alkaloids of the isoquinoline group and their use in medicine and pharmacy. In: Sikorsky AV, Doronina OK, ed. *Actual problems of modern medicine and pharmacy*. Abstracts of the LXXI International scientific and practical conference of students and young scientists. Minsk: BGMU; 2017. P. 202 (In Russ.)]
3. Hifnawy MS, Muhtadi FJ. Analytical profile of papaverine hydrochloride. *Analytical Profiles of Drug Substances*. 1988;17:367–447. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60223-3](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60223-3)
4. Лизунова ГМ, Ямбулатова ЕВ. Обзор методов количественного определения алкалоидсодержащих лекарственных препаратов. *Молодой ученый*. 2013;(5):187–92. [Lizunova GM, Yambulatova EV. Review of methods for quantitative determination of alkaloid-containing drugs. *Moloday ucheny=Young Scientist*. 2013;(5):187–92 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Антонова Наталья Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Antonova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Shefer*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

Семенова Наталья Евгеньевна. *Natalia E. Semenova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6787-0647>

Прохвятилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук. *Svetlana S. Prokhvatilova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Калинин Артем Михайлович. *Artem M. Kalinin*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Кучугурин Сергей Александрович. *Sergey A. Kuchugurin*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9439-9611>

Макухин Виктор Николаевич. *Viktor N. Makukhin*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2845-1060>

Статья поступила 29.06.2020

После доработки 14.01.2021

Принята к печати 20.02.2021

Article was received 29 June 2020

Revised 14 January 2021

Accepted for publication 20 February 2021

Совершенствование методов стандартизации лекарственных средств на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями

Н. П. Антонова, И. М. Моргунов, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер,
О. В. Евдокимова, А. В. Бекетова, М. Н. Лякина*

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. Установление подлинности лекарственного растительного сырья чемерицы Лобеля (*Veratrum Lobelianum* Bernh.), а также фармацевтической субстанции и лекарственного препарата из этого сырья по одной и той же группе биологически активных веществ с помощью одного и того же метода анализа соответствует принципу «сквозной» стандартизации. **Цель работы:** разработка унифицированного способа идентификации стероидных алкалоидов в лекарственных средствах «Вода чемеричная», «Чемерицы настойка» и лекарственном растительном сырье чемерицы Лобеля корневища с корнями. **Материалы и методы:** образцы лекарственных средств «Чемерицы настойка» и «Чемеричная вода», лекарственного растительного сырья Чемерицы Лобеля корневища с корнями. Исследования проводились методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии с использованием пластинки для высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). **Результаты:** разработана унифицированная методика установления подлинности лекарственных средств на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями (лекарственное растительное сырье, фармацевтическая субстанция и лекарственный препарат) методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии по стероидным алкалоидам. На основе проведенных исследований будет подготовлено изменение к ФС.2.5.0104.18 «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» по разделу «Подлинность», указанная методика предлагается для включения в проекты фармакопейных статей «Чемерицы Лобеля корневищ с корнями настойка» и «Чемерицы Лобеля корневищ с корнями настойка, раствор для наружного применения». **Выводы:** разработанная методика позволяет устанавливать подлинность в ряду от лекарственного растительного сырья до лекарственных средств на его основе по одной и той же группе биологически активных веществ. **Ключевые слова:** стероидные алкалоиды; ВЭТСХ; чемерицы Лобеля корневища с корнями; лекарственные средства; фармакопейные статьи

Для цитирования: Антонова НП, Моргунов ИМ, Прохвятилова СС, Шефер ЕП, Евдокимова ОВ, Бекетова АВ, Лякина МН. Совершенствование методов стандартизации лекарственных средств на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):44–48. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-44-48>

* **Контактное лицо:** Лякина Марина Николаевна; Ljakina@expmed.ru

Improvement of Methods of Standardisation of Medicinal Products Made from *Veratrum Lobelianum* Rhizomes with Roots

N. P. Antonova, I. M. Morgunov, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer,
O. V. Evdokimova, A. V. Beketova, M. N. Lyakina*

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

Abstract. Identification of hellebore (*Veratrum Lobelianum* Bernh.) herbal substance, as well as hellebore-based herbal preparation and herbal medicinal product by the same group of biologically active substances using the same test method is in line with the so-called “consistent standardisation” principle. **The aim of the study** was to develop a harmonised approach to identification of steroidal alkaloids in hellebore products (hellebore water, hellebore tincture) and hellebore herbal substance (hellebore rhizomes with roots). **Materials and methods:** samples of hellebore water, hellebore tincture, and hellebore rhizomes with roots were analysed by high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) using an HPTLC plate. **Results:** the authors developed a harmonised identification procedure for products made from hellebore rhizomes with roots (herbal substance, herbal preparation, and herbal medicinal product) based on HPTLC detection of steroidal alkaloids. The results of the study will be used to prepare amendments to the Identification part of monograph FS.2.5.0104.18 “Hellebore rhizomes with roots”. The developed test procedure is proposed for inclusion into draft monographs “Hellebore rhizomes with roots, tincture” and “Hellebore rhizomes with roots, tincture, solution for external use”. **Conclusions:** the developed test procedure can be used as an identification test for a range of products from the hellebore herbal substance to hellebore-based herbal medicinal products, which is based on the detection of the same group of biologically active substances. **Key words:** steroidal alkaloids; HPTLC; hellebore rhizomes with roots; medicines; pharmacopoeial monographs

For citation: Antonova NP, Morgunov IM, Prokhvatilova SS, Shefer EP, Evdokimova OV, Beketova AV, Lyakina MN. Improvement of methods of standardisation of medicinal products made from *Veratrum lobelianum* rhizomes with roots. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):44–48. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-44-48>

* **Corresponding author:** Marina N. Lyakina; Ljakina@expmed.ru

Лекарственные препараты на основе чемерицы Лобеля (*Veratrum Lobelianum* Bernh., сем. лилейных — *Liliaceae*) корневищ с корнями относятся к противопаразитарным (противопедикулезным) средствам растительного происхождения. Фармацевтическая субстанция «Чемерицы настойка», а также лекарственный препарат на ее основе, известный под торговым названием «Чемеричная вода», разрешен к медицинскому применению и используется наружно для уничтожения эктопаразитов. Лекарственный препарат отечественных производителей включен в Государственный реестр лекарственных средств¹.

Все части лекарственного растения содержат алкалоиды, преимущественно стероидной структуры: корни — до 2,4%, корневища — до 1,3%. Из корневищ с корнями чемерицы Лобеля выделены иервератровые алкалоиды, большинство которых ядовито: иеврин, рубииерин, изорубииерин, термин, гермидин, герменин, вератрамин; цевератровые алкалоиды: протоверин, протовератрины А и В [1–3].

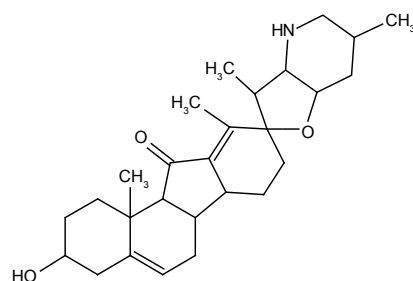
Алкалоиды чемерицы Лобеля обладают антипролиферативным и противовоспалительным действием, влияют на сердечно-сосудистую, нервную и желудочно-кишечную системы. Механизм токсического действия алкалоидов чемерицы связан с увеличением проницаемости натриевых каналов клеток, что оказывает возбуждающее действие, которое быстро сменяется функциональным истощением, брадикардией, гипотензией и апноэ. Механизм противопаразитарного действия обусловлен нейротоксическим действием алкалоидов чемерицы на половозрелые особи насекомых [4, 5].

В соответствии с принципом сквозной стандартизации установление подлинности лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции и лекарственного препарата следует проводить по одной и той же группе или группам биологически активных веществ, предпочтительно с использованием одного и того же метода [6]. В раздел «Подлинность» фармакопейной статьи «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» включены гистохимическая реакция с серной кислотой концентрированной и хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ) для определения стероидных алкалоидов². ФС 42-2142-94 «Настойка чемерицы» и ФС 42-1588-97 «Вода чемеричная» предусматривают оценку подлинности только с помощью цветных химических реакций на алкалоиды, для чего проводят анализ с хлороформным извлечением из субстанции или лекарственного препарата концентрированными серной и хлористоводородной кислотами. Указанные реакции являются специфическими для обнаружения данной группы

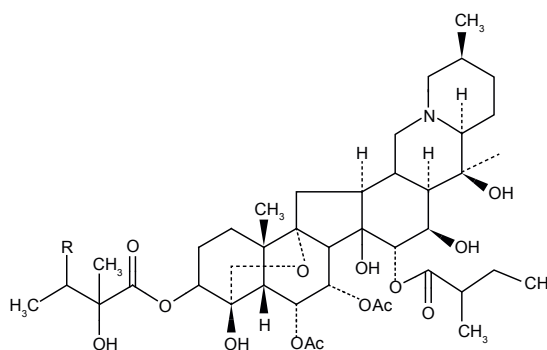
биологически активных веществ³. В литературе также приводится ТСХ-методика, позволяющая определять присутствие стероидных алкалоидов чемерицы в лекарственных средствах [1]. Значительная молекулярная масса и малая термическая стабильность алкалоидов чемерицы ограничивают использование для их идентификации других методов хроматографического анализа [2].

Учитывая вышесказанное, представляется целесообразным усовершенствовать методы стандартизации указанных лекарственных средств, в частности используемых для установления подлинности, и включить в фармакопейные стандарты на субстанцию и лекарственный препарат на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями унифицированную методику испытания с помощью метода высокоэффективной хроматографии в тонких слоях сорбента, характеризующуюся специфичностью и селективностью.

Цель работы — разработка методики идентификации стероидных алкалоидов методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии в лекарственном препарате «Чемеричная вода» и субстанции «Настойка чемерицы» на основе возможной унификации методики, используемой для оценки качества лекарственного растительного сырья чемерицы Лобеля корневища с корнями в соответствии с принципом «сквозной стандартизации».



иервин



протовератрин А: R = H;
протовератрин В: R = OH

¹ <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

² ФС.2.5.0104.18. Чемерицы Лобеля корневища с корнями. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. IV. М.; 2018.

³ Судебно-химическое определение вератрина в трупном материале. Информационное письмо Главного судмедэксперта МЗ СССР. М.; 1987.

Генри ТА. Химия растительных алкалоидов. М.: Госхимиздат; 1956.

ТСХ-методика, приведенная в разделе «Подлинность» ФС.2.5.0104.18 «Чемерицы Лобеля корневища с корнями», имеет ряд недостатков:

- отсутствует стадия очистки получаемого спиртового извлечения с помощью резкстракции или другим подходящим способом;

- локализацию зон адсорбции на хроматограмме проводят просматриванием в УФ-свете, что не является специфичным для данного класса биологически активных веществ.

Стероидные алкалоиды являются умеренно полярными соединениями, поэтому для их выделения следует использовать неполярные органические растворители: хлороформ или эфир с добавлением щелочи [1]. В связи с этим в ТСХ-методику определения подлинности лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции и лекарственного препарата на основе чемерицы Лобеля⁴ нами было предложено добавить стадию предварительной очистки, осуществляемой экстракцией стероидных алкалоидов эфиром, содержащим аммиака раствор 25%.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лекарственный препарат «Чемеричная вода», ООО «Тюльская фармацевтическая фабрика», серия 71018 (срок годности до 10.2020); фармацевтическая субстанция «Чемерицы настойка», ЗАО «Ярославская фармацевтическая фабрика», серия 300119 (срок годности до 02.2024); лекарственное растительное сырье «Чемерицы Лобеля корневища с корнями», производитель ООО «Хорст», серия 032020 (срок годности до 03.2022); лекарственное растительное сырье «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» («Антиалкогольный кукольник»), производитель «Данила Травник», без серии (срок годности до 02.2022).

Для исследований использовали ВЭТСХ-пластинку (пластинка для высокоэффективной тонкослойной хроматографии) со слоем силикагеля: Merck HPTLC Silica Gel 60 NX85224933 1.05633.0001; УФ-кабинет для ТСХ с системой документирования данных CAMAG® TLC Visualizer 2.

Для детектирования алкалоидов был использован более специфический реактив — раствор Драгендорфа модифицированный⁵ с последующим просмотром зон адсорбции в УФ-кабинете и при дневном свете для ТСХ с системой документирования данных CAMAG® TLC Visualizer 2.

Методика анализа

Приготовление испытуемого раствора 1. Около 1,0 г чемерицы Лобеля корневища с корнями, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл,

прибавляют 10 мл спирта 96% и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. Раствор охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр «черная лента». Фильтрат помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл воды, 1 мл аммиака раствора концентрированного 25% и экстрагируют эфиром два раза по 15 мл. Эфирные извлечения объединяют и фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 мл через предварительно смоченный эфиром бумажный фильтр, содержащий 2 г натрия сульфата безводного. Фильтр промывают 10 мл эфира. Эфир отгоняют на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 2,0 мл спирта 96%.

Приготовление испытуемого раствора 2. 25 мл «Чемерицы настойки» помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, прибавляют 25 мл воды, 1 мл аммиака раствора концентрированного 25% и экстрагируют эфиром два раза по 15 мл. Далее поступают аналогично приготовлению испытуемого раствора 1.

Приготовление испытуемого раствора 3. 25 мл «Чемеричной воды» помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, прибавляют 25 мл воды, 1 мл аммиака раствора концентрированного 25% и экстрагируют эфиром два раза по 15 мл. Далее поступают аналогично приготовлению испытуемого раствора 1.

На линию старта ВЭТСХ-пластинки со слоем силикагеля наносят в виде полосы длиной 10 мм и шириной не более 2 мм по 10 мкл испытуемого раствора 1 и испытуемого раствора 3, 5 мкл испытуемого раствора 2. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80–90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку просматривают при УФ-свете при длине волны 365 нм (рис. 1), затем обрабатывают реактивом Драгендорфа модифицированным и просматривают при дневном свете (рис. 2) в УФ-кабинете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты (рис. 1) свидетельствуют о схожести хроматографических профилей исследуемых образцов. На хроматограммах испытуемых растворов 1, 2 и 3, соответствующих фармацевтической субстанции, лекарственному препарату и лекарственному растительному сырью, в средней трети пластинки обнаруживаются три зоны адсорбции от оранжевого до красно-оранжевого цвета (стероидные алкалоиды) (рис. 2). На хроматограммах испытуемого раствора,

⁴ ФС.2.5.0104.18. Чемерицы Лобеля корневища с корнями. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. IV. М.; 2018.

⁵ ОФС.1.3.0001.15. Реактивы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

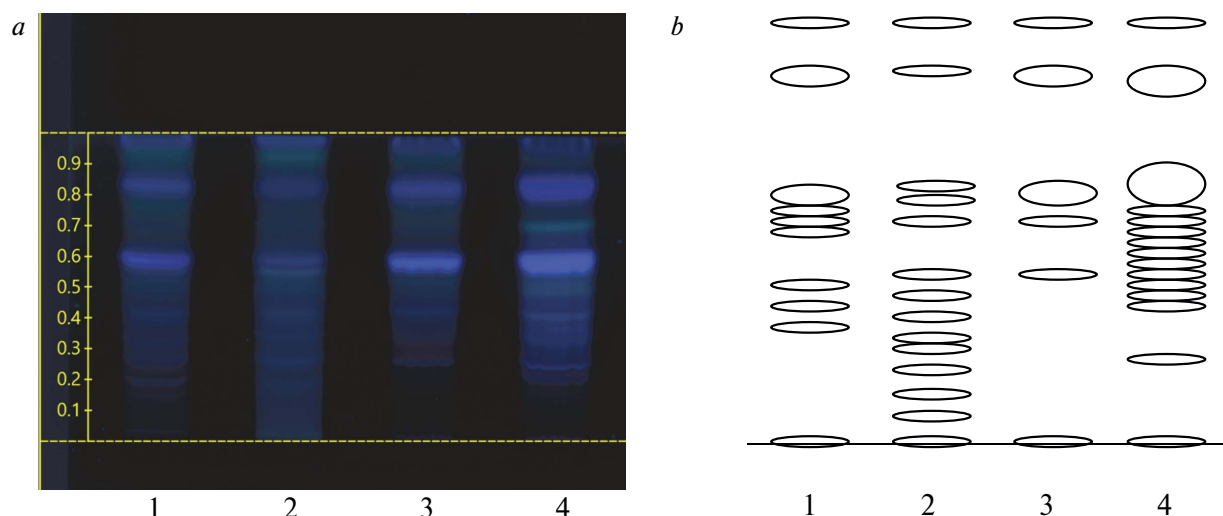


Рис. 1. Фотография (а) и схема (б) хроматограммы в УФ-свете: 1 — фармацевтическая субстанция «Чемерицы настойка»; 2 — лекарственный препарат «Чемеричная вода»; 3 — извлечение из лекарственного растительного сырья чемерицы Лобеля корневища с корнями (производитель ООО «Хорст»); 4 — извлечение из лекарственного растительного сырья Чемерицы Лобеля корневища с корнями (производитель «Данила Травник»)

Fig. 1. Photo (a) and scheme (b) of the chromatogram in UV light: 1—“Hellebore tincture” herbal substance; 2—“Hellebore water” herbal medicinal product; 3—extract of hellebore rhizomes with roots (herbal substance by Horst, OOO); 4—extract of hellebore rhizomes with roots (herbal substance by “Danila Travnik”)

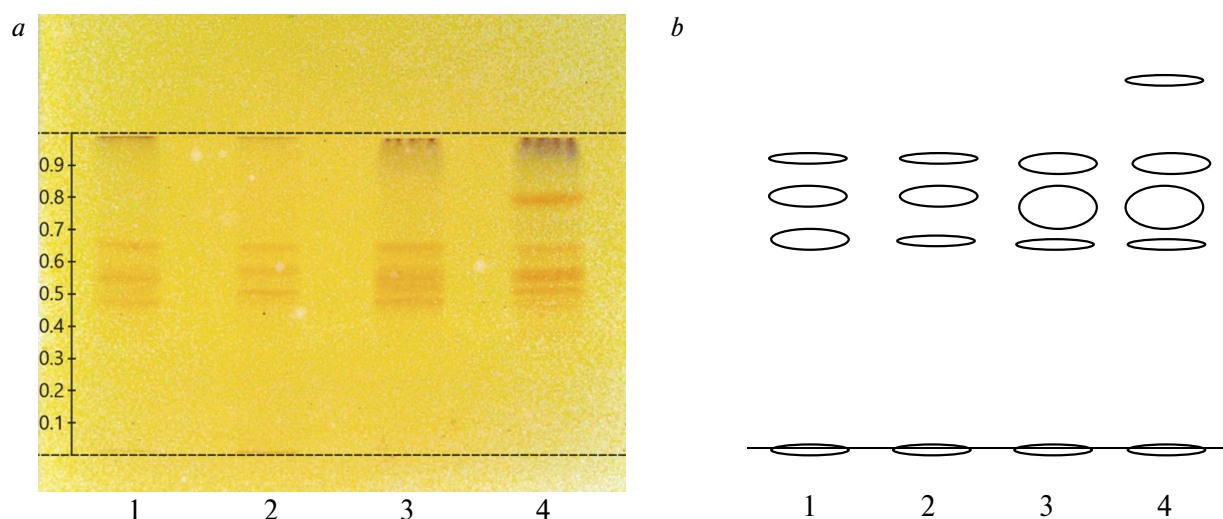


Рис. 2. Фотография (а) и схема (б) хроматограммы после обработки реактивом Драгендорфа модифицированным: 1 — фармацевтическая субстанция «Чемерицы настойка»; 2 — лекарственный препарат «Чемеричная вода»; 3 — извлечение из лекарственного растительного сырья Чемерицы Лобеля корневища с корнями (производитель ООО «Хорст»); 4 — извлечение из лекарственного растительного сырья Чемерицы Лобеля корневища с корнями (производитель «Данила Травник»)

Fig. 2. Photo (a) and scheme (b) of the chromatogram after treatment with modified Dragendorff's reagent: 1—“Hellebore tincture” herbal substance; 2—“Hellebore water” herbal medicinal product; 3—extract of hellebore rhizomes with roots (herbal substance by Horst, OOO); 4—extract of hellebore rhizomes with roots (herbal substance by “Danila Travnik”)

полученного из лекарственного растительного сырья, обнаруживаются большие по размеру и интенсивности окраски зоны адсорбции, чем на хроматограммах других образцов, а также отчетливо видны дополнительные одна или две зоны адсорбции красно-оранжевого цвета.

В соответствии с полученными результатами унифицированная нормативная часть для испытания лекарственного растительного

сырья, фармацевтической субстанции и лекарственного препарата методом ВЭТСХ может быть предложена в следующей редакции: «На хроматограмме испытуемого раствора в средней трети пластинки должны обнаруживаться не менее трех зон адсорбции от оранжевого до красно-оранжевого цвета (стероидные алкалоиды); допускается обнаружение других зон адсорбции». Указанная редакция нормативной части испытания должна

быть включена в соответствующие фармакопейные стандарты: фармакопейные статьи или их проекты на исследованные лекарственные средства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложена унифицированная методика установления подлинности лекарственных средств на основе чемерицы Лобеля корневищ с корнями (лекарственное растительное сырье, фармацевтическая субстанция и лекарственный препарат) методом ВЭТСХ по стероидным алкалоидам.

Вклад авторов. *Н. П. Антонова* — планирование эксперимента и подбор оптимальных условий хроматографирования; *И. М. Моргунов* — изучение хроматографического поведения биологически активных веществ объектов исследования в выбранных условиях и проведение экспериментальных исследований; *С. С. Прохвятилова* — обобщение результатов исследования и интерпретация результатов, формулировка выводов; *Е. П. Шефер* — обобщение результатов исследования и интерпретация результатов; *О. В. Евдокимова* — планирование эксперимента и постановка задач исследования; *А. В. Бекетова* — сбор и обобщение литературных данных, подготовка рабочей версии научной публикации; *М. Н. Лякина* — редактирование и переработка рукописи.

Authors' contributions. *Natalia P. Antonova*—planning of the experiment and selection of the optimal chromatographic conditions; *Igor M. Morgunov*—study of the chromatographic behavior of biologically active substances in the test samples under the selected conditions, conducting experimental studies; *Svetlana S. Prokhvatilova*—summarising and interpretation of the study results, formulation of conclusions; *Elena P. Shefer*—

На основе проведенных исследований подготовлены изменения для включения в раздел «Подлинность» ФС.2.5.0104.18 «Чемерицы Лобеля корневища с корнями (*Veratri Lobeliani rhizomata cum radicibus*)».

Разработанная методика предложена для включения в проекты фармакопейных статей «Чемерицы Лобеля корневищ с корнями настойка» и «Чемерицы Лобеля корневищ с корнями настойка, раствор для наружного применения» с целью последующего размещения в Государственной фармакопее Российской Федерации.

summarising and interpretation of the study results; *Olga V. Evdokimova*—planning of the experiment and setting the study objectives; *Anastasia V. Beketova*—collection and review of literature data, drafting the paper; *Marina N. Lyakina*—editing and revision of the paper.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

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

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Коломиец НЗ, Полуэктова ТВ, Малышев АЮ. Совершенствование характеристики подлинности корневищ с корнями чемерицы. *Фармация*. 2016;63(3):6–8. [Kolomiets NE, Poluektova TV, Malyshev AYU. Improvement of the characteristics of identity of hellebore (*Veratrum lobelianum* Bernh) rhizomes and roots. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2016;63(3):6–8. (In Russ.)]
2. Орлова ТН, Григорьев АМ, Крупина НА. Случай из практики. Отравление алкалоидами чемерицы (постер). *Судебная медицина*. 2016;2(2):119–20. [Orlova TN, Grigoriev AM, Krupina NA. A case from practice. Poisoning with false alkaloids (poster). *Sudebnaya meditsina = Russian Journal of Forensic Medicine*. 2016;2(2):119–20. (In Russ.)]
3. Shakirov R. New C-nor, D-homosteroid alkaloid germinine from *Veratrum lobelianum*. *Chem Nat Compd*. 1997;33(4):479–80. <https://doi.org/10.1007/BF02282370>
4. Мишина ТП, Лукьянова ИЮ, Бидерман ФМ, Афанасьева ИВ. Отравление чемерицей. *Скорая медицинская помощь*. 2013;14(3):48–51. [Mishina TP, Lukyanova IYu, Biederman FM, Afanaseva IV. Poisoning hellebore. *Skoraya meditsinskaya pomoshch = Emergency Medical Care*. 2013;14(3):48–51. (In Russ.)]
5. Christov V, Mikhova B, Ivanova A, Serly J, Molnar J, Selenge D, et al. Steroidal alkaloids of *Veratrum lobelianum* Bernh. and *Veratrum nigrum* L. *Z Naturforsch C J Biosci*. 2010;65(3–4):195–200. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-3-405>
6. Самылина ИА. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств. В кн.: *Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты. Материалы I Международного научного конгресса*. М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ; 1994. С. 254. [Samylina IA. Problems of standardization of medicinal plants and herbal medicines. In: *Traditional medicine and nutrition: theoretical and practical aspects. Materials of the 1st International Scientific Congress*. Moscow: Institut traditsionnykh metodov lecheniya MZ RF; 1994. P. 254. (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Антонова Наталья Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Antonova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Моргунов Игорь Михайлович. *Igor M. Morgunov*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3907-3456>

Прохвятилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук. *Svetlana S. Prokhvatilova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Shefer*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

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

Бекетова Анастасия Викторовна, канд. фарм. наук. *Anastasia V. Beketova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6975-516X>

Лякина Марина Николаевна, д-р фарм. наук, старший научный сотрудник. *Marina N. Lyakina*, Dr. Sci. (Pharm.), Senior Researcher. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8220-1054>

Статья поступила 14.07.2020

После доработки 15.01.2021

Принята к печати 20.02.2021

Article was received 14 July 2020

Revised 15 January 2021

Accepted for publication 20 February 2021

Проблемы использования метода БИК-спектрометрии для установления подлинности действующего вещества в лекарственных препаратах

Н. Е. Кузьмина, С. В. Моисеев*, Б. К. Романов

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

Резюме. Метод спектрометрии в ближней ИК-области (БИК) является новым фармакопейным методом, который широко используется в фармацевтической промышленности для контроля качества лекарственных средств на различных стадиях в процессе производства (контроль входного сырья и готовой продукции), а также для выявления некачественных и фальсифицированных препаратов. **Цель работы:** изучение возможности применения метода БИК-спектрометрии для установления подлинности действующего вещества в лекарственном препарате (ЛП) при проведении экспертизы качества в рамках государственной регистрации. **Материалы и методы:** в качестве объектов исследования методом БИК-спектрометрии использовали 327 образцов ЛП в твердых и мягких лекарственных формах, которые прошли испытание по показателю «Подлинность» утвержденными фармакопейными методами в ходе проведения лабораторной экспертизы при государственной регистрации. БИК-спектры испытуемых образцов сравнивали с библиотечными классификационными моделями. **Результаты:** подлинность подтверждена для 3,1% ЛП, направленных на испытание методом БИК-спектрометрии. Установлено, что библиотечные классификационные модели можно использовать лишь для подтверждения подлинности ЛП конкретного производителя, то есть для подтверждения аутентичности препарата. **Выводы:** метод БИК-спектрометрии нецелесообразно применять для подтверждения подлинности действующего вещества в ЛП при проведении лабораторной экспертизы в рамках государственной регистрации. Основные ограничения метода БИК-спектрометрии в этой области связаны с отсутствием библиотек с полным набором библиотечных классификационных моделей всех ЛП, представленных на фармацевтическом рынке, и с невозможностью библиотечных спектральных данных, зарегистрированных на другом приборе. **Ключевые слова:** БИК-спектрометрия; подлинность действующего вещества; аутентичность лекарственного препарата; внутрипроизводственный контроль; контроль качества готовой продукции

Для цитирования: Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Романов БК. Проблемы использования метода БИК-спектрометрии для установления подлинности действующего вещества в лекарственных препаратах. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):49–54. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-49-54>

* **Контактное лицо:** Моисеев Сергей Владимирович; MoiseevSV@expmed.ru

Limitations of NIR Spectrometry as an Identification Test for Active Ingredients in Medicinal Products

N. E. Kuz'mina, S. V. Moiseev*, B. K. Romanov

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

Abstract. Near-infrared spectrometry (NIRS) is a new pharmacopoeial method. It is widely used in the pharmaceutical industry for quality control of medicinal products at various production stages (control of raw materials and finished products), and for detection of substandard and counterfeit drugs. **The aim of the study** was to assess the feasibility of using NIRS as an identification test for active ingredients during pre-marketing quality control of medicinal products. **Materials and methods:** 327 drugs samples represented as solid and semisolid dosage forms were tested by NIRS following their examination by well-established pharmacopoeial Identification methods during pre-marketing laboratory evaluation. The NIR spectra of the test samples were compared with the spectral library classification models. **Results:** NIRS confirmed the identity of 3.1% of the tested medicinal products. It was demonstrated that library classification models could be used for identification of only those medicines that were produced by a specific manufacturer, i.e. for confirmation of medicine identity. **Conclusions:** the NIRS method is impractical as an Identification test for active ingredients in medicinal products during the pre-marketing laboratory evaluation stage. The main limitations of NIRS are lack of complete sets of library classification models for all medicinal products available in the market and non-reproducibility of spectral library data obtained with a different instrument.

Key words: near-infrared spectrometry; active ingredient identification; medicinal product identification; in-process control; finished product quality control

For citation: Kuz'mina NE, Moiseev SV, Romanov BK. Limitations of NIR spectrometry as an identification test for active ingredients in medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):49–54. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-49-54>

* **Corresponding author:** Sergey V. Moiseev; MoiseevSV@expmed.ru

Процесс государственной регистрации лекарственного препарата (ЛП) в Российской Федерации включает в себя проведение лабораторной экспертизы качества, при которой одним из важнейших показателей является установление подлинности действующего вещества в ЛП. Как правило, оценку этого показателя проводят современными инструментальными физико-химическими методами: спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), хроматомасс-спектрометрия, спектроскопия в инфракрасной (ИК) и ультрафиолетовой (УФ) областях спектра, газовая хроматография (ГХ), тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Новым фармакопейным методом количественного и качественного анализа является метод спектрометрии в ближней ИК-области¹ (БИК), основанный на способности веществ поглощать электромагнитное излучение в диапазоне длин волн от 12 500 до 4000 см⁻¹ (от 780 до 2500 нм). Абсорбционная способность веществ в ближней области инфракрасного спектра мала, поэтому излучение способно проникать в испытуемый образец на глубину нескольких миллиметров и предоставлять комплексную информацию о ЛП. Это позволяет проводить испытания твердых лекарственных форм без выполнения пробоподготовки образца (извлечения из упаковки, измельчения, разбавления и т.д.) и нарушения товарного вида испытуемого препарата.

Метод БИК-спектрометрии широко используется в фармацевтической промышленности для внутрипроизводственного контроля на различных стадиях (контроль входного сырья и готовой продукции), а также для выявления некачественных, фальсифицированных и субстандартных (имеющих скрытые признаки нарушения технологии производства) препаратов [1–4]. С 2011 г. метод БИК-спектрометрии используется в системе государственного контроля качества лекарственных средств на территории Российской Федерации [5].

Цель работы — изучение возможности применения метода БИК-спектрометрии для установления подлинности действующего вещества в ЛП при проведении экспертизы качества в рамках государственной регистрации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на основе анализа данных литературы и результатов экспериментальных работ с участием ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) и ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения

средств медицинского применения» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения (ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора). В качестве объектов исследования использовали 327 образцов ЛП различных лекарственных форм (таблетки, капсулы, порошки, мази, гели, аэрозоли), поступивших на экспертизу в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и прошедших испытание по показателю «Подлинность». БИК-спектры испытуемых образцов без предварительного извлечения ЛП из упаковки получены на стационарном ИК-Фурье-спектрометре FT-NIR MPA II (Bruker, Германия) с помощью оптоволоконного датчика методом диффузного отражения. Разрешение — 8 см⁻¹, количество сканов — 16, область измерения — от 780 до 2500 нм, фазовое разрешение — 32, интерполяция — 2, базовая линия — по эталону из тефлона. Обработку результатов проводили визуально и хемометрическими методами с помощью пакетов программ TQ Analyst, OPUS 6.5, The Unscrambler 9.2. Подлинность ЛП устанавливали путем сравнения БИК-спектров испытуемых образцов с библиотечными классификационными моделями ЛП. Библиотечные классификационные модели были созданы с использованием образцов ЛП, поступивших в ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Процедура установления подлинности действующего вещества фармакопейными физико-химическими методами включает в себя доказательство строения его молекулы (методы ЯМР, хроматомасс-спектрометрии, ИК- и УФ-спектроскопии) либо доказательство его определенного свойства, например способности адсорбироваться на носителе (методы ТСХ, ГХ и ВЭЖХ). На ЯМР-, масс-, ИК- и УФ-спектрах каждый сигнал (пик) соответствует определенному структурному фрагменту молекулы, а его положение отражает последовательность соединения структурных фрагментов в молекуле. На хроматограммах, полученных методами ТСХ, ГХ и ВЭЖХ, каждый сигнал (пик) соответствует конкретному соединению, которое характеризуется определенной адсорбционной способностью и, как следствие, определенным временем появления пика на хроматограмме. Интенсивность сигналов (пиков) позволяет количественно оценить содержание вещества в ЛП. Подтверждение подлинности действующего вещества в ЛП этими методами осуществляется путем сопоставления спектра (хроматограммы) испытуемого ЛП со спектром (хроматограммой) стандартного образца (СО) или субстанции действующего вещества. Нередко на практике действующее вещество предварительно выделяют из пробы ЛП, и его спектр (хроматограмма) сравнивают со спектром

¹ ОФС.1.2.2.1.1.0001.15. Спектрометрия в ближней инфракрасной области. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

(хроматограммой) СО. При этом полученный спектр характеризует только само действующее вещество и не зависит от производителя и технологических особенностей производства ЛП.

Метод БИК-спектроскопии позволяет установить подлинность действующего вещества в ЛП при сравнении со спектром СО этого вещества или субстанции только в случае высокого (не менее 40%)² содержания действующего вещества в препарате [6]. В общем случае методом БИК-спектроскопии подтверждают не подлинность действующего вещества, а аутентичность ЛП (тот факт, что препарат произведен конкретным производителем, который указан на упаковке, и соответствует заявленному составу). При этом ЛП рассматривают как объект в целом, а не только его качественный состав или количественное содержание действующего вещества. Такая процедура проверки называется верификацией [7]. Применение метода БИК-спектроскопии для верификации ЛП основано не на сравнении спектров испытуемого и стандартного образцов, а на сравнении спектра испытуемого образца с моделью ЛП. Под моделью понимается упрощенное подобие реального объекта, которое может быть использовано для его дальнейшего исследования. В качестве реального объекта подразумевается конкретный ЛП, при производстве которого могут иметь место особенности состава, технологического процесса и упаковки. Построение и валидация математической модели является ключевой задачей в методе БИК-спектроскопии. На первом этапе формируют обучающий набор из аутентичных образцов и получают их БИК-спектры в оптимальных условиях измерения. На основе обработки этих спектров с помощью хемометрических методов анализа строят модель распознавания подобных образцов, или модель целевого класса (библиотечная классификационная модель). Каждый целевой класс моделируется обособленно, независимо от остальных. При этом определяется область принятия решений. Если образец попадает в границы построенной области, он признается принадлежащим к целевому классу. Все образцы, выпадающие за границу области принятия решений, рассматриваются как «чужие». На втором этапе проводится валидация построенной модели. Ее проводят на проверочном наборе, который содержит образцы, идентичные образцам проверяемой модели, но не участвующие в ее построении, и «чужие» образцы. Основными параметрами валидации библиотечных классификационных моделей являются чувствительность (степень признания образцов целевого класса) и специфичность (степень отклонения «чужих» образцов, т.е. не принадлежащих к целевому классу).

Среди ЛП, которые ежегодно регистрируются в России, большую часть составляют воспроизведенные лекарственные средства. Их доля на российском фармацевтическом рынке в 2017 г. составляла 88% [8]. При производстве воспроизведенных лекарственных средств обычно используется другой состав вспомогательных веществ, отличаются технологии производства основных и вспомогательных компонентов ЛП. Разнообразие представленной на рынке продукции с одним и тем же действующим веществом порождает проблему получения ложноотрицательного результата при подтверждении подлинности действующего вещества ЛП методом БИК-спектроскопии, когда в категорию «чужой» попадают образцы с тем же действующим веществом, той же дозировкой, что и ЛП из обучающего набора, но произведенные по другой технологии. В литературе представлены примеры различающихся БИК-спектров ЛП с одинаковым действующим веществом, полученных с использованием различных технологических схем и отличающихся набором вспомогательных веществ и/или компонентов оболочки. Так, выявлены различия в БИК-спектрах таблеток фамотицина [9], ацетилсалициловой кислоты [6], сульфалена [10], капсул и таблеток омепразола [11] разных производителей, и на основании полученных результатов сделано предположение о возможности использования БИК-спектроскопии для идентификации производителя. Этими же авторами отмечены достоверные различия между БИК-спектрами ЛП внутри серий и между сериями препарата одного и того же производителя. Авторы [6] проиллюстрировали различия в БИК-спектрах различных серий таблеток ацетилсалициловой кислоты одного производителя.

В работе [7] показано, что спектры таблеток амлодипина, зарегистрированные на стационарном БИК-спектрометре, различны и группируются по производителям. Использование портативного прибора с меньшей чувствительностью позволило все таблетки амлодипина независимо от производителя отнести к целевому классу ЛП амлодипина, но не позволило выявить настоящий фальсификат (таблетки нифедипина, близкого по строению к амлодипину).

Таким образом, в отличие от спектра и хроматограммы СО действующего вещества, которые можно использовать для его идентификации во всех ЛП на основе данного действующего вещества независимо от его концентрации, лекарственной формы, состава и соотношения вспомогательных веществ, упаковки, библиотечную классификационную модель можно использовать лишь для подтверждения подлинности ЛП конкретного производителя (аутентичности ЛП), что существенно усложняет

² Долбнев ДВ. Идентификация лекарственных средств методом ближней инфракрасной спектроскопии: дис. ... канд. фарм. наук. М.: 2010.

задачу идентификации действующего вещества методом БИК-спектроскопии. Для исключения возможности получения ложноотрицательного результата необходимо формировать библиотеки, содержащие библиотечные классификационные модели для всех ЛП, представленных на фармацевтическом рынке. Это долгий процесс с учетом того, что БИК-спектры воспроизводятся только в случае применения конкретного спектрометра. Например, авторы работы [7] показали различия БИК-спектров коммерческого стандарта MRC-1920, состоящего из оксидов редкоземельных металлов и талька в нейтральной матрице, зарегистрированных на двух различных ИК-спектрометрах: стационарном Фурье-спектрометре FT-NIR MPA II (Bruker, Германия) и портативном БИК-спектрометре PHAZIR-RX (Thermo Scientific, США).

При использовании библиотечных спектральных данных на другом приборе необходимо проводить коррекцию отклика прибора и подтверждать достоверность работы библиотеки после переноса, что отмечают все производители БИК-спектрометров. Более того, существующие модели необходимо постоянно перестраивать, чтобы избежать ложноотрицательного результата из-за неоднородности технологических параметров. Ряд авторов предлагают постоянно пополнять обучающий набор образцами, произведенными в текущем году. Для того чтобы модель не содержала избыточного числа образцов, старые образцы по мере окончания их срока годности надо исключать из обучающего набора [12]. Отдельная проблема возникает при регистрации оригинального ЛП с новым действующим веществом, для которого не может быть библиотечных классификационных моделей в электронных БИК-библиотеках. Таким образом, отсутствие библиотек с полным набором чувствительных и специфичных библиотечных классификационных моделей всех ЛП, представленных на фармацевтическом рынке, является серьезной проблемой, ограничивающей применение метода БИК-спектроскопии в рамках государственной регистрации для проведения экспертизы качества ЛП по показателю «Подлинность».

Наличие этой проблемы подтверждают результаты исследования по установлению подлинности ЛП методом БИК-спектроскопии, проводимого по инициативе ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России на базе ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора и заключающегося в сопоставлении БИК-спектров испытуемых образцов с библиотечными классификационными моделями. Например, среди испытуемых образцов было 17 ЛП на основе урсодезоксихолевой кислоты с различной дозировкой действующего вещества (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, и капсулы, упакованные

во флакон, блистер или полиэтиленовую банку). Из них только четыре прошли испытание на подлинность, так как для этих ЛП нашлись соответствующие библиотечные классификационные модели в библиотеке БИК-спектрометра. Остальные ЛП с тем же действующим веществом испытание не прошли. Из трех ЛП на основе панкреатина испытание на подлинность (соответствовали существующим библиотечным классификационным моделям) прошли только два. Подтвердить подлинность третьего ЛП не удалось ввиду отсутствия в библиотеке соответствующей модели.

В целом из 327 образцов ЛП, направленных на испытание методом БИК-спектроскопии (262 торговых наименования), лишь 10 образцов (3,1%) соответствовали библиотечным классификационным моделям (подлинность ЛП подтверждена), для 317 образцов ЛП в библиотеке БИК-спектрометра отсутствовали необходимые модели. Из 262 торговых наименований ЛП только для 8 были построены соответствующие библиотечные классификационные модели, 7 имели очевидные ограничения для построения модели из-за непрозрачности их упаковки. Для оставшихся 247 наименований ЛП Росздравнадзору предстоит провести дальнейшую работу по оценке возможности построить библиотечные квалификационные модели.

Согласно полученным экспериментальным данным метод БИК-спектроскопии можно использовать для подтверждения различий нескольких дозировок одного и того же препарата при условии, что в библиотеке присутствуют библиотечные классификационные модели, соответствующие каждой дозировке. Проводить количественное определение действующего вещества в препаратах разных производителей этим методом затруднительно, так как не наблюдается четкой зависимости между дозировкой и интенсивностью полос поглощения³. Как правило, оценку содержания действующего вещества в ЛП методом БИК-спектроскопии проводят при внутрипроизводственном контроле, в частности, на стадии фасовки и упаковки с целью предотвращения перепутывания одноименной продукции разной дозировки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод БИК-спектроскопии обладает уникальными возможностями для оценки аутентичности ЛП как единого целого, так как позволяет быстро дифференцировать препараты, различающиеся не только действующим веществом и его дозировкой, но и составом вспомогательных веществ и упаковкой. Поэтому помимо контроля в процессе производства и контроля качества готовой продукции на этапе выпуска препарата данный метод незаменим при скрининге качества лекарственных средств

³ Долбнев ДВ. Идентификация лекарственных средств методом ближней инфракрасной спектроскопии: дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2010.

непосредственно в организациях оптового, розничного, госпитального сегментов рынка. Метод БИК-спектроскопии целесообразно использовать для проверки сведений о сериях, партиях лекарственных средств, поступающих в гражданский оборот в России. В то же время метод БИК-спектроскопии не предназначен для решения такой задачи лабораторной экспертизы, как подтверждение подлинности действующего вещества в ЛП, проходящем государственную регистрацию. Основные ограничения метода БИК-спектроскопии в области идентификации действующего вещества связаны с отсутствием библиотек с полным набором библиотечных классификационных моделей всех ЛП, представленных на фармацевтическом рынке, и с невозможностью библиотечных спектральных данных, зарегистрированных на другом приборе.

Вклад авторов. *Н. Е. Кузьмина* — планирование исследования, анализ литературы, интерпретация результатов исследования, подготовка и оформление рукописи; *С. В. Моисеев* — систематизация данных, редактирование текста; *Б. К. Романов* — идея, ответственность за все аспекты работы, включая надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

Authors' contributions. *Natalia E. Kuz'mina*—planning of the study, literature review, interpretation of the study results, drafting and formatting of the paper; *Sergey V. Moiseev*—data systematisation, editing of the text;

Boris K. Romanov—elaboration of the study idea, carrying responsibility for all aspects of the study, including ensuring data reliability and integrity of all parts of the paper, approval of the final version of the paper.

Благодарности. Выражаем благодарность начальнику отдела ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора, доктору фарм. наук, профессору А. В. Титовой за помощь в получении экспериментальных данных.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

Acknowledgements. The authors are grateful to Anna V. Titova, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of Department of the Federal State Budgetary Institution "Information and Methodological Centre for Evaluation, Traceability and Analysis of Marketed Medicinal Products" of the Federal Service for Surveillance in Healthcare, for her help in obtaining the experimental data.

The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

Конфликт интересов. Б. К. Романов является заместителем главного редактора журнала «Вестник ИМЦЭУАОСМП», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Boris K. Romanov is a Deputy Editor-in-chief of "The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products", the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Roggo Y, Chalus P, Maurer L, Lema-Martinez C, Edmond A, Jent N. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;44(3):683–700. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2007.03.023>
2. Rodionova OYe, Sokovikov YaV, Pomerantsev AL. Quality control of packed raw materials in pharmaceutical industry. *Anal Chim Acta.* 2009;642(1–2):222–7. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.08.004>
3. Pomerantsev AL, Rodionova OYe. Process analytical technology: a critical view of the chemometricians. *J Chemometrics.* 2012;26:299–310. <https://doi.org/10.1002/cem.2445>
4. Арзамасцев АП, Садчикова НП, Титова АВ. Метод ближней ИК-спектроскопии в системе контроля качества лекарственных средств (обзор). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2010;(1):16–20. [Arzamastsev AP, Sadchikova NP, Titova AV. Near-infrared spectroscopy in the drug quality control system (a review). *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2010;(1):16–20 (In Russ.)]
5. Косенко ВВ, Трапкова АА, Тарасова СА. Организация государственного контроля качества лекарственных средств на базе федеральных лабораторных комплексов. *Вестник Росздравнадзора.* 2012;(6):17–27. [Kosenko VV, Trapkova AA, Tarasova SA. State quality control of drugs with the help of federal laboratory facilities. *Vestnik Roszdravnadzora = Roszdravnadzor Bulletin.* 2012;(6):17–27 (In Russ.)]
6. Балыклова КС, Титова АВ, Садчикова НП, Родионова ОЕ, Шишова ЕЮ, Скударева ЕГ, Горпинченко НВ. Анализ таблеток ацетилсалициловой кислоты методом ИК-спектроскопии в ближней области. *Вестник Росздравнадзора.* 2013;(2):62–5. [Balyklova KS, Titova AV, Sadchikova NP, Rodionova OE, Shishova EYu, Skudareva EG, Gorpichenko NV. A study of acetylsalicylic acid tablets using near IR spectroscopy. *Vestnik Roszdravnadzora = Roszdravnadzor Bulletin.* 2013;(2):62–5 (In Russ.)]
7. Балыклова КС, Родионова ОЕ, Титова АВ, Садчикова НП. Исследование таблеток с помощью портативного и лабораторного БИК-спектрометра. *Вестник Росздравнадзора.* 2015;(4):65–71. [Balyklova KS, Rodionova OE, Titova AV, Sadchikova NP. Use of a portable and laboratory near infrared spectrometer for the authentication of tablets. *Vestnik Roszdravnadzora = Roszdravnadzor Bulletin.* 2015;(4):65–71 (In Russ.)]
8. Улумбекова ГЭ, Калашникова АВ. Подходы к формированию концепции национальной лекарственной политики. Часть 1. Анализ рынка лекарственных препаратов в РФ. *Вестник ВШОУЗ.* 2018;(4):53–75. [Ulumbekova GE, Kalashnikova AV. Approaches to the formation of the concept of National pharmaceutical policy. Part I. Analysis of the pharmaceutical market in the Russian Federation. *Vestnik VSHOUZ = Bulletin of VSHOUZ.* 2018;(4):53–75 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24411/2411-8621-2018-14003>
9. Степанова ЕВ, Арзамасцев АП, Титова АВ. Изучение возможности применения метода спектроскопии в ближней инфракрасной области в анализе субстанций и таблетированных препаратов, содержащих фамотидин. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2009;(2):181–4. [Stepanova EV, Arzamastsev AP, Titova AV. Study the possibility of using near IR-spectroscopy for analysis of famotidine and its tablets. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2009;(2):181–4 (In Russ.)]
10. Балыклова КС, Садчикова НП, Арзамасцев АП, Титова АВ. Использование метода ближней инфракрасной спектроскопии в анализе субстанций и таблеток сульфалена. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2009;(1):97–100. [Balyklova KS, Sadchikova NP, Arzamastsev AP, Titova AV. Using near IR-spectroscopy for analysis of sulfalen and its dosage forms. *Vestnik Voronezhskogo*

- gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2009;(1):97–100 (In Russ.)]
11. Азимова ИД, Арзамасцев АП, Титова АВ. Анализ омепразола методом ближней инфракрасной спектроскопии. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2009;(2):152–6. [Analysis of omeprazole by near IR-spectroscopy. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2009;(2):152–6 (In Russ.)]
12. Верескун ДА, Родионова ОЕ, Титова АВ. Изучение возможности использования БИК-спектроскопии в анализе таблеток комбинированного противомикробного препарата. *Вестник Росздравнадзора*. 2016;(2):62–6. [Vereskun DA, Rodionova OE, Titova AV. A research into the possibility of using NIR spectroscopy for analyzing tablets of a combination antimicrobial agent. *Vestnik Roszdravnadzora = Roszdravnadzor Bulletin*. 2016;(2):62–6 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кузьмина Наталья Евгеньевна, д-р хим. наук. *Natalia E. Kuz'mina*, Dr. Sci. (Chem.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
Моисеев Сергей Владимирович, канд. хим. наук, доцент. *Sergey V. Moiseev*, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>
Романов Борис Константинович, д-р мед. наук, доцент. *Boris K. Romanov*, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5429-9528>

Статья поступила 07.12.2020
После доработки 22.01.2021
Принята к печати 20.02.2021

Article was received 7 December 2020
Revised 22 January 2021
Accepted for publication 20 February 2021

Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения бронхиальной астмы

Е. С. Петрова, Д. В. Горячев, А. Д. Кузнецова*

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. Необходимость разработки руководства по клиническим исследованиям препаратов для лечения бронхиальной астмы связана с совершенствованием требований к программам изучения новых лекарственных препаратов. Цель работы — формирование методического подхода, гармонизированного с существующими международными требованиями, к проведению в Российской Федерации клинических исследований препаратов для лечения бронхиальной астмы. Проведен анализ нормативной документации по разработке лекарственных средств для лечения бронхиальной астмы у взрослых с учетом действующих клинических рекомендаций, рассмотрены особенности разработки лекарственных средств для лечения бронхиальной астмы у детей. Проанализированы некоторые аспекты клинических исследований, связанных с развитием иммунотерапии. На основании результатов анализа актуализированных отечественных и международных клинических рекомендаций по лечению бронхиальной астмы, сфокусированных на управлении течением бронхиальной астмы на основе базового контроля, обоснована необходимость учета пересмотренных концепций заболевания и использования новых переменных для оценки эффективности препаратов для терапии бронхиальной астмы. Сформулированы единые подходы по планированию программы клинических исследований препаратов для лечения бронхиальной астмы и представлена методология проведения таких исследований, основанные на рекомендациях Европейского агентства по лекарственным средствам.

Ключевые слова: клиническое исследование; бронхиальная астма; первичная конечная точка; популяция исследования; оценка эффективности и безопасности

Для цитирования: Петрова ЕС, Горячев ДВ, Кузнецова АД. Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения бронхиальной астмы. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(1):55–69. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-55-69>

* **Контактное лицо:** Кузнецова Анна Дмитриевна; kuznetsovaad@expmed.ru

Planning a Clinical Development Programme for Medicines for Bronchial Asthma

E. S. Petrova, D. V. Goryachev, A. D. Kuznetsova*

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

Abstract. The need for development of a clinical trial guidance for medicines for bronchial asthma is brought about by the improvement of requirements for research programmes for new medicines. The aim of the study was to develop a methodological approach to conducting clinical trials of bronchial asthma medicines in Russia in line with the existing international requirements. The authors analysed regulatory documentation on the development of medicines for treatment of bronchial asthma in adults taking into account the current clinical guidelines, and specific aspects of developing medicines for treatment of bronchial asthma in children. The paper also analyses some clinical research aspects related to the development of immunotherapy. The analysis of up-to-date Russian and international clinical guidelines for bronchial asthma treatment, which are focused on bronchial asthma management using basic therapy, revealed the need to use revised disease concepts and new criteria to assess the efficacy of asthma medicines. The authors formulated consistent approaches to planning a clinical development programme for medicines for bronchial asthma, and suggested methodology for conducting clinical research based on recommendations of the European Medicines Agency.

Key words: clinical trial; bronchial asthma; primary endpoint; study population; efficacy and safety assessment

For citation: Petrova ES, Goryachev DV, Kuznetsova AD. Planning a clinical development programme for medicines for bronchial asthma. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(1):55–69. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-55-69>

* **Corresponding author:** Anna D. Kuznetsova; kuznetsovaad@expmed.ru

Бронхиальная астма (БА), которой страдают от 1 до 18% населения в разных странах мира, по-прежнему остается социально-экономическим бременем для здравоохранения¹. Распространенность БА в России составляет 6–6,9% у взрослых и 8–10% в детской популяции [1, 2]. Продолжительность и интенсивность лечения зависят от тяжести заболевания. Терапия часто необходима пациентам в молодом возрасте и продолжается в течение многих лет, в связи с чем ее долговременная безопасность требует постоянного подтверждения [3].

Актуальной задачей является разработка новых лекарственных средств, повышающих эффективность лечения больных БА. Диагностика и лечение БА у взрослых и детей, как правило, осуществляются в соответствии со ступенчатым подходом, описанным в руководствах по клинической практике². Национальные рекомендации по диагностике и лечению БА, в том числе рекомендации Российского респираторного общества, базируются на принципах глобальной стратегии лечения и профилактики астмы (Global Initiative for Asthma, GINA; Global Strategy for Asthma Management and Prevention). Подробные рекомендации по диагностике и лечению БА согласованы по основным вопросам несколькими странами Европейского союза и США. Эти руководящие документы предоставляют справочную информацию для клинического исследования (КИ) лекарственных средств для лечения БА³ [4, 5]. Коллегией Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) рекомендовано применять «Руководство по подготовке клинической документации (проведению клинических исследований, подтверждению терапевтической эквивалентности) в отношении лекарственных препаратов для ингаляций, применяемых для лечения бронхиальной астмы у взрослых, подростков и детей и хронической обструктивной болезни легких у взрослых»⁴, которое содержит описание принципов и подходов к проведению КИ в рамках требований демонстрации терапевтической эквивалентности ингаляционных препаратов. Однако в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют методические подходы к КИ новых лекарственных препаратов для лечения БА. В отличие от рекомендаций ЕЭК, касающихся воспроизведенных ингаляционных препаратов, применяемых для лечения БА и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), опубликованное в 2015 г.

руководство⁵ Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency) предлагает единый подход к планированию КИ всего спектра новых лекарственных средств, применяемых для лечения БА, не ограничиваясь воспроизведенными ингаляционными препаратами, и последующую стандартизированную оценку полученных результатов.

Цель работы — формирование методического подхода, гармонизированного с существующими международными требованиями, к проведению в Российской Федерации клинических исследований препаратов для лечения БА.

БА — хроническое воспаление дыхательных путей, вызванное сочетанием генетических и экологических факторов. БА характеризуется гиперреактивностью бронхов, переменными и повторяющимися симптомами, такими как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, проявляющимися совместно с вариабельным ограничением скорости воздушного потока. БА является гетерогенным заболеванием по своим проявлениям, а также по ответу на лечение. Описано несколько клинических и воспалительных фенотипов астмы⁶ [6–9], включая, например, аллергическую БА, неаллергическую БА, БА с поздним дебютом, БА с фиксированной (не полностью обратимой) обструкцией дыхательных путей, БА, связанную с ожирением, тяжелую неатопическую БА с частыми обострениями, трудно поддающуюся лечению. Фенотип БА дополнительно уточняется путем выявления эндотипов, классификация которых основана на патофизиологических механизмах, например аспирино-обусловленное обострение респираторных симптомов и нейтрофильная астма. Для пациентов, имеющих выраженные в равной степени признаки и БА, и ХОБЛ, был предложен термин «синдром перекреста БА-ХОБЛ» (asthma-COPD overlap syndrome, ACOS)⁷. Продолжаются дальнейшие исследования популяционных групп БА с целью определения и подтверждения ее различных фенотипов.

В настоящее время тяжесть БА определяется как трудность контроля БА с помощью лечения. Соответственно степень тяжести БА зависит от объема терапии, необходимого для ее контроля.

Основной целью лечения БА является достижение и поддержание контроля над астмой. Понятие «контроль астмы» не является синонимом «тяжести

¹ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020. <http://www.ginasthma.com>

² Клинические рекомендации. Бронхиальная астма. Российское респираторное общество. 2018.

³ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

⁴ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 января 2020 г. № 1 «О Руководстве по подготовке клинической документации (проведению клинических исследований, подтверждению терапевтической эквивалентности) в отношении лекарственных препаратов для ингаляций, применяемых для лечения бронхиальной астмы у взрослых, подростков и детей и хронической обструктивной болезни легких у взрослых».

⁵ European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

⁶ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

⁷ Там же.

астмы» и определяется как степень, в которой различные проявления БА были уменьшены или устранены в результате лечения. Эта концепция включает в себя два компонента: недавний клинический статус пациента / текущее состояние (симптомы, ночные пробуждения, применение облегчающих (купирующих симптомы) препаратов и спирометрические показатели функции легких) и будущий риск (обострения, снижение функции легких или связанные с лечением побочные эффекты). Различают пять ступеней (этапов) лечения, каждый из которых представляет собой вариант лечения для контроля БА у пациентов в возрасте 6 лет и старше. GINA предлагает классифицировать степень тяжести астмы по типу и интенсивности лечения, необходимого для контроля заболевания (шаги 1–5)⁸ GINA 2020 в исследовательских целях. GINA также предлагает классификацию по трем категориям (легкая, среднетяжелая и тяжелая БА), оцениваемую ретроспективно, когда пациент находится на регулярном контролирующем лечении в течение нескольких месяцев.

В отчете рабочей группы GINA представлена классификация медикаментозного лечения на контролирующее (поддерживающее) и облегчающее («по требованию» или купирующее симптомы). Контролирующие препараты принимаются ежедневно в течение длительного времени и включают как противовоспалительные препараты (ингаляционные глюкокортикостероиды (ГКС), антилейкотриеновые препараты, системные ГКС), так и длительно действующие β_2 -агонисты (ДДБА). Примерами облегчающих средств (используемых по мере необходимости для устранения бронхоспазма и облегчения симптомов) являются быстродействующие бронходилататоры, например короткодействующие β_2 -агонисты (КДБА) и один (ДДБА). Новая категория терапевтических вариантов⁹ для пациентов с тяжелой астмой включает применение тиотропия бромид и иммунобиологических препаратов для таргетной терапии (анти-IgE-, анти-ИЛ5/5R-, анти-ИЛ4R-терапии¹⁰) при сохранении у пациентов стойких симптомов и/или обострений, несмотря на оптимизированное лечение с использованием высоких доз контролирующих лекарственных препаратов и устранение модифицируемых факторов риска. Кроме того, при аллергической астме доступна иммунотерапия аллергенами.

Европейские и американские руководства рекомендуют ступенчатый (поэтапный) подход

к лечению, основанный на контроле заболевания. Уровень контроля БА, достигнутый при лечении, определяет необходимость повышения или понижения объема лекарственной терапии до следующей ступени для достижения оптимального контроля при минимальном уровне терапии. Большинство пациентов с БА могут достичь и поддерживать клинический контроль заболевания при стандартном лечении. Считается, что те пациенты, которые не достигают адекватного контроля при приеме максимальных доз лекарственных средств, страдают трудно поддающейся лечению БА (difficult-to-treat asthma)¹¹.

ВЫБОР ПАЦИЕНТОВ

Вопрос о включении пациентов в КИ решается только после установления диагноза БА в соответствии с существующими клиническими руководствами с учетом клинических симптомов и степени ограничения воздушного потока. Диагноз должен быть установлен на основе оценки обоих параметров в течение заранее определенного времени до включения пациента в исследование. Предпочтительным методом оценки ограничения воздушного потока, его обратимости и изменчивости является спирометрия, выполняемая в соответствии со стандартизированными рекомендациями по измерению объема форсированного выдоха за первую секунду (forced expiratory volume in one second, FEV₁) и форсированной жизненной емкости (forced vital capacity, FVC). Обратимость FEV₁ после вдыхания КДБА должна составлять более 200 мл / 12% от исходного значения¹². Тем не менее у пациентов, получающих контролируемую терапию, эта цифра может быть труднодостижимой. В этом случае значения обратимости бронхиальной обструкции могут быть представлены в медицинской карте пациента. Для диагностики БА можно также использовать измерение пиковой скорости выдоха (peak expiratory flow, PEF), но степень ограничения воздушного потока в этом случае может быть занижена. У пациентов с клиническими симптомами и нормальной функцией легких для установления диагноза БА может быть полезно измерение гиперреактивности дыхательных путей (прямое или косвенное), но специфичность данного теста ограничена слабой корреляцией с симптомокомплексом БА и наличием противопоказаний к проведению теста.

В зависимости от цели исследования для участия в нем могут быть отобраны пациенты

⁸ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

⁹ European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

¹⁰ Там же.

¹¹ В Российской Федерации разрешены для медицинского применения в качестве анти-IgE-терапии — омализумаб; анти-ИЛ5/5R-терапии — реслизумаб, меполизумаб и бенрализумаб; анти-ИЛ4R-терапии — дупилумаб (IgE — иммуноглобулин E; ИЛ/R — интерлейкин/рецептор).

¹² European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

¹³ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

с контролируемым, частично контролируемым или неконтролируемым течением заболевания. Независимо от статуса пациента, лечение должно быть максимально стандартизировано с целью установления базового уровня терапии, которая подходит для интерпретации результатов исследования. У пациентов в рандомизированных группах не должно быть хронической или острой респираторной инфекции. Критерии определения стабильности состояния пациентов должны быть указаны в протоколе исследования.

Для КИ по изучению эффективности аллерген-специфической иммунотерапии аллергоанамнез пациентов и причинный аллерген должны быть надлежащим образом документированы до начала исследования.

Следует охарактеризовать воспаление дыхательных путей и аллергоанамнез пациентов, например оценить исходный уровень эозинофилии (в том числе в мокроте), фракционную концентрацию оксида азота (fractional exhaled nitric oxide, FENO) в выдыхаемом воздухе, если это имеет отношение к механизму действия исследуемого препарата, и продукцию иммуноглобулина Е (IgE) или цитокинов, если исследуемый препарат нацелен на этот аспект иммунной системы. Полезность FENO в качестве биомаркера не имеет достаточных обоснований.

При выборе пациентов для КИ важно регистрировать массу тела и индекс массы тела, учитывать наличие ожирения.

Ожидается, что для каждой группы пациентов с определенной степенью тяжести БА будут проводиться отдельные исследования нового препарата в целевой популяции. Критерии, используемые для классификации тяжести БА, должны соответствовать действующим клиническим рекомендациям и быть описаны в протоколе исследования. Популяция пациентов должна быть охарактеризована с указанием того, являются ли пациенты «наивными» в отношении лечения или нет. Для пациентов, уже получающих терапию БА, необходимо детально описать применяемое лечение. Приверженность пациентов к лечению также следует оценить до начала исследования. Следует регистрировать исходные данные функции легких у пациентов, дневные и ночные симптомы, использование купирующих симптомы препаратов. Должна быть надлежащим образом задокументирована предыдущая история обострений с указанием применения пероральных/системных ГКС и госпитализаций, сопутствующие заболевания и сопутствующие методы лечения. При использовании лекарственных форм для ингаляционного применения следует оптимизировать технику применения

препарата пациентом и соблюдение режима лечения, а также время дозирования. Особенно это важно для детей. Необходимо учитывать, что в последующем заявленные показания по применению препарата будут включать только те степени тяжести БА, при которых новое лекарственное средство было изучено и было установлено, что его применение имеет благоприятное отношение ожидаемой пользы к возможному риску.

Проведение дифференциальной диагностики между БА и ХОБЛ может быть сложным, особенно у курильщиков и пациентов старшего возраста. У значительной доли пациентов с симптомами хронического заболевания дыхательных путей выявляются признаки как БА, так и ХОБЛ. Эти заболевания являются гетерогенными, имеют различную этиологию, но могут сочетаться у одного и того же пациента (синдром ACOS)¹³. Однако клинический опыт работы с этой группой пациентов довольно ограничен [10]. Целью исследования должно быть изучение гомогенной популяции пациентов с БА. Пациенты с преимущественно ХОБЛ должны быть исключены из исследований по БА.

Рекомендуется использовать стратифицированную рандомизацию при выборе пациентов для снижения вероятности дисбаланса важных прогностических факторов, таких как предшествующее число обострений, история курения или предшествующее использование β₂-агонистов. Анализ подгрупп известных прогностических факторов (некоторые из которых будут факторами стратификации при рандомизации) должен быть заранее описан в протоколе исследования. Примерами соответствующих критериев для формирования подгрупп являются возраст, частота обострений, статус курения, известная гиперчувствительность к нестероидным противовоспалительным препаратам, эозинофилия, сенсibilизация к различным аллергенам, наличие аллергических коморбидных состояний, ожирение. В каждом конкретном случае должен осуществляться выбор наиболее релевантных подгрупп¹⁴. Ожидается, что стойкие результаты лечения в соответствующих подгруппах обеспечат достаточные доказательства эффективности применения препарата в заявленной популяции.

Курение способствует увеличению тяжести БА, частоты обострений, ускорению прогрессирования и потери контроля над заболеванием, ухудшает ответ на проводимую терапию [11, 12]. Курящие пациенты с БА могут быть включены в исследуемую популяцию при условии, что они соответствуют критериям включения. Следует регистрировать анамнез курения и проводить анализ подгрупп для определения любого влияния курения на результаты

¹³ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

¹⁴ Там же.

исследования. В исследование должно быть включено достаточное количество курильщиков, чтобы выяснить, соответствует ли клинический эффект терапии у курильщиков тому, который наблюдается у некурящих. Программы по прекращению курения и никотинзаместительная терапия, предлагаемые курильщикам с целью отказа от курения до рандомизации, должны быть надлежащим образом задокументированы, так как они могут изменить эффект от лечения.

Важна стандартизация клинической методологии. Пациенты должны быть надлежащим образом подготовлены к проведению исследования функции внешнего дыхания, технике ингаляции, ведению и использованию дневников пациентов.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ

Исследование функции внешнего дыхания для регистрации вариабельности ограничения скорости воздушного потока на выдохе. Для спирометрической оценки эффекта противоастматических препаратов наиболее часто используют показатели FEV_1 и PEF , которые отражают обструкцию дыхательных путей. FEV_1 до приема КБДА считается наиболее подходящей переменной и рассматривается как мера контроля БА, поскольку позволяет регистрировать кратковременные колебания ограничений воздушного потока. Данный показатель также может быть использован для контроля противовоспалительного эффекта ингаляционных ГКС при условии, что одновременное использование бронходилататоров не влияет на FEV_1 ¹⁵. Следовательно, необходим достаточный период вымывания препарата, то есть время, за которое FEV_1 возвращается к исходному уровню. Корреляция между FEV_1 и клиническими симптомами является слабой, но низкие значения FEV_1 могут оцениваться как независимый предиктор обострений БА. PEF — это переменная, которая считается более подходящей для самостоятельного мониторинга функции легких пациентом.

Вне зависимости от выбранного показателя обструкции дыхательных путей следует оценивать воспроизводимость и чувствительность используемого метода. Время измерения функции легких относительно приема последней дозы исследуемого препарата и препарата сопутствующей терапии должно быть стандартизировано. Также следует принимать во внимание влияние на спирометрию любого суточного изменения обструкции дыхательных путей. Если измерение легочной функции возможно ежедневно в домашних условиях, то следует уделять особое внимание воспроизводимости используемого метода и следует использовать ведение электронного дневника, чтобы подтвердить время измерений.

В качестве дополнительных (вторичных) конечных точек эффективности могут использоваться другие спирометрические показатели, такие как жизненная емкость легких (*vital capacity*, VC) и скорость потока при более низких объемах легких, а также FEV_1 и FVC после ингаляции КБДА. В некоторых случаях требуется использовать дополнительные переменные для изучения функции легких, которые могут быть полезны на этапе КИ фазы II.

Обострения БА представляют собой состояния, сопровождающиеся изменениями клинической симптоматики и показателей спирометрии по сравнению с обычным состоянием пациента, достаточно выраженные для того, чтобы потребовать изменения терапии БА. Частота обострений является клинически значимой конечной точкой для оценки контролирующего лечения пациентов с БА. Выявление и лечение пациентов с повышенным риском связанных с БА обострений является важным в достижении контроля над астмой. Критерии обострения и классификация тяжести обострений должны быть указаны в протоколе исследования.

Тяжелые обострения астмы обычно определяются как события, вызывающие необходимость применения системных ГКС или увеличения поддерживающей дозы пероральных ГКС в течение не менее трех дней и/или необходимость экстренного посещения врача, госпитализации или повышения риска связанной с БА смерти. Протокол должен содержать требование рассматривать ухудшение течения заболевания как новое обострение, а не как часть предыдущего эпизода, например необходимость двух курсов применения системных ГКС с перерывом не менее чем на одну неделю рассматриваются как отдельные обострения.

Среднетяжелые обострения обычно определяются как события, которые требуют смены лечения, чтобы избежать прогрессирования обострения БА до тяжелого обострения и появления одного или нескольких из следующих факторов: ухудшение клинических симптомов, более широкое использование облегчающих лекарственных средств, ухудшение функции легких, которые длятся в течение двух или более дней, но недостаточно серьезны, чтобы оправдать применение системных ГКС или госпитализацию.

Определение легкого обострения является сложным, и его следует избегать, поскольку характеристики такого обострения могут незначительно отличаться от обычных изменений (например, суточной вариабельности показателей), наблюдаемых при контроле астмы. Независимо от тяжести обострения его наличие должно быть подтверждено объективными доказательствами ухудшения течения БА.

¹⁵ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

В КИ желательно включать пациентов с частыми обострениями в анамнезе. Могут использоваться разные варианты оценки этой конечной точки — уменьшение числа обострений на фоне исследуемой терапии — например в процентах от исходного числа пациентов с частыми обострениями, или изменение количества обострений за год по отношению к исходному показателю, или изменение (увеличение) времени до нового обострения), но они должны быть обоснованы, как и изменение числа обострений, считающихся клинически значимыми. Продолжительность исследования должна быть достаточной, чтобы охватить период возможного возникновения нескольких обострений, и выбирается в зависимости от исследуемого лекарственного средства и тяжести БА в популяции пациентов. Во время исследования следует фиксировать, в какое время года возникают эпизоды хрипов/обострений¹⁶.

Оценка симптомов является приемлемой клинической переменной, но в настоящее время для нее отсутствуют валидированные шкалы. Должны регистрироваться как дневные, так и ночные симптомы. Рекомендуется использовать дневники, предпочтительно электронные, для повышения точности записи. Релевантными переменными для измерения считаются «дни без симптомов» и «количество ночных пробуждений».

Препараты, купирующие симптомы (применение по требованию). Увеличение частоты применения облегчающих (купирующих симптомы) препаратов является приемлемой клинической конечной точкой, которая отражает отсутствие контроля над БА, то есть частоту и интенсивность симптомов. Частота использования КДБА может быть мерой толерантности симптомов пациента или уровня физической активности, если препараты используются для предотвращения БА, вызванной физической нагрузкой. Частота использования КДБА для облегчения симптомов должна регистрироваться отдельно от случаев профилактического применения этих препаратов. Важно регистрировать количество ингаляций, требующихся как днем, так и ночью.

Опросники и тесты для оценки контроля БА. В клинической практике является важным вовлечение в стратегию контроля заболевания не только врача, но и пациента. Для определения уровня контроля астмы были разработаны комбинированные показатели с использованием категориальных или числовых переменных. Эти инструменты представляют информацию о клинических симптомах и ограничении повседневной деятельности с точки зрения пациента. К указанным инструментам относятся валидированные опросники: тест по контролю БА (Asthma Control Test, ACT), опросник по контролю БА (Asthma Control Questionnaire,

ACQ), анкета оценки терапии БА (Asthma Therapy Assessment Questionnaire, ATAQ) [13, 14]. В этих опросниках представлена специально разработанная шкала оценки симптомов БА в баллах, позволяющая определить хороший, пограничный уровень контроля заболевания или его отсутствие. Комбинированные показатели основаны на отдельных переменных, которые учитываются при оценке влияния лечения на несколько аспектов контроля астмы. Примерами категориальных комбинированных переменных являются «дни контроля астмы» или «недели с полным контролем» / «полный контроль». Числовые комбинированные переменные позволяют оценить несколько клинических симптомов или признаков по шкале и выразить результат достигнутого контроля БА в виде числа. В некоторых сложных показателях одной из частей этой комбинированной переменной являются оценка функции легких или маркеров воспаления дыхательных путей. Анализ комбинированной переменной может быть представлен в абсолютном выражении и в виде доли пациентов, достигших определенного целевого уровня контроля. Компоненты комбинированной переменной должны анализироваться индивидуально, чтобы узнать, обусловлен ли общий эффект одной или несколькими переменными. Для разграничения «контроля», «отсутствия контроля» и веса каждого компонента должна быть обоснована целесообразность использования пороговых значений переменной.

Снижение количества контролируемых препаратов как следствие терапии является клинически значимой конечной точкой.

Гиперчувствительность дыхательных путей и бронхиальный провокационный тест. У некоторых пациентов во время проведения первоначальной оценки состояния дыхательных путей ограничение скорости воздушного потока может отсутствовать. Так как определение изменчивого ограничения скорости воздушного потока является ключевым показателем для установления диагноза БА, одним из вариантов является выполнение бронхиального провокационного теста для оценки гиперреактивности дыхательных путей. Тестирование с помощью веществ, оказывающих прямое (метахолин, гистамин) или косвенное (маннит, аденозинмонофосфат, гипертонический солевой раствор) воздействие на гладкую мускулатуру бронхов, является мерой сужения дыхательных путей в ответ на стимул, который не влияет или имеет небольшое влияние на здоровых людей. В случае КИ аллерген-специфической иммунотерапии может быть рассмотрен вопрос о тестировании с использованием соответствующего аллергена. Целью тестирования является оценка провокационной дозы или концентрации аллергена/стимула, которая вызывает

¹⁶ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

определенную степень сужения дыхательных путей (обычно снижение FEV_1 на 20%). Описана слабая корреляция бронхопровокационных тестов с симптомами, функцией легких и маркерами воспаления дыхательных путей, но увеличение гиперреактивности, по-видимому, предсказывает потерю контроля над БА. Результаты провокационного теста сложно стандартизировать. Тем не менее его можно включить в качестве поисковой переменной для одного или нескольких центров КИ и для небольшого числа пациентов, являющихся типичными для всей популяции, подлежащей исследованию. Выбор теста и кратность его проведения должны быть обоснованы, должен быть указан адекватный отмывочный период для КДБА и ДДБА.

Биомаркеры воспаления дыхательных путей. В качестве источников дополнительной информации об активности заболевания могут быть использованы такие показатели, как количество эозинофилов в сыворотке крови и результаты измерения FENO в выдыхаемом воздухе, но их значение для руководства лечением еще предстоит установить. Таким образом, биомаркеры воспаления дыхательных путей считаются в настоящее время пригодными только для выбора исследовательских конечных точек¹⁷.

Качество жизни, связанное со здоровьем. Восприятие БА пациентами может отличаться от восприятия клиницистами и должно оцениваться с помощью опросников качества жизни, связанного со здоровьем (Health Related Quality of Life, HRQoL), общих или для конкретных заболеваний. Валидированным опросником качества жизни, связанного с БА, является, например, Asthma related Quality of Life Questionnaire (AQLQ-S и Mini-AQLQ). Использование конкретного опросника должно быть обосновано.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Фармакодинамические исследования. Первоначально должны быть проведены исследования безопасности и оценки диапазона доз лекарственного средства, которое будет изучаться в терапевтических исследованиях. Должен быть проанализирован и обсужден механизм действия исследуемого препарата в сравнении с другими препаратами, которые доступны. Фармакодинамические исследования могут быть двойными слепыми и плацебо-контролируемыми. Они могут включать пациентов или здоровых добровольцев, хотя влияние тяжести БА на легочное распределение и, следовательно, на фармакодинамику (ФД) ингалируемых препаратов может ограничить возможности интерпретации данных от субъектов, не страдающих БА.

Фармакокинетические исследования. При изучении фармакокинетики (ФК) препарата должны быть оценены степени его системного всасывания и биодоступности, уровень метаболизма и скорость элиминации.

Отсутствие фармакокинетических исследований аллергенов для иммунотерапии или иммуномодуляторов допускается только в тех случаях, когда невозможно определить концентрацию действующего вещества в плазме крови.

Поисковые терапевтические исследования имеют целью установление зависимости «доза—эффект». Экстраполяция из предыдущих исследований по определению дозы при сопутствующих заболеваниях, таких как ХОБЛ, имеет ограниченную ценность, поскольку нет уверенности в том, что и пациенты с БА и ХОБЛ будут одинаково реагировать на одну и ту же дозу препарата.

Преимущества и побочные эффекты препарата, связанные с дозой, следует изучать в рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях. Эти исследования должны характеризовать кривую «доза—эффект». Целесообразно включить в план исследования одну или несколько доз активного препарата сравнения. Выбор дизайна исследования зависит от фармакологических характеристик лекарственного препарата, ожидаемого времени ответа на лечение и критериев оценки результата.

Некоторые исследования, в зависимости от механизма действия препарата и выбранных конечных точек, могут быть краткосрочными. Например, для ДДБА приемлемая продолжительность исследования составляет 6–12 недель, в то время как для КДБА может быть установлена меньшая длительность исследования. Если исследуется противовоспалительный эффект препарата и/или его влияние на частоту обострений, потребуется большая продолжительность исследования.

Следует изучить клинически значимые взаимодействия с обычно назначаемыми сопутствующими препаратами, особенно для пожилых людей, и с препаратами, имеющими сходные с исследуемым препаратом метаболические пути.

Для анализа эффективности иммунотерапии аллергенами можно использовать провокационные тесты с аллергенной стимуляцией бронхов либо предусмотреть оценку динамики количества назначаемых контролируемых препаратов. Также могут потребоваться дополнительные исследования¹⁸, такие как измерение уровней биомаркеров воспаления дыхательных путей или фармакодинамические тесты, связанные с предполагаемым механизмом действия препарата.

¹⁷ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

¹⁸ Там же.

Основные КИ эффективности. Заявитель должен указать, в каком качестве предполагается использовать новый препарат для лечения БА: будет ли он основным или дополнительным средством, применяться как облегчающая или контролирующая терапия, указать предполагаемый механизм действия препарата. В зависимости от этого будет выбран дизайн исследований эффективности. Как для облегчающих, так и контролирующих препаратов КИ должны быть в параллельных группах, рандомизированными, двойными слепыми, контролируруемыми.

Для облегчающих препаратов эффективность лечения может быть показана в краткосрочных исследованиях продолжительностью четыре недели. Должны быть предоставлены доказательства отсутствия толерантности к препарату при проведении повторных курсов лечения.

Отнесение лекарственного средства к контролирующим препаратам для поддерживающего лечения БА должно быть подтверждено результатами КИ продолжительностью не менее шести месяцев, однако, в зависимости от выбранной конечной точки, может потребоваться более длительный период. Установленное применение ингаляционных ГКС в качестве контролирующего лечения первой линии для большинства пациентов¹⁹ предполагает их выбор в качестве препаратов сравнения.

Лекарственные средства для иммунотерапии аллергенами не являются ни облегчающими, ни контролирующими препаратами и должны рассматриваться отдельно. КИ препаратов для иммунотерапии аллергенами должны быть в параллельных группах, двойными слепыми, рандомизированными и плацебо-контролируемыми. Альтернативный дизайн исследования должен быть обоснован. Обычно исследуемый лекарственный препарат следует изучать как дополнительное лечение к стандартной контролирующей терапии или стандартному контролирующему препарату. Период оценки должен охватывать период сильного воздействия аллергенов (например, сезон пыльцы для сезонных аллергенов или осень/зима для круглогодичных аллергенов). От продолжительности исследования зависят заявляемые на регистрацию показания к применению лекарственного средства.

ПРЕПАРАТЫ СРАВНЕНИЯ, СОПУТСТВУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ, ОБЛЕГЧАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

Облегчающий препарат. Предпочтительным вариантом является проведение исследования в трех группах, где новое лекарственное средство сравнивают с плацебо и широко используемым КДБА. Ожидается, что облегчающие препараты будут приниматься в дополнение к адекватной

поддерживающей терапии в зависимости от степени тяжести БА. Использование облегчающих препаратов должно быть стандартизировано, когда это возможно, и потенциальная системная ошибка должна учитываться при оценке результатов лечения²⁰.

Контролирующий препарат. Контролирующая терапия является предпочтительным методом лечения персистирующей БА. Для лекарственного средства, которое предполагается использовать в качестве контролирующего лечения первой линии, следует провести прямое сравнение препаратов, при этом пациенты рандомизируются для получения либо исследуемой терапии, либо стандартной терапии для конкретной ступени (этапа) лечения. Ингаляционные ГКС обычно применяются в качестве препарата сравнения на всех ступенях. Для корректного сравнения ингаляционный ГКС должен быть назначен в адекватной дозе и на необходимый период времени.

С целью обеспечения чувствительности анализа требуется проведение подтверждающего КИ с тремя группами, включающее сравнение с плацебо и препаратом сравнения, особенно для подтверждения гипотезы меньшей эффективности. Исследования обычно проводятся в популяции пациентов с менее тяжелыми формами персистирующей БА. Рекомендуемая продолжительность КИ должна составлять не менее шести месяцев, однако для группы плацебо допускается более короткая продолжительность исследования.

Если препарат не предназначен для применения вместо ингаляционных ГКС, необходимы исследования с альтернативным дизайном, в которых новый препарат сравнивается с плацебо на фоне стандартного контролирующего препарата. Кроме этого, должна быть предусмотрена третья группа сравнения. В этом случае препарат сравнения должен соответствовать следующей ступени лечения в соответствии со стратегией лечения и профилактики БА (т.е. увеличение дозы ингалируемого ГКС или добавление ДДБА к ингаляционным ГКС). Однако при включении в КИ пациентов, уже получающих оптимальную дозу ингаляционного ГКС в сочетании с ДДБА, может быть достаточно плацебо-контролируемых исследований в дополнение к оптимальному поддерживающему (контролирующему) лечению.

Сопутствующие препараты. Должно быть установлено, что существующая терапия соответствует тяжести БА у этих пациентов. Все больные БА обеспечиваются облегчающими (купирующими симптомы) препаратами для применения по необходимости. Сопутствующая и облегчающая терапия должна быть минимизирована, насколько это

¹⁹ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

²⁰ Там же.

возможно, и документирована во избежание ошибок при интерпретации данных.

Использование всех медикаментозных методов лечения, в том числе применение бронходилататоров, пероральных и ингаляционных ГКС, муколитиков, антиоксидантов, должно быть сбалансировано и зафиксировано перед началом исследований. Рекомендуется проведение вводной фазы исследований для стандартизации сопутствующего лечения.

ОСЛЕПЛЕНИЕ

Предпочтительно проведение двойных слепых исследований. Если двойное слепое исследование неосуществимо (например, некоторые ингаляторы трудно сделать неидентифицируемыми), то предпочтительным является проведение исследования с тремя группами, сравнивающего новый препарат с плацебо (слепое сравнение) и с активным препаратом сравнения (не слепое сравнение с контрольной группой). Необходимо надлежащим образом закрыть данные о рандомизации лечения для персонала, непосредственно участвующего в проведении тестов и сборе данных об эффективности препарата (проведение спирометрии, регистрация обострений, оценка качества жизни пациентов и т.д.). Рекомендуется, чтобы оценка основных результатов эффективности и безопасности применения препарата проводилась вслепую независимыми экспертами.

ВЫБОР ОСНОВНЫХ КОНЕЧНЫХ ТОЧЕК

Рекомендуется использовать разные конечные точки с целью оценки различных проявлений заболевания с учетом того факта, что они могут не коррелировать друг с другом. Выбор наиболее подходящей первичной конечной точки будет зависеть от того, является ли препарат облегчающим или контролирующим средством, от механизма действия препарата, а также от степени тяжести / уровня контроля БА.

Для любой выбранной первичной конечной точки клиническая значимость результатов должна быть интерпретирована в зависимости от тяжести состояния пациентов в популяции и характеристик заболевания, контрольной группы, продолжительности исследования и гипотезы, подлежащей проверке. Для облегчения интерпретации полученных данных может использоваться предварительный анализ эффективности.

Облегчающий препарат. Для нового бронходилататора, ФД которого установлена в более ранних исследованиях, акцент делается на измерение обструкции дыхательных путей. В исследованиях с участием взрослых пациентов с БА основной первичной точкой является измерение FEV_1 , изменяющегося во времени по отношению к исходному уровню.

Контролирующий препарат. Применение нового препарата должно продемонстрировать достижение и поддержание контроля и/или уменьшение обострений БА. Эффективность симптоматического лечения астмы может быть продемонстрирована в зависимости от поставленных задач либо с помощью одной первичной конечной точки, либо с помощью сопутствующих первичных конечных точек. На выбор конечной точки может влиять механизм действия исследуемого препарата. Выбор конечной точки должен быть тщательно обоснован.

Предпочтительной конечной точкой для нового контролирующего препарата является возникновение обострения. Измерение только параметров функции легких считается недостаточным для оценки терапевтического эффекта. Исследование функции легких следует использовать как вторичную или ключевую вторичную конечную точку.

Для новых противовоспалительных препаратов обострения считаются переменной выбора. Несмотря на то что обострения описаны для любой степени тяжести БА, при менее тяжелой персистирующей астме может быть недостаточно их использование в качестве первичной конечной точки для этой популяции. В этом случае должны быть выбраны или дополнительно использованы другие конечные точки, связанные с симптомами БА. Например, в качестве первичных конечных точек могут быть использованы опросники и тесты для оценки динамики контроля симптомов БА или качества жизни, связанного с этим заболеванием. Любой используемый показатель должен быть валидирован.

При исследовании эффективности нового ДДБА, предназначенного для совместного назначения с ингаляционными ГКС, необходимо продемонстрировать его влияние как на функцию легких, так и на возникновение обострений.

Препараты для иммунотерапии аллергенами предназначены для модификации иммунологического механизма, лежащего в основе аллергической БА, и при их применении требуется некоторое время для наступления терапевтического эффекта. Поэтому КИ препаратов для иммунотерапии начинаются с назначения ее в качестве дополнительной терапии, которая должна учитываться при оценке первичной конечной точки (например, оценка в контексте поэтапного сокращения контролирующего лечения). В качестве первичных конечных точек можно рассматривать показатели функции легких, данные опросников и результаты тестов для оценки контроля БА, количество обострений или снижение объема контролирующей терапии. Независимо от выбора основного параметра эффективности необходимо определить, какой эффект будет считаться клинически значимым в основной конечной точке, и обосновать выбор этого значения.

ВЫБОР ВТОРИЧНЫХ КОНЕЧНЫХ ТОЧЕК

Если перечисленные выше конечные точки не указаны в качестве основных, они могут быть выбраны в качестве дополнительных конечных точек. Кроме того, ряд других вторичных конечных точек может позволить оценить различные аспекты заболевания, и выбор этих точек должен быть обоснован.

Если исследование функции легких не заявлено в качестве первичной конечной точки, его следует использовать в качестве вторичной конечной точки. Оценка симптомов (дневные и ночные симптомы), использование облегчающих препаратов, оценка биомаркеров, гиперреактивности дыхательных путей и качества жизни должны рассматриваться как вторичные конечные точки с учетом механизма действия препарата.

КЛИНИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Специфические проблемы безопасности. Ингаляционная терапия уменьшает системное воздействие препаратов и, следовательно, увеличивает безопасность. Однако при использовании ингаляционного пути применения препаратов могут возникнуть специфические проблемы безопасности, такие как миопатия мышц голосовых связок, грибковая инфекция полости рта и горла, образование катаракты, связанной с длительным применением ингаляционных ГКС. Может потребоваться изучение воздействия исследуемого препарата на функцию цилиарного тела глаза.

Требуется оценка степени системного всасывания препаратов, применяемых ингаляционно. Системная безопасность должна оцениваться как с помощью фармакокинетических, так и фармакодинамических КИ и будет зависеть от фармакотерапевтической группы препарата. Например, оценка системных эффектов ингаляционных ГКС должна включать соответствующую оценку функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA), а предпочтительным фармакодинамическим методом оценки является оценка изменения концентрации кортизола в плазме крови через 24 ч по сравнению с его исходным уровнем. Должны также оцениваться системные эффекты ГКС на минеральную плотность костной ткани и на состояние глаз. Клиническая оценка системных эффектов должна проводиться в стабильном состоянии пациента вне обострения БА.

Долгосрочная клиническая безопасность. Продолжительность и интенсивность лечения БА зависит от тяжести заболевания. Терапия часто начинается в молодом возрасте и продолжается в течение многих лет, что обуславливает необходимость

предоставления данных о долгосрочной безопасности контролируемых препаратов (по крайней мере, за 1 год).

Для препаратов, подавляющих иммунитет, должны быть представлены сведения о последствиях иммунной супрессии для пациента. Например, для препарата, влияющего на функцию лейкоцитов или функцию медиатора воспаления, должен быть изучен эффект данного препарата на реакцию субъекта исследования в случае инфекции. Следует выявить канцерогенность применяемых иммунодепрессантов. Продолжительность действия лекарственного средства на иммунную систему должна быть задокументирована, а продолжительность клинической оценки его безопасности соответствующим образом скорректирована²¹. В зависимости от препарата может также потребоваться оценка иммуногенности препарата.

ИССЛЕДОВАНИЯ У ДЕТЕЙ

Высокий уровень заболеваемости БА у детей делает исследования в этой целевой популяции особенно актуальными. Обоснование начала педиатрической программы должно учитывать, что существуют утвержденные методы лечения, одобренные для применения у детей. Исследования у детей рекомендуется начинать после подтверждения потенциальной пользы от применения исследуемого препарата у взрослых.

Должны быть предоставлены достаточные данные для адекватной оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения препарата для трех возрастных групп: до 6, от 6 до 12 и от 13 до 18 лет. Необходимо четко определить популяцию детей в каждой из этих возрастных групп за исключением тех случаев, когда оправдан отказ от проведения исследования в данной группе. Неприемлема экстраполяция данных, полученных для взрослых, на детей. Представление данных по ФК и/или ФД препарата у детей необходимо во всех возрастных группах.

При проведении исследований у детей необходимо руководствоваться теми же принципами проведения исследований, что и у взрослых, но в педиатрической популяции они имеют некоторые особенности.

Проведение исследований по иммунотерапии аллергенами у детей дошкольного возраста в целом не рекомендуется. Однако так как иммунотерапия аллергенами может использоваться для лечения детей, должна быть проверена эффективность и безопасность применения таких препаратов в педиатрической популяции. Эффективность препаратов для иммунотерапии аллергенами оценивают в специальных исследованиях в педиатрической популяции, а не в комбинированных исследованиях,

²¹ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

включающих детей и взрослых. Подростки и взрослые могут быть исследованы как совокупная популяция.

Выбор пациентов. Диагностика БА в раннем детском возрасте сложна из-за трудностей проведения спирометрии, поэтому обычно диагноз ставится на основании клинического наблюдения, оценки симптомов и физикальных данных. Диагноз БА у детей имеет важные клинические последствия и поэтому должен быть установлен с осторожностью, необходимо рассмотреть и исключить альтернативные причины постоянных или периодических свистящих хрипов, кашля и дыхательной недостаточности. Эпизодические хрипы и кашель очень распространены, особенно у детей младше 3 лет.

Дети старше 6 лет и подростки. Диагностика БА у детей в возрасте 6 лет и старше должна соответствовать рекомендациям, изложенным в существующих клинических руководствах²², и основываться на наличии респираторных симптомов, анамнеза, ответа на лечение и результатах исследования функции легких (включая тесты на обратимость выявленных изменений). Спирометрия является лучшим тестом функции легких для диагностики и контроля БА. У детей обструктивный характер заболевания при спирометрии определяется, если соотношение FEV_1/FVC составляет $<80-85\%$. Оценка абсолютного увеличения FEV_1 после ингаляции КДБА также может учитываться при диагностике. Поскольку наиболее часто используемый критерий включения пациента в исследование — увеличение $FEV_1 >12\%$ после ингаляции КДБА — не наблюдается у большинства детей с хорошо контролируемой БА²³, критерии обратимости бронхиальной обструкции для диагностики могут быть предоставлены из медицинских карт пациентов. В некоторых случаях используются бронхопровокационные тесты для оценки гиперчувствительности дыхательных путей с целью постановки диагноза.

Должен быть охарактеризован воспалительный профиль (уровень эозинофилов в индуцированной мокроте, эозинофилы периферической крови, уровень фракционного оксида азота выдыхаемого воздуха ($FeNO$), уровень сывороточного IgE) дыхательных путей, если это имеет отношение к механизму действия исследуемого препарата.

Дети младше 6 лет. У детей младше 6 лет диагноз БА должен основываться на личном и семейном анамнезе астмы и атопических заболеваний, клинических симптомах, физикальном осмотре и реакции на терапию КДБА и ингаляционными ГКС. Точные скрининговые тесты для определения вероятности развития БА у детей раннего возраста отсутствуют.

Наиболее актуальным диагностическим симптомом БА являются свистящие хрипы; дополнительные симптомы включают сухой кашель, особенно ночной кашель и кашель и/или хрипы, связанные с физической нагрузкой, затрудненное дыхание или одышку. При дифференциальной диагностике рецидивирующих хрипов следует рассматривать и исключать другие возможные причины их возникновения, помимо БА.

Исследование функции легких, провокационные тесты и другие физиологические тесты не играют основной роли в диагностике БА у детей младше 6 лет из-за неспособности большинства детей выполнять дыхательные маневры. Однако некоторые исследования, например определение удельного сопротивления дыхательных путей, импульсная осцилометрия, измерение объема форсированного выдоха за 0,5 или 0,75 с ($FEV_{0,5}$ или $FEV_{0,75}$) могут проводиться в специализированных центрах. Типы функциональных тестов легких должны соответствовать возрастным возможностям исследуемой группы²⁴.

Анамнез детей, включенных в КИ, должен быть подробно охарактеризован в отношении возраста появления симптомов, истории типичных симптомов, тяжести БА, обострений в анамнезе, тяжести обострений, наличия/отсутствия атопии и сопутствующих заболеваний, семейного анамнеза атопии, особенно материнского анамнеза атопии и IgE-опосредованного аллергического заболевания, недоношенности и низкой массы тела при рождении, воздействия табачного дыма, рецидивирующих вирусных инфекций в раннем детстве.

Выявление факторов риска особенно важно для детей младшего возраста, но их следует учитывать и у детей старшего возраста.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ У ДЕТЕЙ

Как и для взрослой популяции, релевантными конечными точками КИ эффективности считаются обострения, оценка симптомов, изменение показателей функции легких, применение облегчающих лекарственных средств, данные опросников и результаты тестов для измерения контроля над БА.

Рекомендуется использовать наборы согласованных стандартизированных показателей (core outcome sets, COS), которые следует измерять и сообщать во всех КИ для конкретного клинического состояния, чтобы впоследствии можно было сравнивать результаты по всем КИ при изучении контролируемых препаратов. COS должны включать контроль БА (оценка симптомов, обострений и изменений функции легких).

²² Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

Клинические рекомендации. Бронхиальная астма. Российское респираторное общество. 2018.

²³ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

²⁴ European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

Дети старше 6 лет и подростки. Методы оценки эффективности препаратов, используемые у взрослых, применимы для КИ в детской популяции. Целью лечения является достижение хорошего контроля и снижение риска возникновения обострений БА. У детей контроль БА предполагает отсутствие клинических симптомов или их минимальное количество, минимальное использование или отсутствие необходимости применения облегчающих препаратов, а также отсутствие каких-либо ограничений физической активности. Таким образом, для контролирующего лекарственного средства влияние на частоту обострений, оценка симптомов, изменение показателей функции легких, использование облегчающих лекарственных средств, данные опросников и результаты тестов для измерения контроля над БА остаются клинически значимыми конечными точками для этой подгруппы пациентов.

Для демонстрации эффективности контролирующего препарата недостаточно выполнения только исследования функции легких. Функциональные тесты легких (например, FEV_1) могут быть допустимыми конечными точками для исследований облегчающих лекарственных средств. При вызванной физической нагрузкой бронхоконстрикции/БА соответствующей конечной точкой должно быть предотвращение снижения FEV_1 после физической нагрузки с использованием стандартизированного теста (беговая дорожка).

Разработан ряд специальных опросников и тестов для оценки контроля БА у детей старше 6 лет, например тест по контролю БА у детей (Childhood Asthma Control Test, C-ACT), анкета оценки терапии БА (Asthma Therapy Assessment Questionnaire, ATAQ) или система балльной оценки по контролю БА (Asthma Control Scoring System, ACSS)²⁵.

Дети младше 6 лет. Как и у детей старшего возраста, целью лечения является достижение хорошего контроля над симптомами и снижение риска возникновения обострений БА. У детей младше 6 лет контроль БА означает отсутствие или наличие минимальных клинических симптомов, минимальное использование или отсутствие необходимости использования облегчающих препаратов, а также отсутствие каких-либо ограничений физической активности.

Таким образом, при изучении эффективности контролирующего лекарственного средства в этой подгруппе пациентов влияние препарата на частоту обострений, оценка симптомов и частота использования облегчающих лекарственных средств остаются релевантными конечными точками.

Функциональные пробы легких (спирометрия) не всегда могут быть надлежащим образом

выполнены у детей младше 6 лет и особенно младше 3 лет, поэтому их роль в оценке эффективности лекарственных средств ограничена в этой подгруппе пациентов²⁶.

Были валидированы опросники и тесты по контролю БА для использования у детей младше 6 лет, например дневник педиатрического контроля астмы (Paediatric Asthma Control Diary, PACD) и тест по контролю дыхания и астмы у детей (Test for Respiratory and Asthma Control in Kids, TRACK).

Для данной возрастной группы тест на физическую нагрузку не проводится.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ У ДЕТЕЙ

Фармакокинетические/фармакодинамические исследования. Для установления оптимальной дозы препарата в педиатрической популяции необходимы данные по ФК и ФД у детей. Популяционное моделирование ФК может помочь обосновать дозировку препаратов для лечения БА у детей, используемую в КИ III фазы. Если результаты исследований ФК у подростков с БА демонстрируют закономерности распределения препарата, аналогичные наблюдаемым у взрослых, то эта возрастная группа может быть включена в КИ III фазы у взрослых. В младших возрастных группах, от 6 до 12 и от 2 до 6 лет, исследования ФК могут быть использованы для подтверждения дозы. Тем не менее исследования безопасности и эффективности должны проводиться в соответствии с возрастом.

При оценке ФК следует учитывать ограничения по возможному количеству образцов (объем разового забора крови, количество временных точек забора крови, суммарный объем крови за одно исследование, количество ФК-исследований в одном протоколе).

Подтверждающие исследования у детей. Облегчающий препарат. Для облегчающего препарата экстраполяция клинических данных, полученных в исследованиях для взрослой популяции, может быть приемлемой в зависимости от механизма действия лекарственного средства, при получении аналогичных данных ФК/ФД у детей и известного профиля безопасности лекарственного средства. Если для детей старше 6 лет и подростков необходимо проведение подтверждающих исследований, то к ним применимы те же требования, что и к исследованиям у взрослых. Дети младше 6 лет не должны включаться в подтверждающие исследования облегчающих препаратов, но данные ФК препарата у этой возрастной группы должны быть представлены.

Контролирующий препарат. Дети старше 6 лет и подростки. Экстраполяция данных

²⁵ Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020.

European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of medicinal products for the treatment of asthma. CHMP/EWP/2922/01 Rev. 1.

²⁶ Там же.

эффективности, полученных для взрослых, на детей в возрасте 6 лет и старше, как правило, неприемлема. Педиатрические исследования эффективности/безопасности терапии необходимы для новых препаратов.

Подростки могут быть включены в исследования для взрослых с учетом аналогичных показателей ФК и известного профиля безопасности лекарственного средства.

Применение препарата у детей от 6 до 11 лет должно быть исследовано отдельно, так как поэтапный подход к лечению в этой популяции может отличаться от такового у взрослых/подростков.

Рекомендуются двойные слепые рандомизированные и контролируемые исследования в параллельных группах. Активный контроль особенно необходим при более низких степенях тяжести БА, поскольку существуют установленные схемы лечения (например, добавление ДДБА, если у пациента не обеспечивается контроль БА ингаляционными ГКС).

Предпочтительным вариантом является исследование в трех группах (исследуемый препарат — плацебо — активный препарат сравнения (стандартный контролирующий препарат)), особенно если целью является установление наименьшей эффективности новой терапии по сравнению со стандартной терапией. Плацебо-контролируемые исследования возможны при легкой степени тяжести БА на фоне сопутствующего применения облегчающих препаратов.

При более высокой степени тяжести БА исследуемые препараты добавляются к стандартной терапии и не назначаются в качестве монотерапии. В этом случае предпочтительным дизайном является плацебо-контролируемое исследование с дополнительным дизайном (стандартная терапия + исследуемый препарат по сравнению со стандартной терапией + плацебо) с обязательным облегчающим лечением.

Выбор первичной конечной точки для подтверждающих исследований зависит от того, является ли исследуемое лекарственное средство облегчающим или контролирующим, от механизма действия лекарственного средства и степени тяжести БА.

Продолжительность исследования будет зависеть от выбранных конечных точек. Для контролирующего лекарственного средства на проведение исследования может потребоваться как минимум 6 месяцев. Для оценки частоты возникновения обострений потребуется большая продолжительность (например, один год). Предварительным условием должно быть определение критериев для начала стандартизированного облегчающего лечения и для исключения пациента из исследования.

Дети младше 6 лет. В зависимости от наличия разрешенных для медицинского применения препаратов сравнения в лекарственных формах

для детей необходимы плацебо-контролируемые исследования на фоне контролирующего лечения или сравнение с утвержденным стандартным контролирующим препаратом. Продолжительность исследований эффективности зависит от выбранного дизайна и конечных точек. Если в качестве конечной точки выбрана оценка числа обострений, продолжительность исследования составляет один год. Исследования должны быть достаточно продолжительными, чтобы можно было сделать выводы относительно выбранной конечной точки. Для более старших детей данной возрастной группы должны быть установлены четкие предварительно определенные критерии для начала стандартизированного облегчающего лечения и для прекращения лечения / исключения из исследования.

Безопасность. Долгосрочная оценка безопасности продолжительностью не менее одного года требуется у детей, когда предполагается более длительное лечение новым препаратом. Это относится в основном к лекарственным препаратам, применяемым в качестве контролирующих, но может касаться и облегчающих препаратов, если предполагается их частое использование.

При применении ГКС следует учитывать их влияние на рост, изменения скелета, функции эндокринных желез и иммунитет. Мониторинг местных побочных эффектов, таких как пероральный кандидоз, дисфония и катаракта, наблюдаемых при постоянном применении ингаляционных ГКС, также должен быть включен в план исследования у детей и подростков.

Новые препараты, которые оказывают влияние на иммунную систему, заслуживают особого внимания, потому что иммунная система развивается до возраста 12 лет. Должны быть оценены возможные последствия приема препарата для формирования иммунного ответа или подавления иммунитета. Продолжительность действия препарата на иммунную систему должна быть документирована, а продолжительность клинической оценки безопасности соответствующим образом скорректирована. В зависимости от лекарственного средства может потребоваться оценка уровня образования антител.

Подбор ингаляционных устройств доставки. Особое внимание следует уделить выбору ингаляционных устройств доставки, соответствующих возрасту и способности пациентов правильно их использовать. Это относится к пациентам как исследуемой, так и контрольной групп. Для детей в возрасте до 4 лет терапия ГКС и бронходилататорами должна проводиться регулярно с помощью дозированного ингалятора под давлением (pressurised metered-dose inhaler, pMDI) и спейсера, соответствующего возрасту ребенка, для использования с конкретным pMDI и маской для лица, в тех случаях, когда это

необходимо. Выбор ингаляционных устройства в диапазоне доступных рMDI и спейсеров с целью достижения большей приверженности лечению должен регулироваться индивидуальными потребностями и предпочтениями. Можно рассмотреть небулайзерную терапию.

Для детей в возрасте от 4 лет и старше может быть использован порошковый ингалятор (dry powder inhaler, DPI) при необходимом внимании к тому, могут ли дети в возрасте от 4 до 6 лет правильно использовать такое устройство. При применении DPI характеристики распределения препарата зависят от скорости воздушного потока в дыхательных путях. Должна быть представлена характеристика зависимости распределения препарата от скорости воздушного потока в диапазоне потоков / перепадов давления в дыхательных путях пациентов, у которых должен использоваться DPI. Одновременное использование ингаляционных устройств, которые требуют различных манипуляций для их применения, не рекомендуется, так как это может привести к путанице, нарушению техники ингаляции и некорректному дозированию, по крайней мере, с одним из устройств. Ребенок должен быть обучен правильно пользоваться ингаляционным устройством.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бронхиальная астма — хроническое гетерогенное заболевание, которое имеет высокую распространенность среди всех возрастных групп пациентов. Изложены основные вопросы планирования программ КИ препаратов для лечения БА с учетом современных представлений о стратегии терапии заболевания, целью которой является достижение контроля симптомов и уменьшение рисков возникновения обострений.

Недостаточное регулирование порядка проведения КИ новых препаратов для лечения БА в Российской Федерации и странах Евразийского экономического союза делает актуальной имплементацию международного опыта проведения подобных исследований. Рассмотрены рекомендации Европейского агентства по лекарственным средствам, которые являются хорошей основой

для дальнейшей гармонизации опыта проведения КИ современных лекарственных средств для лечения БА. Представлены подходы к выбору популяции для исследования, оцениваемому терапевтическому эффекту, методам оценки эффективности, выбору конечных точек, дизайну исследований у взрослых и детей.

Продолжающееся изучение механизмов развития возможных вариантов клинических и воспалительных фенотипов БА влияет на вопросы доказательства эффективности и безопасности, возникающие на этапе клинической разработки новых препаратов, что приводит к необходимости совершенствования требований к оценке достаточности программ изучения этих препаратов на основе российского и международного опыта.

Вклад авторов. *Е. С. Петрова* — написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *Д. В. Горячев* — разработка концепции, критический пересмотр текста, утверждение варианта для публикации; *А. Д. Кузнецова* — сбор, анализ и обобщение данных, вклад в концепцию и план работы, интерпретация результатов, редактирование текста.

Authors' contributions. *Elena S. Petrova*—writing of the text, editing of the text, approval of the final version of the paper for publication; *Dmitry V. Goryachev*—elaboration of the study concept, revision of the text, approval of the final version of the paper for publication; *Anna D. Kuznetsova*—collection, analysis, and systematisation of data, assistance in elaboration of the study concept and design, interpretation of the obtained results, editing of the text.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Конфликт интересов. Д. В. Горячев является членом редколлегии журнала «Вестник НЦЭСМП», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Dmitry V. Goryachev is a member of the Editorial Board of “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Омельяновский ВВ, ред. *Социально-экономическое бремя бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких в Российской Федерации: отчет по исследованию за 2008–2009 годы*. М.: Качество жизни; 2010. [Omel'yanovsky VV, ed. *Socio-economic burden of bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease in the Russian Federation: research report for 2008–2009*. Moscow: Kachestvo zhizni; 2010 (In Russ.)]
- Chuchalin AG, Khaltayev N, Antonov NS, Galkin DV, Manakov LG, Antonini P, et al. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014;(9):963–74. <https://doi.org/10.2147/copd.s67283>
- Олефир ЮВ. Результаты проведенного анализа и обобщения материалов по безопасности клинических исследований. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2017;5(1):5–10. [Olefir YuV. The results of the analysis of materials on the safety of clinical trials. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2017;5(1):5–10 (In Russ.)]
- Reddel HK, Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey HA, Busse WW, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: asthma control and exacerbations: standardizing endpoints for clinical asthma trials and clinical practice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(1):59–99. <https://doi.org/10.1164/rccm.200801-060st>

5. Yawn BP, Brennenman SK, Allen-Ramey FC, Cabana MD, Markson LE. Assessment of asthma severity and asthma control in children. *Pediatrics*. 2006;118(1):322–9. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-2576>
6. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18(5):716–25. <https://doi.org/10.1038/nm.2678>
7. Chung KF. Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies. *J Intern Med*. 2016;279(2):192–204. <https://doi.org/10.1111/joim.12382>
8. Курбачева ОМ, Павлова КС. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии. *Российский аллергологический журнал*. 2013;(1):15–24. [Kurbacheva OM, Pavlova KS. Phenotypes and endotypes of bronchial asthma: from pathogenesis and clinical features to therapy. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy*. 2013;(1):15–24 (In Russ.)]
9. Сергеева ГР, Емельянов АВ, Коровина ОВ, Знахуренко АА, Лешенкова ЕВ, Козырева ЛВ, Асатиани НЗ. Тяжелая бронхиальная астма: характеристика пациентов в клинической практике. *Терапевтический архив*. 2015;87(12):26–31. [Sergeeva GR, Emyeljanov AV, Korovina OV, Znakhurenko AA, Leshenkova EV, Kozyreva LV, Asatiani NZ. Severe asthma: characteristics of patients in clinical practice. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*. 2015;87(12):26–31 (In Russ.)]
10. Петрова ЕС, Горячев ДВ, Петров МВ. Современные подходы к оценке биоэквивалентности ингаляционных лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017;7(3):135–41. [Petrova ES, Goryachev DV, Petrov MV. Modern approaches to the assessment of orally inhaled products bioequivalence. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;7(3):135–41 (In Russ.)]
11. Siroux V, Pin I, Oryszczyn MP, Le Moual N, Kauffmann F. Relationships of active smoking to asthma and asthma severity in the EGEA study. Epidemiological study on the genetics and environment of asthma. *Eur Respir J*. 2000;15(3):470–7. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.2000.15.08.x>
12. Гноевых ВВ, Смирнова АЮ, Нагорнов ЮС, Шалашова ЕА, Куприянов АА, Портнова ЮА. Бронхиальная астма и табакокурение. *MEDLINE.RU*. 2011;12:261–89. [Gnoevykh VV, Smirnova AYU, Nagornov YuS, Shalashova EA, Kupriyanov AA, Portnova YuA. Bronchial asthma and smoking. *MEDLINE.RU = MEDLINE.RU*. 2011;12:261–89 (In Russ.)]
13. Авдеев СН. Опросник ACQ — новый инструмент контроля над бронхиальной астмой. *Пульмонология*. 2011;(2):93–9. [Avdeev SN. ACQ questionnaire as a new tool for assessing control of asthma. *Pulmonologiya = Pulmonology*. 2011;(2):93–9 (In Russ.)]
14. Огородова ЛМ, Кобыкова ОС. «АСТ» — новый инструмент для оценки контроля над бронхиальной астмой. *Аллергология*. 2005;(2):50–3. [Ogorodova LM, Kobyakova OS. «АСТ» — a new questionnaire for asthma control assessment. *Allergologiya = Allergology*. 2005;(2):50–3 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Петрова Елена Сергеевна, канд. мед. наук. *Elena S. Petrova, Cand. Sci. (Med.)*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9981-7306>
Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук. *Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.)*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Кузнецова Анна Дмитриевна. *Anna D. Kuznetsova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7989-4876>

Статья поступила 13.08.2020
После доработки 21.01.2021
Принята к печати 20.02.2021

Article was received 13 August 2020
Revised 21 January 2021
Accepted for publication 20 February 2021



Максим Борисович Иванов (к 50-летию со дня рождения)

Maxim B. Ivanov (on the 50th Anniversary)

3 февраля 2021 г. исполнилось 50 лет со дня рождения члена редколлегии журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения» доктора медицинских наук, доцента, директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ «НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России») Максима Борисовича Иванова.

М.Б. Иванов окончил в 1997 г. Военно-медицинскую академию им. С.М. Кирова, там же в 1998 г. защитил кандидатскую диссертацию по теме «Механизмы формирования повышенной судорожной готовности при интоксикации норборнаном».

В 1998–2001 гг. проходил службу в частях Военно-морского флота на должностях врача-специалиста токсикологического отдела Центральной медицинской лаборатории ВМФ (г. Обнинск Калужской области), а затем начальника отделения радиологии и токсикологии санитарно-эпидемиологического отряда Ленинградской военно-морской базы (Санкт-Петербург). В 2001–2012 гг. проходил службу и работал в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, начав с должности преподавателя кафедры военной токсикологии и медицинской защиты. За время работы на кафедре организовал новое направление научных исследований, посвященное исследованию механизмов развития судорожного синдрома при интоксикациях. В 2009 г. Максим Борисович защитил докторскую диссертацию по специальности «Токсикология», возглавил научно-исследовательскую лабораторию военной терапии кафедры военно-полевой терапии.

После увольнения из рядов Вооруженных сил Российской Федерации в 2011 г. М.Б. Иванов работал в лаборатории лекарственной и экологической токсикологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова под руководством академика Г.А. Софронова, а также в должности профессора кафедры экстремальной медицины Северо-Западного государственного медицинского университета

им. И.И. Мечникова, где организовал курс лекций по токсикологии и медицинской защите.

С июня 2012 г. Максим Борисович работает в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России, пройдя путь от ведущего научного сотрудника до директора института (с 2016 г.).

М.Б. Иванов — ветеран подразделений особого риска, ветеран военной службы, подполковник медицинской службы запаса, чемпион России по аэротрубным дисциплинам парашютного спорта. Награжден медалями «За отличие в военной службе» 1, 2, 3 степени, памятным знаком «Генерал-полковник Пикалов», знаками отличия «За заслуги в уничтожении химического оружия» 1, 2, 3 степени и «За вклад в химическое разоружение».

Максим Борисович успешно совмещает руководство научно-клиническим центром с научной деятельностью, является председателем диссертационных советов Д 208.030.01, ДС 208.006.01, Д 215.002.11, членом правления Санкт-Петербургского фармакологического общества и Санкт-Петербургского отделения Всероссийской общественной организации токсикологов.

Основная область научных интересов М.Б. Иванова — проблемы медицины катастроф, экотоксикологии, изучение молекулярных механизмов действия нейротоксикантов, а также фармакологической активности лигандов систем транспорта моноаминов, исследование молекулярных и генетических маркеров структурно-функциональных нарушений центральной нервной системы, токсикологическая характеристика синтетических антидотов при токсическом отравлении. Он является автором более 210 научных трудов, в том числе 4 монографий, 2 учебников, 10 учебных пособий, 4 изобретений и 17 рационализаторских предложений. Под руководством М.Б. Иванова защищены 5 кандидатских диссертаций по специальности «Токсикология».

Искренне поздравляем Максима Борисовича с юбилеем, желаем творческих успехов и новых достижений!



Николай Львович Шимановский
(к 70-летию со дня рождения)

Nikolay L. Shimanovsky
(on the 70th Anniversary)

19 марта 2021 г. исполнилось 70 лет члену редакционного совета журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения» Николаю Львовичу Шимановскому — доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту РАН, лауреату Государственной премии Российской Федерации в области науки и техники, заведующему кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Н.Л. Шимановский окончил медико-биологический факультет 2-го Московского медицинского института им. Н.И. Пирогова в 1974 г., с этого времени вся его трудовая деятельность была связана с этим факультетом. С 1974 по 1977 г. он учился в аспирантуре на кафедре молекулярной фармакологии и радиобиологии и защитил диссертацию по теме «Исследование взаимодействия рентгеноконтрастных средств с некоторыми составными компонентами крови». С 1980 г. Николай Львович начал работать на этой же кафедре в должности ассистента, а с 1983 г. — старшего научного сотрудника в группе по изучению фармакокинетики рентгеноконтрастных средств (в этот период были изучены и внедрены в клиническую практику рентгеноконтрастные средства билигност, триомбаст, йодамид, липотраст).

С 1989 г. Н.Л. Шимановский — заведующий научно-исследовательской лабораторией молекулярной фармакологии, а с 2007 г. — заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. В 2016–2018 гг. исполнял обязанности декана медико-биологического факультета.

Основными темами исследований Николая Львовича являются разработка новых контрастных средств, а также поиск новых гормональных лекарственных средств стероидной структуры путем изучения молекулярных механизмов их биологической

активности и органотропности. В 1990 г. защитил докторскую диссертацию по теме «Молекулярная фармакология рентгеноконтрастных средств». Результатами работы в области фармакологии диагностических препаратов магнитно-резонансных контрастных средств стали патенты на изобретения, а также пять монографий и учебное пособие «Радиационные медицинские технологии».

В 1992–1997 гг. Николай Львович являлся заместителем председателя Научного совета государственной научно-технической программы «Создание новых лекарственных средств методами химического и биологического синтеза», в 1994–2005 гг. входил в состав фармакологической комиссии Фармакопейного комитета Минздрава России, с 1989 г. — в состав экспертной комиссии по контрастно-диагностическим средствам Минздрава России, а затем специализированной экспертной комиссии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России по радиофармацевтическим и рентгеноконтрастным средствам, является экспертом РАН, включен в Федеральный реестр экспертов научно-технической сферы.

Н.Л. Шимановский — заместитель председателя специализированного диссертационного совета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, руководитель ведущей научной школы по фармакологии (грант Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации № НШ-4155.2008.7), главный редактор «Химико-фармацевтического журнала», член редколлегии и редсоветов ряда научных медицинских журналов.

Н.Л. Шимановским лично и в соавторстве опубликовано более 500 научных трудов. Под его руководством выполнены и защищены 14 кандидатских и 7 докторских диссертаций. Он является автором 16 патентов в области разработки новых лекарственных средств.

Редакция и редколлегия журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения» сердечно поздравляют юбиляра и желают долгих лет жизни, крепкого здоровья и творческих успехов!



**Подписку на журнал можно оформить
в любом отделении «Почты России».**

Подписной индекс издания:

- с любого номера в региональных агентствах подписки
Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57942
- по объединенному каталогу
«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — Т57942

