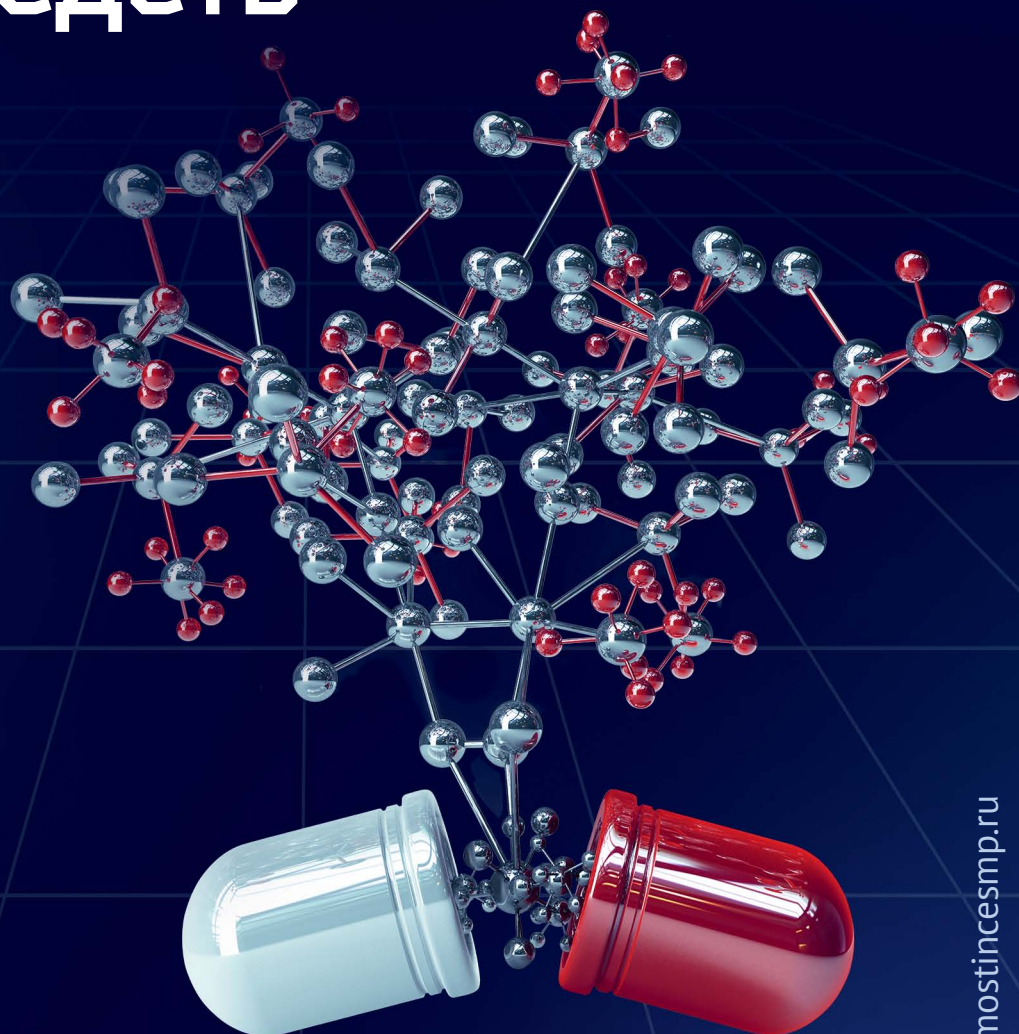


Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств



ГЛАВНАЯ ТЕМА:

Клинические исследования лекарственных средств

QR-гид: документы в мгновенном доступе

Решения Совета Евразийской экономической комиссии



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»



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



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза»



Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»

Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 г. № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»



Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 15 сентября 2020 г. № 111 «Об утверждении Руководства по фармакокинетическому и клиническому изучению биоэквивалентности липосомальных лекарственных препаратов для внутривенного введения»

Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17 июля 2018 г. № 11 «О Руководстве по общим вопросам клинических исследований»



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 2 сентября 2019 г. № 25 «О Руководстве по доклинической и клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов»



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 03 ноября 2020 г. № 19 «О Руководстве по применению принципов биостатистики в клинических исследованиях лекарственных препаратов»



Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 15 сентября 2020 г. № 15 «О руководстве по оценке качества и исследованию биоэквивалентности отдельных групп лекарственных препаратов»

Приказы Министерства здравоохранения Российской Федерации



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

Расширенный перечень нормативных документов в области регулирования экспертизы и регистрации лекарственных средств представлен на сайте ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России <https://www.regmed.ru/activity/normativnye-pravovye-akty-ls/>





Уважаемые читатели!

Данный номер журнала посвящен вопросам проведения клинических исследований в рамках регуляторной практики лекарственных препаратов. Клинические исследования – это один из основных инструментов для доказательства состоятельности и обоснованности разработки новых лекарственных препаратов. Классическая последовательность из трех фаз клинических исследований является основой для планирования клинической разработки лекарственных препаратов, однако требования к особенностям дизайна, выбора критериев оценок и ва-

риантов анализа представляют собой динамичную область, которая постоянно испытывает влияние научных достижений и международных подходов.

В то же время клинические исследования не всегда применяются в программах разработки воспроизведенных препаратов: исследования биоэквивалентности могут быть заменены программой доклинического изучения («биовейвер»). Особенности различных групп препаратов диктуют необходимость делать акцент на частных вопросах и частных требованиях, порой нарушая принцип «от общего к частному». В нормативных документах Евразийского экономического союза определены общие принципы проведения клинических исследований, общие принципы биостатистики, применяемой в клинических исследованиях, однако очевиден дефицит частных руководств. В этой связи принципиальным становится выделение наиболее актуальных частных и прикладных вопросов по этой тематике для выработки принципиальной позиции.

В журнале представлено несколько статей, связанных с частными рекомендациями по программе клинических исследований препаратов для лечения определенных групп заболеваний. Обозначенный в статьях взгляд специалистов экспертного учреждения, очевидно, позволит разработчикам оптимизировать затраты времени и ресурсов при планировании исследований для новых препаратов. Мы намерены и в дальнейшем публиковать статьи, отражающие важные аспекты программ клинических исследований для препаратов различных групп.

*Искренне ваша,
главный редактор*

**Косенко
Валентина Владимировна**

Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств

Рецензируемый научно-практический журнал

Учредитель и издатель:

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

Главный редактор:

Косенко Валентина Владимировна,
канд. фарм. наук

Шеф-редактор:

Федотова Ольга Федоровна
тел.: +7 (495) 121-06-00 (доб. 63-05)
Fedotovaof@expmed.ru

Ответственный редактор:

Гойкалова Ольга Юрьевна, канд. биол. наук, доц.

Ответственный редактор тематического выпуска:

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук

Научные редакторы:

Молчан Нина Валерьевна, канд. фарм. наук
Хрущева Мария Леонидовна, канд. хим. наук

Редактор:

Калиничев Сергей Анатольевич, канд. фарм. наук

Редактор перевода:

Балтина Любовь Александровна

Адрес учредителя и редакции:

127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2
тел.: +7 (499) 190-18-18
(доб. 63-41, 63-65)
vedomosti@expmed.ru

www.vedomostincesmp.ru

Журнал основан в 1999 году.

Выходит ежеквартально (четыре выпуска в год).

Журнал открытого доступа, индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных:

Chemical Abstracts (CAS), Embase, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Russian Science Citation Index (RSCI), RUSMED, его архив включен в базы крупнейших агрегаторов научных ресурсов и библиотек WorldCat, DOAJ, Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), КиберЛенинка, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, ЭБС ЛАНЬ, Соционет, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations и др.

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ – 0,429.

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.

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 высокотехнологические 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 медицинским, фармацевтическим и химическим отраслям науки и следующим научным специальностям:

- Промышленная фармация и технология получения лекарств;
- Фармацевтическая химия, фармакогнозия;
- Организация фармацевтического дела;
- Фармакология, клиническая фармакология.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается
Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 (CC BY 4.0)

Подписано в печать:	06.12.2023
Дата выхода в свет	14.12.2023
Подписной индекс	в каталоге «Пресса России» – 57942, в каталоге агентства «Урал-Пресс» – 57942

© Оформление, составление. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2023

Редакционная коллегия

Главный редактор

Косенко Валентина Владимировна, канд. фарм. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Заместители главного редактора

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

Родин Игорь Александрович, д-р хим. наук, проф., МГУ им. М.В. Ломоносова, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Ответственный секретарь

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

Члены редакционной коллегии

Астапенко Елена Михайловна, канд. техн. наук, Минздрав России (Москва, Россия)

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

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

Гейн Владимир Леонидович, д-р хим. наук, проф., ПГФА (Пермь, Россия)

Глаголев Сергей Владимирович, Минздрав России (Москва, Россия)

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

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

Дмитриев Виктор Александрович, канд. мед. наук, Ассоциация российских фармацевтических производителей (Москва, Россия)

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

Егорова Светлана Николаевна, д-р фарм. наук, проф., Казанский ГМУ (Казань, Россия)

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

Кайтель Сьюзан, Ph.D. (Бонн, Германия)

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

Кузьмина Наталия Евгеньевна, д-р хим. 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)

Ремезова Ирина Петровна, д-р фарм. наук, проф., ПМФИ (Пятигорск, Россия)

Рождественский Дмитрий Анатольевич, канд. мед. наук, Департамент технического регулирования и аккредитации ЕЭК (Москва, Россия)

Самылина Ирина Александровна, член-корр. РАН, д-р фарм. наук, проф., Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)

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

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

Темердашев Азамат Зауалевич, д-р хим. наук, КубГУ (Краснодар, Россия)

Тулегенова Ардак Уринбасаровна, д-р фарм. наук, проф., Фармакопейный комитет ЕАЭС (Москва, Россия)

Хохлов Александр Леонидович, акад. РАН, 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)

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)

Регистрация	Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-82931 от 14 марта 2022 г.
Исполнитель	ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5
Типография	ООО «Издательство «Триада»: 170034, Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 514
Тираж	150 экз. Цена свободная

Regulatory Research and Medicine Evaluation

Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya
Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv

A peer-reviewed research and practice journal

Founder and publisher:

Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation

Editor-in-Chief:

Valentina V. Kosenko,
Cand. Sci. (Pharm.)

Managing Editor:

Olga F. Fedotova
tel.: +7 (495) 121-06-00 (ext. 63-05)
Fedotovaof@expmed.ru

Executive Editor:

Olga Yu. Goykalova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

Guest Editor for the Special Issue:

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.)

Science Editors:

Nina V. Molchan, Cand. Sci. (Pharm.)
Maria L. Khrushcheva, Cand. Sci. (Chem.)

Editor:

Sergey A. Kalinichev, Cand. Sci. (Pharm.)

Translation Editor:

Liubov A. Baltina

Postal address of the founder and editorial office:

8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051
tel.: +7 (499) 190-18-18
(ext. 63-41, 63-65)
vedomosti@expmed.ru

Founded in 1999.

Published quarterly (four issues per year).

This is an open access journal indexed in Russian and international abstracting and indexing databases: Chemical Abstracts (CAS), Embase, Russian Index of Science Citation (RISC), Russian Science Citation Index (RSCI), and RUSMED, with the archive included in major aggregator databases, such as WorldCat, DOAJ, Russian State Library, Google Scholar, CyberLeninka, BASE, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lan' ELS, Socionet, Research4life, Lens.org, Openaire.eu, Ulrichsweb, Mendeley, Unpaywall, OpenCitations, etc.

The journal's two-year impact factor is 0.429.

The journal is included in the official List of peer-reviewed scientific journals which guarantee acknowledgement of the published research by the State Commission that grants Candidate of Science and Doctor of Science degrees.

The journal covers advances in the areas of standardisation and quality control of various groups of medicines, development and improvement of analytical test procedures, and approaches to the evaluation of medicinal products, including assessment of medicine interchangeability. It discusses new sophisticated methods of preclinical and clinical research, relevant issues of pharmacology and clinical medicine, and rational use of medicines based on personalised medicine principles.

The journal publishes reviews and original articles, brief communications, guidance materials related to medical and pharmaceutical sciences and the following specialist fields:

- Pharmaceutical formulation and manufacturing;
- Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy;
- Pharmaceutical management;
- Pharmacology, clinical pharmacology.

www.vedomostincesmp.ru

There is no fee for publishing an article and reviewing a manuscript
The content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International licence (CC BY 4.0)

Passed for printing:	06.12.2023
Date of publication:	14.12.2023
Subscription codes	Pressa Rossii catalogue: 57942
	Ural-Press agency catalogue: 57942

© Compilation, design. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2023

Editorial Board

Editor-in-Chief

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

Deputy Editors-in-Chief

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

Igor A. Rodin, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Lomonosov Moscow State University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Executive Secretary

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

Editorial Board Members

Elena M. Astapenko, Cand. Sci. (Tech.), Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Gulomkodir M. Bobizoda, Dr. Sci. (Biol.), Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Tajik State Pedagogical University named after Sadриддин Aini (Dushanbe, Republic of Tajikistan)

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

Vladimir L. Gein, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Perm State Pharmaceutical Academy (Perm, Russia)

Sergey V. Glagolev, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

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

Irina V. Gravel, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Victor A. Dmitriev, Cand. Sci. (Med.), Association of the Russian Pharmaceutical Manufacturers (Moscow, Russia)

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

Svetlana N. Egorova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Kazan Medical University (Kazan, Russia)

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

Susanne Keitel, Ph.D. (Bonn, Germany)

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

Natalia E. Kuz'mina, Dr. Sci. (Chem.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Research-and-manufacturing Company 'HOME OF PHARMACY' (Leningrad Region, 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)

Irina P. Remezova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute (Pyatigorsk, Russia)

Dmitry A. Rozhdestvensky, Cand. Sci. (Med.), Department for Technical Regulation and Accreditation of the Eurasian Economic Commission (Moscow, Russia)

Irina A. Samylina, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Dmitry A. Sychev, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow, Russia)

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

Azamat Z. Temerdashev, Dr. Sci. (Chem.), Kuban State University (Krasnodar, Russia)

Ardak U. Tulegenova, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Pharmacopoeial Committee of the Eurasian Economic Union

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

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

Roza I. Yagudina, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

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

Registration	The journal is registered as mass media by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications. Certificate PI No. FS77-82931 dated March 14, 2022
Contract publisher	NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow 115114
Printing office	Triada Publishing House: 9 Tchaikovsky Ave, office 514, Tver 170034
Print run	150 copies. Free price

Содержание

Том 13, №4 2023

ГЛАВНАЯ ТЕМА:		КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
		АВТОРИТЕТНОЕ МНЕНИЕ
Ю.Н. Линькова	488	Отечественная регуляторная система в области клинических исследований соответствует международным подходам
		ПРОГРАММЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
А.И. Губенко, Г.В. Шукшина, А.И. Муравьева, Н.Е. Уварова	493	Рекомендации по программе клинических исследований лекарственных препаратов для лечения гриппа
И.А. Проскурина, Т.Е. Горская, Д.В. Горячев	503	Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения ожирения
А.И. Губенко, Д.В. Горячев, А.И. Муравьева, Г.В. Шукшина	519	Планирование программы клинических исследований препаратов прямого противовирусного действия для лечения хронического вирусного гепатита С
		ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ
Р.Е. Казаков, Г.И. Городецкая, Р.В. Арчвадзе, А.В. Завтоньев, А.В. Данилов, Д.Л. Фетлам, Д.А. Ишалаев, Н.Г. Бердникова, Е.Ю. Демченкова	531	Особенности развития токсической нефропатии при проведении антибиотикотерапии
Т.Ф. Субботина, Ю.А. Кудяев, Н.Л. Лоховинина, М.З. Алугшвили, И.Т. Абесадзе, И.В. Титенков, М.А. Чернявский, А.В. Панов, А.А. Жлоба	540	Метаболическая модель для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере использования никорандила
		ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
Т.А. Батуашвили, Е.О. Чечетова, П.В. Шадрин, Н.П. Неугодова	549	Определение биологической активности гонадотропинов на инбредных и аутбредных животных. Часть 1: Определение биологической активности фолликулостимулирующего гормона
В.А. Евтеев, Н.Д. Бунятян, Е.Ю. Демченкова, А.Б. Прокофьев	560	Сравнительная оценка рекомендаций по доклиническим исследованиям межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров
		ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ
О.В. Евдокимова, А.В. Бекетова, О.А. Наумова, И.В. Клинова, Т.Б. Шемерянкина, Л.А. Ладыгина, К.С. Бущик	567	Современные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов
Н.Е. Кузьмина, С.В. Моисеев, Е.Ю. Северинова, В.А. Евтеев, В.В. Косенко	578	Изучение методами спектроскопии ЯМР особенностей гипромеллозы фталата — компонента кишечнорастворимых оболочек лекарственных препаратов
		РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПО ПРОЦЕДУРЕ ЕАЭС
А.Г. Заремба, Е.М. Рычихина	586	Соотнесение норм национального права и права ЕАЭС в сфере регулирования обращения лекарственных средств до и после 1 января 2026 года

Contents

Volume 13, No. 4 2023

MAIN TOPIC:		CLINICAL TRIALS OF MEDICINES
		AUTHORITATIVE OPINION
<i>Yu.N. Linkova</i>	488	Russian Regulatory System for Clinical Trials is Consistent with International Approaches
		CLINICAL TRIAL PROGRAMMES
<i>A.I. Gubenko, G.V. Shukshina, A.I. Muravieva, N.E. Uvarova</i>	493	Recommendations for the Programme of Clinical Trials of Medicinal Products for the Treatment of Influenza
<i>I.A. Proskurina, T.E. Gorskaya, D.V. Goryachev</i>	503	Planning of Clinical Trial Programmes for Medicines for the Treatment of Obesity
<i>A.I. Gubenko, D.V. Goryachev, A.I. Muravieva, G.V. Shukshina</i>	519	Planning a Clinical Trial Programme for Direct-Acting Antivirals for Chronic Viral Hepatitis C
		PATHOGENESIS ISSUES
<i>R.E. Kazakov, G.I. Gorodetskaya, R.V. Archvadze, A.V. Zavtonev, A.V. Danilov, D.L. Fetlam, D.A. Ishalev, N.G. Berdnikova, E.Yu. Demchenkova</i>	531	Features of Toxic Nephropathy Development during Antibiotic Therapy
<i>T.F. Subbotina, Yu.A. Kudaev, N.L. Lokhovinina, M.Z. Alugishvili, I.T. Abesadze, I.V. Titenkov, M.A. Chernyavskiy, A.V. Panov, A.A. Zhloba</i>	540	Metabolic Model for Laboratory Control of Anti-ischaeemic Therapy Effectiveness: A Case Study of Nicorandil
		PRECLINICAL STUDIES
<i>T.A. Batuashvili, E.O. Chechetova, P.V. Shadrin, N.P. Neugodova</i>	549	Determination of Biological Activity of Gonadotrophins in Inbred and Outbred Animals. Part 1: Determination of Biological Activity of Follicle-Stimulating Hormone
<i>V.A. Evteev, N.D. Bunyatyan, E.Yu. Demchenkova, A.B. Prokofiev</i>	560	Comparative Evaluation of Recommendations for Preclinical Studies of Transporter-Mediated Drug–Drug Interactions
		INSTRUMENTAL ANALYTICAL METHODS
<i>O.V. Evdokimova, A.V. Beketova, O.A. Naumova, I.V. Klinkova, T.B. Shemeryankina, L.A. Ladygina, K.S. Bushchik</i>	567	Modern Methods for Identification and Quantification of Cardiac Glycosides
<i>N.E. Kuz'mina, S.V. Moiseev, E.Yu. Severinova, V.A. Evteev, V.V. Kosenko</i>	578	NMR Spectroscopy Study of the Structure of Hypromellose Phthalate, a Component of Enteric Coatings of Medicinal Products
		REGISTRATION OF MEDICINAL PRODUCTS ACCORDING TO THE EAEU PROCEDURE
<i>A.G. Zaremba, E.M. Rychikhina</i>	586	Analysis of the Provisions of National and EAEU Legislation Regulating Pharmaceuticals before and after 1 January 2026



Ю.Н. Линькова

Отечественная регуляторная система в области клинических исследований соответствует международным подходам

Акционерное общество «БИОКАД»,
вн. тер. г. поселок Стрельна, п. Стрельна, ул. Связи, д. 38, стр. 1,
Санкт-Петербург, 198515, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Клинические исследования являются важнейшей стадией разработки эффективных и безопасных лекарственных препаратов. Своими взглядами на регулирование клинических исследований в Российской Федерации делится заместитель генерального директора по клинической разработке и исследованиям АО «БИОКАД» кандидат медицинских наук Ю.Н. Линькова.

Ключевые слова: клинические исследования; система регулирования клинических исследований; регуляторика; регистрация лекарственных препаратов; разработка лекарственных препаратов; ускоренная регистрация

Для цитирования: Линькова Ю.Н. Отечественная регуляторная система в области клинических исследований соответствует международным подходам. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):488–492. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-488-492>

Yulia N. Linkova

Russian Regulatory System for Clinical Trials Is Consistent with International Approaches

BIOCAD JSC,
38/1 Svyazi St., Strelina, St Petersburg 198515, Russian Federation

ABSTRACT

Clinical trials are the most important stage in the development of effective and safe medicinal products. Yu.N. Linkova, Candidate of Medical Sciences, Vice President for Clinical Research and Development at BIOCAD, shares her perspective on clinical trial regulation in the Russian Federation.

Keywords: clinical trials; regulatory system for clinical trials; medicines regulation; authorisation of medicinal products; drug development; accelerated marketing authorisation

For citation: Linkova Yu.N. Russian regulatory system for clinical trials is consistent with international approaches. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):488–492. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-488-492>



Юлия ЛИНЬКОВА:
**«Отечественная регуляторная система
 в области клинических исследований
 соответствует международным
 подходам»**

– Юлия Николаевна, в компании BIOCAD вы отвечаете за проведение клинических исследований лекарственных препаратов. Разработка новых препаратов – одна из важнейших задач современной фармацевтической отрасли России. Насколько, по вашему мнению, регулирование проведения клинических исследований в Российской Федерации адаптировано под разработку новых лекарственных препаратов?

В целом регулирование проведения клинических исследований в Российской Федерации созвучно с международными подходами. В высокоэффективном и безопасном препарате, по сути, заинтересованы и регуляторные органы, и фармацевтическая компания, и пациенты. На наш взгляд, за последнее десятилетие все три стороны процесса стали гораздо теснее сотрудничать между собой, более гибко (на основании доказательных научных сведений) оценивать имеющиеся риски и возможности при разработке того или иного препарата.

Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2022 г. № 36 были внесены изменения в Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, открывшие широкие возможности для быстрого обеспечения потребности системы здравоохранения в новых лекарственных препаратах. Если смотреть со стороны фармацевтической компании, нельзя не отметить важность механизмов ранней регистрации новых препаратов. Они значительно изменяют наши возможности по клинической разработке. Если бы они не существовали, во многих случаях нам пришлось бы отказаться от своих идей. Конечно, внедрение дополнительных механизмов, таких

как ускоренная процедура рассмотрения документов для регистрации нового препарата (ускоренная экспертиза), в том числе прорывной терапии, и регистрация препаратов на основе сокращенных клинических данных (условная регистрация), дают дополнительную основу для гибкого подхода к регистрации и клинической разработке препарата.

Проиллюстрирую потенциал ранней регистрации примером. Допустим, есть препарат для лечения пациентов с тяжелым заболеванием. Получены данные несравнительного клинического исследования: эффективность этого препарата в несколько раз превышает исторический контроль, профиль безопасности благоприятный. С одной стороны, мы знаем, что рандомизированное клиническое исследование – «золотой стандарт» при разработке нового препарата, но, с другой стороны, уже на данном этапе видим очевидные преимущества этого препарата. Проведение крупного клинического исследования может отложить регистрацию препарата на годы, а он нужен здесь и сейчас. Вот тут и возникает необходимость тщательной оценки всех рисков и возможностей управления ими. Мы рады констатировать, что в Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС) внедряются лучшие мировые практики для ускорения вывода лекарственных препаратов на рынок в тех случаях, где это необходимо.

– Есть ли существенные различия отечественной и зарубежных систем регулирования?

На наш взгляд, принципиальных отличий нет, однако везде есть свои особенности. Если сравнивать мировые подходы к требованиям к клинической разработке препаратов, регуляторика

Российской Федерации может быть отнесена к достаточно консервативным. Плюсы состоят в безусловной надежности применяемых подходов, минусы могут быть хорошо проиллюстрированы примером Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA) и Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (FDA), которые изначально имели полярные взгляды на разработку биоаналогов. Возьмем пример с низкомолекулярными гепаринами. EMA причисляли их к биоаналогам и требовали проведения сравнительных клинических исследований, а FDA — к полусинтетическим препаратам и не требовали такового. После того как фармацевтические компании стали отказываться проводить регистрационные клинические исследования, EMA пересмотрели свои требования.

– Появились ли сложности при переходе от национальной системы регулирования к системе регулирования ЕАЭС?

Безусловно, при смене или внедрении новых законодательных требований всегда есть некоторые затруднения в процессах, декларированных новыми нормативно-правовыми актами, как со стороны бизнеса, так и со стороны государства. Сейчас время, когда вся нормативная база ЕАЭС находится на начальной стадии практического применения и выявляются пробелы законодательства в реальных процессах регистрации лекарственных средств. Но важно отметить: есть понимание, что для фармацевтических компаний и отрасли в целом требуется время на перестройку процессов. Регуляторные механизмы ЕАЭС позволяют нивелировать правовые пробелы законодательства и находить пути решения в ускорении регистрационных процессов. У ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России даже есть собственный telegram-канал с ответами на сложные или часто задаваемые заявителями вопросы¹. Таким образом, сейчас реализуется активная совместная работа регуляторных органов и производителя в целях выстраивания системы реального правоприменения законодательства ЕАЭС.

Законодательство ЕАЭС меняет внутренние процессы, подходы к формированию документов и проведению исследований в фармацевтических компаниях, и во многом в лучшую сторону. Например, в отношении регистрационного досье: формат ОТД (общий технический документ) ЕАЭС является аналогичным формату международного досье CTD (common technical document), который достаточно давно внедрен

в компании, со времени начала международных процессов регистрации. Для нас это унификация досье в едином формате, так как требования Федерального закона Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» подразумевали иную структуру досье, и приходилось формировать отдельное досье. Что касается требований по объему исследований, предоставляемых в досье ЕАЭС, на наш взгляд, они являются объективными и достаточными и не представляют затруднения при их формировании.

– Насколько руководства и требования ЕАЭС по клиническим исследованиям соответствуют современным подходам международных регуляторных органов?

В целом подходы ЕАЭС во многом гармонизированы с другими ведущими международными регуляторными органами. Как правило, это необходимая мера, поскольку большинство фармацевтических компаний проводят единое регистрационное клиническое исследование для всех регионов, исключая только ряд стран, таких как Китай, имеющих специфические строгие требования к изучению влияния этнического фактора.

Существует формальное препятствие, касающееся сертификации клинических центров и аналитических лабораторий. Международные регуляторные органы не всегда доверяют статусам GCP исследовательских центров, расположенных в Российской Федерации, и часто желают видеть в регистрационном файле международные сертификаты GCP/GLP, например, GLP ОЭСР.

Регуляторные органы некоторых стран требуют предоставления дополнительных документов, зачастую дублирующих информацию, представленную в других разделах. Иногда мы наблюдаем устоявшийся последовательный алгоритм рассмотрения документации, что в целом удлиняет сроки получения разрешения на проведение клинического исследования. В этом плане проведение клинических исследований согласно ЕАЭС является более комфортным для нас.

– Что хотелось бы изменить в этой области?

Многие вопросы формирования общих подходов к регулированию обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза удается эффективно решать благодаря участию представителей компании в заседаниях профильной рабочей группы.

¹ <https://t.me/regmedcentre>

Для разработчиков важным аспектом практического применения регуляторики является научное консультирование перед подачей заявления на регистрацию. В настоящее время экспертное учреждение не может консультировать разработчиков в рамках установленной процедуры, хотя сама возможность для такого консультирования предусмотрена законодательством ЕАЭС. Совместные усилия экспертного учреждения и разработчика лекарственного препарата позволяют сократить время его пути до пациента. Так, например, в определенных случаях могут быть выработаны и согласованы возможности отступить от стандартного пути разработки, например использовать суррогатные маркеры эффективности или иной дизайн исследования. Важно отметить, что крайне желательным является осуществление консультирования теми же экспертами, которые в последующем будут проводить оценку регистрационного досье. В развитых регуляторных системах США и Европейского союза применяется комплексная многоступенчатая система научного консультирования разработчиков лекарственных препаратов, востребованная системой здравоохранения.

В России тоже необходима подобная процедура. Внедрение различных типов научного консультирования позволит организовать эффективную поддержку разработки инновационных лекарственных препаратов и ускорит доступ таких препаратов для пациентов. Но важно учесть имеющийся опыт такого консультирования и в других странах, который при всех достоинствах часто имеет существенный недостаток — пространственные формулировки и неоднозначные ответы.

– Как вы оцениваете работу отечественной регуляторной системы с точки зрения вывода на рынок оригинальных препаратов, в том числе орфанных?

Безусловно, мы высоко оцениваем работу отечественной регуляторной системы. В нашем понимании она соответствует международным подходам. В настоящее время разработан механизм условной регистрации, он стимулирует к разработке сложных адаптивных дизайнов клинических исследований, позволяющих получить регистрационное удостоверение в более ранние сроки без потери доказательности полученных данных.

При клинической разработке орфанных препаратов зачастую не представляется возможным идти по строгому консервативному сценарию ввиду редкой встречаемости заболеваний.

Со своей стороны, в таких случаях мы осторожно, ориентируясь на международный опыт (если таковой есть), базируясь на доказательности получаемых в клиническом исследовании сведений и необходимости обеспечить безопасность участников исследования, отказываемся от определенных элементов «стандартной» клинической разработки. Российские регуляторные органы оценивают дизайны наших исследований, анализируют обоснования и либо разрешает проведение исследования, либо требует внесения определенных корректив. Это приобретает особую актуальность при разработке генотерапевтических препаратов, которые часто предназначены для лечения именно орфанных заболеваний. Поскольку накопленного мирового опыта в разработке таких препаратов недостаточно, требуется проведение детальной и тщательной экспертизы как с нашей стороны, так и со стороны государства. В пайплайне компании сейчас имеется 3 генотерапевтических препарата на стадии клинических исследований и 3 препарата на более ранних стадиях. Для каждого заболевания, при которых применяются эти препараты, разработан свой уникальный путь клинической разработки.

– Представители отечественных компаний, разрабатывающих оригинальные препараты, часто заявляют об избыточности требований к клиническим исследованиям для целей регистрации. Согласны ли вы с таким мнением?

Конечно, Россия для нас была и будет основной страной для внедрения в практику высокотехнологичных препаратов, но мы ориентированы также и на международный рынок, поэтому гармонизация требований с международными подходами — это то, что нам понятно и необходимо. Не считаем избыточными требования к клиническим исследованиям в целом. Конечно, нам интересны как можно более гибкие подходы к клинической разработке и регистрации там, где это обосновано. Мы со своей стороны брали бы на себя обязательства представления на пострегистрационном этапе данных по фармаконадзору, пострегистрационных исследований безопасности, результатов использования препарата в реальной клинической практике. В нашей компании есть все средства для получения таких данных.

Не могу не отметить, учитывая опыт общения с регуляторными органами многих стран в последние годы, очень компетентный экспертный уровень именно в России. Есть возможность

на высоком научном уровне получать экспертную оценку в различных областях — по вопросам качества препаратов, доклинической оценки, применения математического моделирования биологических процессов, статистического подхода и медицинской интерпретации клинических исследований.

– Удастся ли компании BIOCAD провести регистрацию лекарственных препаратов за рубежом быстрее и с меньшим объемом результатов клинических исследований, нежели в России?

Не удастся. Связано это прежде всего с тем, что большая часть участников клинических исследований набирается в нашей стране. Не все зарубежные регуляторные органы признают требования Российской Федерации к центрам и лабораториям. Нам приходится получать дополнительные сертификации центров или переносить часть международного клинического исследования в дальнее зарубежье, в центры, соответствующие требованиям международных регуляторных органов.

Так, например, получение разрешения на клинические исследования в Бразилии может занять от 6 месяцев до 1 года, в зависимости от типа препарата, для которого планируется клиническое исследование. Инспектирование российских центров также может занимать около года, учитывая время на обращение и прохождение инспекций.

Также играет роль требование об обязательном включении в международное клиническое исследование локальной популяции (например, в Китае и Мексике). Так, в Китае, прежде чем подавать заявление на разрешение на клинические исследования, необходимо предварительно завершить предшествующий этап pre-IND — консультацию с регуляторным органом, длительность которой может занимать

до 8 месяцев. Предварительные этапы также необходимо учитывать в общей стратегии проведения международного многоцентрового исследования, и наличие таких этапов не способствует ускорению и упрощению получения клинических данных.

Если говорить о разработке биоаналогов и воспроизведенных лекарственных препаратов, существует требование проводить исследование с препаратом сравнения, который находится в обращении на рынке страны (например, в Бразилии и Китае). Закупка и ввоз препарата сравнения с целевой территории, например в Россию, тоже непростой и длительный процесс: требуется найти подходящего поставщика, наладить цепочки поставки, получить разрешение на ввоз у Минздрава России, нередко требуется получить согласие на ввоз от правообладателя торговой марки.

– Каких регуляторных требований, по вашему мнению, явно не хватает для проведения клинических исследований?

В настоящее время требования к разработке малых молекул, моноклональных антител устоялись и представляются понятными. Однако создаются все более высокотехнологичные лекарственные средства, требующие инновационных подходов к клинической разработке, такие как генотерапевтические препараты, препараты на основе РНК. Не уверена, что нам нужны дополнительные требования, потому что разработка каждого из таких препаратов требует индивидуального подхода. Скорее, нужна возможность оперативного взаимодействия в рамках научных консультирования, при котором мы могли бы обсудить подходы к разработке таких препаратов, дизайны клинических и доклинических исследований и получить обратную связь от регуляторного органа.

ОБ АВТОРЕ / AUTHOR

Линькова Юлия Николаевна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5463-1022>
linkova@biocad.ru

Yulia N. Linkova, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5463-1022>
linkova@biocad.ru



А.И. Губенко 
Г.В. Шукшина  
А.И. Муравьева 
Н.Е. Уварова 

Рекомендации по программе клинических исследований лекарственных препаратов для лечения гриппа

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

✉ Шукшина Галина Викторовна; shukshinagv@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Последствия вспышек эпидемий гриппа, связанных с высоко-контагиозным характером инфекции, а также ограничения существующих методов лечения и возникновение лекарственной резистентности обуславливают актуальность разработки новых лекарственных препаратов для лечения этого заболевания. Надлежащее планирование программы и проведение клинических исследований, гарантирующих получение корректных данных об эффективности и безопасности разрабатываемых препаратов, обеспечивается соблюдением рекомендаций регуляторных органов. На данный момент в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе отсутствуют документы, содержащие рекомендации по проведению клинических исследований противовирусных препаратов. Существует потребность в разработке отечественного руководства, отражающего порядок проведения клинических исследований, а также регламентирующего необходимый объем данных, которые должны быть представлены при регистрации новых противовирусных препаратов.

Цель. Изучение основных возможных регуляторных подходов к планированию программ клинических исследований лекарственных препаратов для лечения гриппа.

Обсуждение. Особое внимание уделено клиническим исследованиям III фазы как основным исследованиям, подтверждающим эффективность и безопасность препарата. Описана стратегия клинических исследований препарата, требования к объему и качеству данных по эффективности и безопасности. Материал подготовлен на основе действующих рекомендаций к планированию и разработке лекарственных средств в Российской Федерации, руководства по экспертизе лекарственных средств и рекомендаций Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США.

Выводы. В результате проведенного анализа показана необходимость разработки отечественных рекомендаций по проведению клинических исследований препаратов для лечения гриппа с учетом специфики юридических норм и традиций российской клинической практики. Разработка таких рекомендаций приведет к ускорению ввода в практику новых эффективных препаратов против гриппа.

Ключевые слова: инфекционные болезни; грипп; клинические исследования; исследования с намеренным заражением; препараты против гриппа; противовирусные препараты

Для цитирования: Губенко А.И., Шукшина Г.В., Муравьева А.И., Уварова Н.Е. Рекомендации по программе клинических исследований лекарственных препаратов для лечения гриппа. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):493–502. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-400>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

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

Anna I. Gubenko 
Galina V. Shukshina 
Anna I. Muravieva 
Natalia E. Uvarova 

Recommendations for the Programme of Clinical Trials of Medicinal Products for the Treatment of Influenza

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

✉ Galina V. Shukshina; shukshinagv@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. The development of new medicinal products to treat influenza is motivated by the limitations of existing treatment options, the emergence of drug resistance, and the health consequences of influenza epidemics associated with the highly contagious nature of the virus. Proper planning and implementation of clinical programmes providing reliable data on the efficacy and safety of medicinal products under development requires adherence to recommendations of the regulatory authorities. At the moment, the Russian Federation, the Eurasian Economic Union, and the European Union lack documented recommendations on conducting clinical trials of anti-influenza medicines. There is a need in national guidelines that will reflect the procedure for conducting clinical trials and establish the required amount of data to be submitted with marketing applications for new anti-influenza products.

Aim. The study was aimed to analyse possible regulatory approaches to planning clinical development programmes for anti-influenza medicinal products.

Discussion. The article pays particular attention to phase III studies, as the main studies confirming efficacy and safety. The authors described a clinical development strategy and the requirements for the volume and quality of efficacy and safety data. This article is based on the current Russian recommendations for the design and development of medicinal products and guidelines on their evaluation, as well as the recommendations by the U.S. Food and Drug Administration (FDA).

Conclusions. The analysis results demonstrate the necessity for elaborating Russian recommendations for clinical studies of medicinal products for the treatment of influenza that will take into account the national legislation and clinical development practices. Such recommendations will streamline the implementation of new effective anti-influenza medicinal products.

Keywords: infectious diseases; influenza; clinical studies; challenge trials; anti-influenza medicinal products; antivirals

For citation: Gubenko A.I., Shukshina G.V., Muravieva A.I., Uvarova N.E. Recommendations for the programme of clinical trials of medicinal products for the treatment of influenza. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):493–502. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-400>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121021800098-4).

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

Введение

Грипп — острая высококонтагиозная респираторная инфекция. В связи с повышенной вирулентностью и антигенной изменчивостью вирус гриппа характеризуется высокой способностью к пандемическому распространению¹. До недавнего времени эпидемии гриппа приводили ежегодно к миллионам случаев тяжелой болезни и сотням тысяч смертей. Следует, однако,

отметить, что во время пандемии COVID-19 2020–2021 гг. в мире практически не были зарегистрированы случаи заболевания сезонным гриппом². По приводимым оценкам, заболеваемость гриппом в 2020–2021 гг. снизилась на 98% по сравнению с тем же периодом предыдущих лет³. В то же время отмечается тенденция к увеличению циркуляции вируса гриппа В и других менее характерных штаммов [1].

¹ Клинические рекомендации «Грипп у взрослых». Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2017.

² Readiness for influenza during the COVID-19 pandemic: policy brief, 6 November 2020. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336438>

³ Has Covid killed off the flu? Experts pose the intriguing question as influenza cases nosedive by 98% across the globe. 24 October 2020. <https://www.dailymail.co.uk/health/article-8875201/Has-Covid-killed-flu.html>

Большинство вирусов гриппа чувствительны к ингибиторам нейраминидазы, однако в процессе эволюции вируса гриппа это может измениться. Так, по информации Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) в настоящий момент практически 100% вируса гриппа устойчивы к действию амантадина и ремантадина⁴. Ввиду последствий эпидемии гриппа для общественного здоровья и изменчивого характера заболевания большой интерес представляют новые подходы к разработке лекарственных средств для лечения гриппа. Разработка препаратов с различным механизмом воздействия на вирус гриппа позволит минимизировать риск возникновения резистентности.

В настоящее время в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе отсутствуют нормативные и методические документы, руководства, регламентирующие вопросы планирования и проведения клинических исследований противогриппозных препаратов. Таким образом, существует необходимость в разработке документов и руководств, отражающих порядок проведения процедур и необходимый объем данных, которые должны быть представлены при регистрации новых препаратов для лечения гриппа.

В 2017 г. Европейское агентство по лекарственным средствам (European Medicine Agency, EMA) опубликовало документ, декларирующий необходимость разработки руководства по оценке эффективности новых противовирусных препаратов для лечения гриппа, в котором обозначены проблемы, с которыми приходится сталкиваться разработчикам при планировании клинических исследований⁵. Среди них общие вопросы, касающиеся исследуемой популяции пациентов, методы оценки эффективности препарата, дизайн исследования, аспекты безопасности фармакотерапии. Продолжается дискуссия о конечных точках эффективности в исследованиях лечения тяжелого гриппа. На сентябрь 2022 г. проект руководства EMA по-прежнему не представлен.

Руководство, описывающее основные принципы и ключевые моменты проведения доклинических и клинических исследований новых

препаратов против гриппа, было разработано Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (U.S. Food and Drug Administration, FDA). Данное руководство содержит современные международные регуляторные требования и составлено с учетом текущих научных и клинических знаний⁶.

Цель работы — изучение основных возможных регуляторных подходов к планированию программ клинических исследований лекарственных препаратов для лечения гриппа.

Ранние клинические этапы разработки

Клинические исследования фармакокинетики.

Фармакокинетика препарата зависит от способа его введения. При пероральном и парентеральном введении концентрации действующего вещества в плазме крови коррелируют с концентрациями в месте действия, но не с клиническим эффектом. При ингаляционном и интраназальном введении локальные концентрации действующего вещества в эпителиальном слое трахеи, бронхов или легких в большей степени коррелируют с противовирусной активностью препарата. Сравнение концентраций в целевом органе со значениями противовирусной активности, полученными в тесте на культуре клеток или у животных, может помочь в выборе доз препарата для проведения следующих фаз клинических исследований⁷.

Клинические исследования фармакодинамики.

Для многих противовирусных препаратов существует несоответствие между результатами тестов на чувствительность *in vitro* и данными о концентрации действующего вещества и клиническом эффекте *in vivo*. Проблема подбора дозы еще более усложняется из-за широкого спектра штаммов вируса гриппа и изменчивости их генома. Ранее установленные зависимости «концентрация–эффект» могут изменяться в течение одного сезона гриппа [2]. Вирусологический ответ или клинические конечные точки могут использоваться в качестве показателя ответа при оценке зависимости «доза–эффект». В качестве меры вирусологического ответа может использоваться титр вируса в назальных смывах, однако снижение титра вируса не должно использоваться

⁴ Influenza antiviral medications: summary for clinicians. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm#:~:text=The%20recommended%20treatment%20course%20for,for%20treatment%20of%20influenza%20B>

⁵ Concept paper on a guideline on the evaluation of medicinal products indicated for treatment of influenza (EMA/CHMP/EWP/808940/2016). EMA; 2017. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/concept-paper-guideline-evaluation-medicinal-products-indicated-treatment-influenza_en.pdf

⁶ Guidance for industry. Influenza: developing drugs for treatment and/or prophylaxis. 2011. <https://www.fda.gov/media/73339/download>

⁷ Там же.

в качестве основной конечной точки. При необходимости титр вируса может изучаться с использованием других видов образцов⁸.

После первичной оценки противовирусной активности на этапе доклинических исследований, исследований фармакокинетики, безопасности и переносимости препарата I фазы возможно проведение исследований II и III фаз клинических исследований.

Фаза IIA: исследования с намеренным заражением.

Изучение патогенеза гриппа и оценка эффективности лекарственных средств ограничены рядом факторов: сложности в проведении клинических исследований на достаточном количестве участников и определение конечных точек эффективности. В исследованиях с намеренным заражением лекарственный препарат вводится здоровым добровольцам после заражения известным экспериментальным штаммом вируса гриппа. В Российской Федерации на данный момент с юридической и этической точек зрения возможность проведения исследований с намеренным заражением отсутствует. В США проведение данного вида исследований законодательно регламентируется⁹ [3]. Исследования с намеренным заражением использовались, например, при клинической разработке препаратов ингибиторов нейраминидазы гриппа: осельтамивира [4] и перамивира [5].

Преимуществом данного вида исследований является возможность осуществлять строгий контроль таких критериев включения, как возраст, иммунный статус, предшествовавшая вакцинация. Заражение известным экспериментальным штаммом вируса позволяет эффективно спланировать исследования II фазы. Известный момент заражения позволяет получать данные до и после заражения в конкретные временные точки, что невозможно при инфицировании естественным путем [6]. Определенность в отношении сроков инфицирования, появления симптомов заболевания и начала терапии позволяет определять результаты различных методов терапии. В случае стационарного наблюдения за добровольцами становится возможным оценить влияние лекарственного препарата на выделение вируса, что было бы невозможно

в амбулаторных условиях. Возможность получения образцов крови, отделяемого дыхательных путей или других образцов может помочь в выявлении взаимосвязей между всасыванием, метаболизмом и выведением лекарственного препарата, а также в оценке противовирусных и клинических эффектов [7]. Полученные данные вносят определенный вклад в выбор дозы препарата для IIB и III фаз исследования, позволяют изучить влияние различных сроков начала приема лекарственного препарата на экспозицию вируса. Данный вид исследований позволяет получить информацию о безопасности, зависимости «доза–эффект», а также продемонстрировать фармакологическую противовирусную активность у человека в контролируемых условиях вне эпидемического сезона гриппа.

Выбор доз для исследований с намеренным заражением проводят на основе результатов исследований фармакокинетики и переносимости, проведенных на животных моделях и у человека; значениях противовирусной активности, полученных на культуре клеток, и другой необходимой информации. Фармакодинамические конечные точки должны включать клинические симптомы со стороны респираторного тракта, количественное определение вирусывыделения в назальных смывах¹⁰.

Поскольку штаммы вируса, используемые для экспериментального заражения, вызывают более легкое течение заболевания в сравнении с вирусами, циркулирующими в природе, данный вид исследований нельзя рассматривать как исследования эффективности с целью регистрации препарата. Данный вид исследования не позволяет спрогнозировать результаты лечения в случае появления новых циркулирующих и пандемических штаммов вируса гриппа. Требуется наличие адекватных исследований безопасности экспериментального штамма. Подобные исследования могут дать ценный и уникальный материал за короткий промежуток времени при малой численности участников, но они не могут заменить результаты оценки эффективности и безопасности исследуемой терапии в условиях эпидемического процесса и при проведении масштабных клинических исследований¹¹.

⁸ Там же.

⁹ Guidance for clinical investigators, sponsors, and IRBs. Investigational New Drug Applications (INDs) — Determining whether human research studies can be conducted without an IND. 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), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). 2013.

¹⁰ Guidance for industry. Influenza: developing drugs for treatment and/or prophylaxis. 2011. <https://www.fda.gov/media/73339/download>

¹¹ Там же.

Как упоминалось выше, в настоящее время вопрос о возможности проведения исследований с намеренным заражением в Российской Федерации остается неурегулированным. Принципиальное значение имеет внесение поправок в нормативно-правовые акты для признания возможности проведения подобных исследований. Без широкой юридической и этической оценки проведение исследований с намеренным заражением здоровых добровольцев, имеющим клинически значимые риски для здоровья граждан, не может быть признано обоснованным.

Фаза II: исследования по подбору дозы. Задача исследований по подбору дозы заключается в выборе лекарственной формы, дозы и режимов дозирования препарата. В зависимости от конечных точек исследования информация о зависимости «доза–эффект» позволяет установить взаимосвязь противовирусной активности в культуре клеток и экспозиции препарата; связать результаты, полученные в исследованиях на животных и исследованиях с участием пациентов; выработать подходы к клиническим исследованиям с рациональным диапазоном доз; оценить активность в отношении различных типов и подтипов вируса гриппа; провести анализ соотношения «польза–риск» при применении различных доз¹².

Клинические исследования по изучению зависимости «доза–эффект» должны быть строго контролируемые, с помощью которых, в случае оценки соответствующих клинических конечных точек у соответствующих групп пациентов, можно получить весомые доказательства в пользу эффективности лекарственного препарата. Дизайн исследований IIB фазы по подбору дозы зависит от популяции пациентов, в которой планируется проводить исследования III фазы, и данных о профиле безопасности исследуемого лекарственного средства, полученных в I фазе. Клинические исследования по подбору дозы проводят с достаточной статистической мощностью для выявления различий в вирусовыделении, а также различий в клинических симптомах, которые изучаются в качестве вторичных конечных точек. Полученные результаты используются при выборе доз для дальнейшего изучения в III фазе¹³.

В настоящее время нет ясности, какие фармакокинетические или фармакодинамические

параметры коррелируют с эффективностью лекарственного препарата в отношении вируса гриппа, а выбор вирусологических параметров для анализа зависимости «доза–эффект» определяется изучаемым штаммом вируса гриппа¹⁴.

Оценка эффективности и безопасности. При разработке лекарственных препаратов для лечения гриппа недопустимо использование суррогатных конечных точек, поскольку, ввиду особенностей заболевания, клинические преимущества препарата могут быть оценены только в течение короткого периода времени. Не определен суррогатный маркер, который в достаточной степени подходит для прогнозирования важных клинических исходов. Например, вместо определения вирусной нагрузки или вирусовыделения, которые, с точки зрения клинических исходов, недостаточно стандартизированы и описаны, можно использовать клиническое состояние, которое, как правило, возможно оценивать так же часто и быстро, как и вирусологический статус. У большинства пациентов элиминация вируса отмечается как на фоне терапии, так и в ее отсутствие, и связь изменения величины и длительности вирусовыделения на фоне лечения с клинически значимыми изменениями в исходах заболевания не была показана. Для оценки безопасности важно создать надежную базу данных по безопасности на основе строго контролируемых исследований у соответствующих популяций пациентов¹⁵.

Комбинированная терапия. Дополнительные преимущества совместного использования двух или более противовирусных лекарственных средств в терапии гриппа не установлены, однако комбинированная терапия потенциально может обладать синергическим или аддитивным противовирусным действием, предотвращать или отсрочивать появление резистентности. Сочетание лекарственных средств также может быть потенциально эффективно в тех случаях, когда известно, что циркулирующие в популяции вирусы гриппа различных типов или подтипов содержат мутации, обуславливающие резистентность, а доступные тесты для быстрой диагностики, позволяющие дифференцировать типы вируса или наличие мутации, отсутствуют. В этом случае целью комбинированной терапии является обеспечение стартовой терапии. Применение комбинаций и доз препаратов должно быть соответствующим образом

¹² Там же.

¹³ Там же.

¹⁴ Там же.

¹⁵ Там же.

обосновано¹⁶. При выборе препаратов для потенциального применения в комбинациях необходимо учитывать пути введения, режимы дозирования, профили нежелательных явлений и возможные лекарственные взаимодействия. Дизайн исследования должен быть спланирован таким образом, чтобы продемонстрировать вклад каждого компонента комбинированной терапии. Клинических исследований, в которых изучаются вирусологические конечные точки (противовирусная активность и резистентность), может быть достаточно для выявления эффективных комбинаций и их последующего изучения в более масштабных клинических исследованиях [8].

Оценка эффективности в исследованиях III фазы

Дизайн. Данные, полученные в исследованиях без группы контроля или с историческим контролем, не являются подходящими для целей подтверждения эффективности лекарственного препарата в связи с изменчивым клиническим течением гриппа в разные эпидемические сезоны, различиями в патогенности вируса и иммунном статусе пациентов, а также появлением новых штаммов вируса гриппа¹⁷.

В исследованиях, ставящих своей целью оценку эффективности лекарственного препарата для лечения неосложненного гриппа легкой и средней степени тяжести, должен использоваться плацебо-контролируемый дизайн. Помимо плацебо-контролируемого клинического исследования можно рассматривать следующие варианты дизайнов: исследования превосходства с зарегистрированными противовирусными лекарственными препаратами и (или) симптоматической терапией в качестве активного контроля у взрослых или детей, без сопутствующих заболеваний; исследования «доза-эффект» (или «концентрация-эффект»), в которых введение высоких доз препарата сопровождается значительно большим ответом, чем введение более низких доз¹⁸.

В клинических исследованиях у госпитализированных пациентов с гриппом тяжелой степени использование плацебо не поддерживается ведущими регуляторными органами EMA и FDA.

Альтернативными вариантами дизайна являются: рандомизированное слепое исследование «доза-эффект» (или «длительность-эффект»), в котором будет продемонстрирован значимый эффект лекарственного препарата; и исследование превосходства, в котором будет показано, что комбинация исследуемого лекарственного препарата с препаратом стандартной терапии превосходит терапию только препаратом стандартной терапии. Поскольку эпидемии гриппа непредсказуемы, включение в исследование пациентов с гриппом тяжелой степени или госпитализированных пациентов может оказаться проблематичным. В связи с субъективностью конечных точек, а также возможностью подмены симптомов естественного течения вирусной инфекции эффектами лекарственного препарата рекомендуется применение двойного слепого дизайна для минимизации риска возникновения необъективных выводов¹⁹.

Популяция пациентов. Чаще всего исследования III фазы нацелены на лечение неосложненного гриппа у пациентов, не имеющих сопутствующих заболеваний. Однако рекомендуется проводить исследования в группах повышенного риска тяжелого течения гриппа, к таким группам относятся пациенты с заболеваниями дыхательной и сердечно-сосудистой системы, пациенты со сниженным иммунитетом (например, ВИЧ-инфицированные пациенты, пациенты, перенесшие трансплантацию органов, пациенты, получающие химиотерапию), пациенты пожилого возраста. Фармакокинетические свойства, профиль эффективности и безопасности противовирусных препаратов у данных групп пациентов могут быть изменены из-за соответствующих заболеваний и физиологических изменений²⁰ [9]. Исследования в популяциях пациентов со сниженным иммунитетом к вирусу и высокой вирусной нагрузкой или длительной вирусной репликацией (например, пациенты с патологией иммунной системы и дети младшего возраста) позволяют получить информацию не только о потенциальных механизмах возникновения резистентности, но и установить взаимосвязь между терапевтической дозой или продолжительностью лечения и клиническими исходами²¹. При выборе популяции для исследования следует принимать

¹⁶ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 02.09.2019 № 25 «О руководстве по доклинической и клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов».

¹⁷ Guidance for industry. Influenza: Developing drugs for treatment and/or prophylaxis. 2011. <https://www.fda.gov/media/73339/download>

¹⁸ Там же.

¹⁹ Там же.

²⁰ Там же.

²¹ Там же.

во внимание наличие недавней вакцинации против гриппа, так как это может повлиять на результаты оценки эффективности. Вероятность выявления положительного эффекта терапии у вакцинированных пациентов может быть ниже в связи с тем, что клинические проявления и тяжесть заболевания у таких пациентов могут быть менее выражены. Данный факт должен учитываться в критериях отбора или при стратификации. Лица, недавно привитые живой вирусной вакциной против гриппа, как правило, должны исключаться из исследования в связи с вероятностью отрицательного воздействия противовирусных лекарственных препаратов на формирование иммунного ответа. Информация о статусе вакцинации и проведение соответствующих статистических анализов являются важными составляющими дизайна исследования, его проведения и интерпретации результатов²².

Исследования у детей. При переносе показаний к применению на детскую популяцию необходимо проведение соответствующих строго контролируемых клинических исследований с клиническими конечными точками эффективности и оценкой безопасности в полном объеме. Одних только исследований фармакокинетики и безопасности будет недостаточно для того, чтобы перенести показания на детскую популяцию, особенно на детей младше 12 лет. Данные по противовирусной эффективности лекарственного препарата, полученные в ходе исследований у взрослых, не могут быть экстраполированы на детскую популяцию ввиду того, что: предшествующее воздействие и иммунный ответ могут влиять на течение заболевания и ответ на лечение у взрослых иначе, чем у детей; вирусывыделение у взрослых и детей может различаться.

Критерии включения. На момент старта терапии лабораторное подтверждение диагноза обычно еще недоступно, поэтому критерии включения в исследования III фазы должны предусматривать сбор информации и документальное подтверждение наличия гриппа в популяции, а также данные о клинических симптомах, характерных для заболевания. Использование экспресс-тестов для быстрой диагностики гриппа в рамках отбора пациентов для клинических исследований может с большей надежностью гарантировать получение информации, необходимой для анализа популяции пациентов, однако следует учитывать ограниченность доступных в настоящее время экспресс-тестов.

Чувствительность экспресс-тестов может варьировать в зависимости от популяции, а прогностическая ценность во время сезонной эпидемии может быть не выше, чем отбор на основе клинических критериев [10], поэтому рекомендуется включение пациентов на основании клинически установленного диагноза с дальнейшим подтверждением диагноза с помощью полимеразной цепной реакции, культуральных методов или серологических тестов. Для лабораторного подтверждения инфекции вируса гриппа, проводимого с целью определения популяции пациентов, рекомендуется использовать анализ, характеризующийся достаточной чувствительностью и специфичностью [11]. У пациентов со сниженным иммунитетом, несмотря на возможность продолжительной репликации вируса и повышенные риски осложнений и смертности, начальные симптомы могут быть менее выраженными. Так, в исследовании с участием пациентов, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, было показано, что у большинства пациентов отмечался насморк (около 70%), у некоторых — лихорадка (около 30%) или кашель (около 40%), и ни у одного пациента не отмечалась миалгия [12].

Выбор дозы и пути введения. В случае некоторых лекарственных средств есть возможность рассмотреть более одного пути введения. Лекарственные формы для перорального применения предпочтительны для лечения неосложненного гриппа, тогда как лекарственные формы для внутривенного введения — для тяжелых пациентов, которые могут быть не в состоянии принимать пероральные препараты.

Возможны сложности при выборе на основе неклинических данных подходящей дозы для клинических исследований лекарственного препарата с ингаляционным путем введения. Ингаляционный путь введения может быть недостаточным для обеспечения противовирусного действия в случае, если репликация нового штамма вируса будет происходить в иных органах, помимо дыхательных путей и легких. Оценку безопасности лекарственного препарата с ингаляционным путем введения у пациентов с заболеваниями легких в анамнезе необходимо проводить, соблюдая соответствующие меры предосторожности, и тщательно контролировать, поскольку такие пациенты могут быть подвержены более высокому риску осложнений заболевания и развития нежелательных реакций.

²² Там же.

Конечные точки эффективности могут включать совокупность результатов объективного обследования, оценки со стороны медицинских работников и оценки симптомов, о которых сообщают пациенты. Конечные точки эффективности не были окончательно стандартизированы для исследований противогриппозных препаратов, в исследованиях неосложненного гриппа в качестве конечных точек эффективности использовалась продолжительность определенных симптомов. Были достигнуты определенные успехи в применении конечных точек с использованием оценки исходов пациентами²³.

Первичной конечной точкой в исследованиях по лечению неосложненного гриппа у взрослых должно быть время до заранее определенного уровня выраженности симптомов гриппа. Составляющие первичной конечной точки должны включать лихорадку с совокупностью симптомов (кашель, насморк, головная боль, миалгия, боль в горле). Эта клиническая конечная точка не будет считаться суррогатной, так как измеряет клинически значимые симптомы, связанные с заболеванием, вызванным вирусом гриппа. Демонстрация снижения частоты возникновения вторичных осложнений или смертности у пациентов, не имеющих сопутствующих заболеваний, не является необходимой для определения эффективности противовирусного лекарственного препарата. В исследованиях с участием тяжелобольных пациентов, нуждающихся в госпитализации, первичная конечная точка должна включать клинические признаки и симптомы, продолжительность госпитализации, время до нормализации жизненно важных функций и показателей, насыщение крови кислородом, потребность в дополнительной оксигенации или искусственной вентиляции легких и смертность [13]. Для таких пациентов одна единственная конечная точка не определена, поэтому необходимо обосновать выбор первичной конечной точки в конкретном исследовании. В этом числе рекомендуется дать обоснование того, что с помощью выбранной конечной точки можно оценить значимые исходы или параметры (такие как самочувствие и повседневная активность или смертность), представив имеющиеся данные литературы и соответствующую документацию клинических исследований. Выбор первичной конечной точки в этом случае направлен на демонстрацию того, приводит ли применение

изучаемого лекарственного препарата к более быстрому и (или) более полному улучшению состояния пациента по сравнению с контролем²⁴ [14].

Вследствие высокой степени изменчивости генома вируса гриппа в большинстве клинических исследований изучают вторичные конечные точки, чтобы продемонстрировать их соответствие эффекту первичной конечной точки. Важной вторичной конечной точкой является вирусологическая оценка, которая может использоваться в качестве составляющей критериев включения или в оценке терапии [15]. В качестве вторичных конечных точек могут выбираться время до возвращения к нормальной активности, время до разрешения лихорадки или других отдельных симптомов, оцениваемых, в том числе, и как первичная конечная точка [16].

В исследованиях по лечению неосложненного гриппа одновременное использование лекарственных препаратов для симптоматической терапии снижает вероятность обнаружения различий по первичной конечной точке. Системные ошибки, вызванные применением сопутствующей терапии, можно уменьшить, если в протоколе клинического исследования данная терапия будет стандартизована²⁵.

Оценка резистентности. Оценка лекарственной резистентности является важной конечной точкой во всех клинических исследованиях по изучению эффективности препаратов для лечения гриппа. Мониторинг резистентности вируса по отношению к лекарственному препарату, основанный на количестве пациентов, у которых обнаружены устойчивые штаммы вируса в результате противовирусного лечения, должен проводиться в течение всего процесса клинических исследований [17].

Процедуры и сроки их проведения. Поскольку грипп является саморазрешающимся заболеванием, оценка клинической картины заболевания важна в течение короткого периода после начала лечения, а выявление эффектов проводимой терапии в поздние сроки затруднено. Однако исследования должны включать достаточно длительный период наблюдения для выявления рецидивов симптомов после временного улучшения, отсроченных нежелательных реакций или возникновения резистентности. С этой целью необходимо запланировать наряду

²³ Guidance for industry. Patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims. FDA; 2009. <https://www.fda.gov/media/77832/download>

²⁴ Guidance for industry. Influenza: developing drugs for treatment and/or prophylaxis. 2011. <https://www.fda.gov/media/73339/download>

²⁵ Там же.

с исследовательскими оценками частую самооценку состояния пациентом до разрешения всех клинических признаков и симптомов.

В случае исследований с участием госпитализированных пациентов для анализа (особенно во время начального периода заболевания) могут использоваться результаты некоторых рутинных процедур, которые регулярно регистрируются в историях болезни. Самостоятельное сообщение о симптомах может быть наиболее важным в случаях пациентов, состояние которых улучшается, но симптомы еще сохраняются.

В исследованиях по оценке эффективности препаратов для лечения гриппа взятие материала на наличие вируса должно проводиться до первого применения препарата и через соответствующие промежутки времени во время и после лечения. Определение антител к вирусу гриппа следует проводить по стандартизированной методике в начале исследования и во время периода наблюдения, предпочтительно через 4 недели после постановки диагноза. Критерием подтвержденного диагноза гриппа считается увеличение титра антител в 4 или более раз. Важно оценить, влияет ли исследуемый препарат на образование антител после подтверждения инфицирования²⁶.

Статистические рекомендации. Первичная оценка эффективности препарата должна проводиться на популяции пациентов с лабораторно подтвержденной вирусной природой заболевания. Анализ безопасности должен проводиться на популяции всех рандомизирован-

ных пациентов, так как решение о назначении лечения в клинической практике будет принято еще до подтверждения диагноза. Единичей рандомизации и анализа в таких исследованиях должен являться отдельный субъект исследования. Рекомендуется проведение стратификации по времени с момента появления симптомов заболевания. Также возможно проведение стратификации по штамму вируса, статусу курения, месту нахождения, использованию лекарственного препарата для симптоматической терапии или других сопутствующих методов лечения, которые могут повлиять на естественное течение болезни или величину терапевтического эффекта. Должен быть разработан четкий и адекватный план решения проблем, связанных с отсутствующими данными²⁷.

Заключение

В результате проведенного анализа информации о подходах к планированию программ разработки препаратов для лечения гриппа, отраженной в доступной литературе и международных руководствах, показана необходимость разработки отечественных рекомендаций по проведению клинических исследований препаратов для лечения гриппа, с учетом специфики юридических норм и традиций российской клинической практики. Разработка таких рекомендаций позволит обеспечить получение более достоверных данных об эффективности и безопасности разрабатываемых препаратов и приведет к ускорению ввода в практику новых эффективных препаратов против гриппа.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Краснова ЕИ, Карпович ГС, Проворова ВВ, Шестаков АЕ, Казаков ЮВ. Грипп в период пандемии COVID-19, эпидемиологическая характеристика, подходы к вакцинации. *Лечащий врач*. 2021;(4):50–6. [Krasnova EI, Karpovich GS, Provorova VV, Shestakov AE, Kazakov YuV. Influenza in COVID-19 pandemic, epidemiological characteristics, approaches to vaccination. *Lechashchy Vrach*. 2021;(4):50–6 (In Russ.)] <https://doi.org/10.51793/QS.2021.98.48.009>
2. Acosta EP, Kimberlin DW. Determination of appropriate dosing of influenza drugs in pediatric patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;88(5):704–7. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.173>
3. Darton TC, Blohmke CJ, Moorthy VS, Altmann DM, Hayden FG, Clutterbuck EA, et al. Design, recruitment, and microbiological considerations in human challenge studies. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(7):840–51. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00068-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00068-7)
4. Hayden FG, Treanor JJ, Fritz RS, Lobo M, Betts RF, Miller M, et al. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment. *JAMA*. 1999;282(13):1240–6. <https://doi.org/10.1001/jama.282.13.1240>
5. Barroso L, Treanor J, Gubareva L, Hayden FG. Efficacy and tolerability of the oral neuraminidase inhibitor peramivir in experimental human influenza: randomized, controlled trials for prophylaxis and treatment. *Antivir Ther*. 2005;10(8):901–10. <https://doi.org/10.1177/135965350501000805>
6. Memoli MJ, Czajkowski L, Reed S, Athota R, Bristol T, Proudfoot K, et al. Validation of the wild-type influenza a human challenge model H1N1pdMIST: an A(H1N1)pdm09 dose-finding investigational new drug study. *Clin Infect Dis*. 2015;60(5):693–702. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu924>

²⁶ Там же.

²⁷ Там же.

7. Treanor J. Influenza challenge and the challenge of drug development. *J Infect Dis.* 2019;219(2):171–2. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy413>
8. Dunning J, Baillie JK, Cao B, Hayden FG. Antiviral combinations for severe influenza. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(12):1259–70. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(14\)70821-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(14)70821-7)
9. Chairat K, Tarning J, White NJ, Lindegardh N. Pharmacokinetic properties of anti-influenza neuraminidase inhibitors. *J Clin Pharmacol.* 2013;53(2):119–39. <https://doi.org/10.1177/0091270012440280>
10. Green DA, StGeorge K. Rapid antigen tests for influenza: rationale and significance of the FDA reclassification. *J Clin Microbiol.* 2018;56(10):e00711–18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00711-18>
11. Kim DK, Poudel B. Tools to detect influenza virus. *Yonsei Med J.* 2013;54(3):560–6. <https://doi.org/10.3349/ymj.2013.54.3.560>
12. Peck AJ, Englund JA, Kuypers J, Guthrie KA, Corey L, Morrow R, et al. Respiratory virus infection among hematopoietic cell transplant recipients: evidence for asymptomatic parainfluenza virus infection. *Blood.* 2007;110(5):1681–8. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-12-060343>
13. King JC, Beigel JH, Ison MG, Rothman RE, Uyeki TM, Walker RE, et al. Clinical development of therapeutic agents for hospitalized patients with influenza: challenges and innovations. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(4):ofz137. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz137>
14. Ison MG, de Jong MD, Gilligan KJ, Higgs ES, Pavia AT, Pierson J, Hayden FG. End points for testing influenza antiviral treatments for patients at high risk of severe and life-threatening disease. *J Infect Dis.* 2010;201(11):1654–62. <https://doi.org/10.1086/652498>
15. Iijima H, Kamei M. Trends in study design assessment for anti-influenza agents. *Jpn J Pharm Health Care Sci.* 2019;45(8):451–9. <https://doi.org/10.5649/jjphcs.45.451>
16. Rath B, Conrad T, Myles P, Alchikh M, Ma X, Hoppe C, et al. Influenza and other respiratory viruses: standardizing disease severity in surveillance and clinical trials. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(6):545–68. <https://doi.org/10.1080/14787210.2017.1295847>
17. Holmes EC, Hurt AC, Dobbie Z, Clinch B, Oxford JS, Piedra PA. Understanding the impact of resistance to influenza antivirals. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(2):e00224–20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00224-20>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.И. Губенко — идея работы, сбор и систематизация данных, анализ и обобщение данных литературы, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; Г.В. Шукшина — сбор и систематизация данных, анализ и обобщение данных литературы, оформление, редактирование и переработка рукописи; А.И. Муравьева — сбор и систематизация данных, анализ и обобщение данных литературы, редактирование и переработка рукописи; Н.Е. Уварова — оформление, редактирование и переработка рукописи.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Anna I. Gubenko elaborated the study idea, collected and collated data, analysed and summarised literature data, approved the final version of the manuscript for publication. Galina V. Shukshina collected and collated data, analysed and summarised literature data, revised and edited the manuscript. Anna I. Muravieva collected and collated data, analysed and summarised literature data, revised and edited the manuscript. Natalia E. Uvarova formatted, revised, and edited the manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Губенко Анна Игоревна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5596-0848>
Gubenko@expmed.ru

Шукшина Галина Викторовна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3553-8340>
Shukshinagv@expmed.ru

Муравьева Анна Ивановна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6743-9403>
Muravievaai@expmed.ru

Уварова Наталия Евгеньевна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6718-695X>
Uvarova@expmed.ru

Поступила 27.10.2021

После доработки 08.08.2022

Принята к публикации 31.08.2022

Online first 18.11.2022

Anna I. Gubenko, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5596-0848>
Gubenko@expmed.ru

Galina V. Shukshina
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3553-8340>
Shukshinagv@expmed.ru

Anna I. Muravieva
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6743-9403>
Muravievaai@expmed.ru

Natalia E. Uvarova
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6718-695X>
Uvarova@expmed.ru

Received 27 October 2021

Revised 8 August 2022

Accepted 31 August 2022

Online first 18 November 2022



И.А. Проскурина 
Т.Е. Горская  
Д.В. Горячев 

Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения ожирения

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

✉ Горская Татьяна Евгеньевна; gorskayate@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Нормативные документы и рекомендации по планированию клинических исследований (КИ) новых препаратов для лечения ожирения в Российской Федерации и в других государствах — членах Евразийского экономического союза в настоящее время отсутствуют.

Цель. Представить рекомендации по основным принципам планирования и проведения КИ препаратов для лечения ожирения.

Обсуждение. Проведен анализ требований к проведению КИ препаратов для лечения ожирения Европейского агентства по лекарственным средствам, Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств. Рассмотрены подходы, позволяющие достоверно оценить эффективность и безопасность препаратов для лечения ожирения при проведении КИ. Показано, что первичной конечной точкой является демонстрация статистически значимого снижения массы тела по крайней мере на 5% от исходной массы тела после 12 мес. терапии. Вторичные конечные точки: уменьшение степени выраженности абдоминального ожирения; оценка количества подкожного и висцерального жира; оценка влияния препарата на поддержание сниженной массы тела.

Выводы. Должно быть оценено влияние препарата на сердечно-сосудистые факторы риска и сердечно-сосудистую заболеваемость/смертность. В протоколе КИ необходимо представить определение интеркуррентных событий, влияние которых также нужно учитывать при анализе полученных результатов. В отношении безопасности препаратов для лечения ожирения следует сделать акцент на нейropsychической безопасности, потенциале злоупотреблений/зависимости и реакциях отмены, развитии вальвулопатии и легочной гипертензии. Настоящие рекомендации могут использоваться экспертами, осуществляющими оценку программы клинической разработки препаратов для лечения ожирения и экспертизу с целью регистрации.

Ключевые слова: ожирение; клиническое исследование; лекарственные препараты; эффективность; конечные точки; безопасность

Для цитирования: Проскурина И.А., Горская Т.Е., Горячев Д.В. Планирование программы клинических исследований препаратов для лечения ожирения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(4):503–518. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-452>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Д.В. Горячев — член редакционной коллегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2018 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Irina A. Proskurina 
Tatiana E. Gorskaya 
Dmitry V. Goryachev 

Planning of Clinical Trial Programmes for Medicines for the Treatment of Obesity

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

✉ Tatiana E. Gorskaya; gorskayate@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Obesity is a significant public health problem. Currently, the Russian Federation and the other Member States of the Eurasian Economic Union (EAEU) do not have regulatory documents and recommendations for planning clinical trials (CTs) of new (original) medicines for the treatment of obesity.

Aim. The study aimed to provide recommendations on the basic principles of planning and conducting CTs of medicines for the treatment of obesity.

Discussion. The authors reviewed the requirements for conducting CTs of medicines for the treatment of obesity set forth by the European Medicines Agency (EMA) and the US Food and Drug Administration (FDA). In addition, the authors analysed approaches to CTs providing for a reliable evaluation of the efficacy and safety of medicines for the treatment of obesity. The primary endpoint of such CTs is a statistically significant loss of at least 5% of the baseline weight after 12 months of treatment. Secondary endpoints include assessments of abdominal obesity reduction, subcutaneous and visceral fat reduction, and the medicinal product's effect on maintaining a reduced body weight.

Conclusions. In addition, CTs should investigate the effects of treatment on cardiovascular risk factors and cardiovascular morbidity/mortality. A CT protocol should define the intercurrent events that should be considered in the analysis of trial results. When investigating the safety of medicines for the treatment of obesity, studies should focus on neuropsychiatric safety, the potential for abuse/addiction and withdrawal reactions, and the development of valvulopathy and pulmonary hypertension. These recommendations may be of use to experts evaluating clinical development programmes or marketing authorisation submissions for medicines for the treatment of obesity.

Keywords: obesity; clinical trial; medicinal products; efficacy; endpoints; safety

For citation: Proskurina I.A., Gorskaya T.E., Goryachev D.V. Planning of clinical trial programmes for medicines for the treatment of obesity. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):503–518. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-452>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121021800098-4).

Disclosure. Dmitry V. Goryachev has been a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2018. The other authors declare having no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Ожирение — хроническое заболевание, характеризующееся избыточным накоплением жировой ткани в организме, представляющим угрозу здоровью, и являющееся основным фактором риска развития ряда других хронических заболеваний, включая сахарный диабет (СД) 2 типа (СД2), сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и онкологические заболевания¹ [1, 2]. ССЗ лидируют среди причин смертности во всем мире, а ключевую роль в развитии факторов риска ССЗ играет абдоминальное ожирение [3]. Установлено, что 20%

всех злокачественных новообразований связано с ожирением [4].

Согласно данным исследований, увеличение индекса массы тела (ИМТ) на 2% снижает среднюю продолжительность жизни на 1 год [5]. Снижение массы тела (МТ) способствует улучшению течения сопутствующих ожирению заболеваний (СД2, артериальной гипертензии (АГ), дислипидемии и метаболического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний, остеоартроза, злокачественных новообразований, ночного апноэ) (клинические рекомендации Европейского общества эндокринологов (European Society of

¹ World Health Organisation. Health topics — Obesity. <https://www.who.int/topics/obesity/en/>

Endocrinology, ESE) и Общества по борьбе с ожирением (The Obesity Society, TSO)) [6]. Ожирение представляет угрозу здоровью, являясь не только соматической, эстетической, но и социальной проблемой, нарушающей качество жизни пациентов [7].

Распространенность избыточной МТ и ожирения за последние десятилетия в развитых и развивающихся странах достигла эпидемических показателей. Ожирение было признано Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) глобальной эпидемией в 1997 г.² С тех пор число пациентов с ожирением стремительно растет [8].

По данным ВОЗ, более 1,9 млрд взрослых старше 18 лет имели избыточную МТ³, из них свыше 650 млн страдали ожирением. При этом распространенность ожирения у мужчин увеличилась с 3,2 до 10,8%, а у женщин с 6,4 до 14,9% [9]. По прогнозам, если тенденция заболеваемости ожирением сохранится, то к 2030 г. 60% населения мира могут иметь ожирение или избыточную МТ [10], а 80% подростков с ожирением будут иметь избыточную МТ во взрослом возрасте, если не будут получать лечения [11]. В Российской Федерации доля пациентов с избыточной МТ составила 62%, а с ожирением – 26,2% [12].

Затраты системы здравоохранения и экономические последствия ожирения весьма существенны. В развитых странах приблизительно 2–10% от общих затрат здравоохранения напрямую связаны с проблемой ожирения, а остальные расходы обусловлены продолжительностью временной нетрудоспособности и потерей рабочих дней, низким уровнем качества работы и производительности труда⁴.

По мнению Европейского регионального бюро ВОЗ, рост распространенности ожирения не может быть остановлен усилиями отдельных государств, если в самое ближайшее время не будут предприняты более решительные действия⁵.

Одним из путей решения этой задачи является разработка и внедрение в клиническую практику новых лекарственных препаратов (ЛП) для лечения ожирения.

Цель работы – представить рекомендации по основным принципам планирования и проведения клинических исследований (КИ) препаратов для лечения ожирения.

Задачи исследования: провести анализ современных подходов к терапии ожирения и проблем разработки новых ЛП для лечения ожирения; провести анализ требований к проведению КИ ЛП для лечения ожирения Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA)⁶, Управления по контролю качества продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA)⁷ и научной литературы; обосновать актуальность разработки единых подходов к планированию программы КИ ЛП для лечения ожирения и сформулировать необходимые рекомендации для проведения КИ с учетом основных принципов лечения ожирения [13].

Современные подходы к терапии ожирения

В качестве рутинного метода диагностики ожирения используется определение ИМТ, предложенное в 1842 г. бельгийским математиком L. Quetelet, который заметил, что МТ человека, как правило, пропорциональна росту, возведенному в квадрат [14].

В последующие десятилетия ИМТ стал основным критерием оценки МТ как в клинической практике, так и при проведении КИ. В настоящее время в большинстве клинических рекомендаций профессиональных сообществ во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации, для оценки избыточной МТ и ожирения используется классификация ВОЗ от 1997 г., основанная на измерении ИМТ (табл. 1).

Однако ИМТ не является точным показателем для оценки наличия жировой ткани в организме, поэтому при изучении ожирения и ассоциированных с ним рисков большое внимание стали уделять количеству жировой ткани, ее типу и распределению. В ряде исследований было показано, что именно абдоминальное ожирение повышает риск ССЗ и смертности от них, поэтому в рекомендациях профессиональных сообществ отмечается целесообразность сочетанной оценки

² Obesity: preventing and managing the global epidemic of obesity. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: WHO Technical report Series; 1997. WHO/NUT/NCD/98.1 <https://studylib.net/doc/12936985/obesity--preventing-and-managing-the-global-epidemic---re>

³ WHO (2020), Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

⁴ <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition>

⁵ <https://www.euro.who.int/en>

⁶ Guideline on clinical evaluation of medicinal products used in weight management. EMA/CHMP/311805/2014.

⁷ Guidance for industry on developing products for weight management. FDA-2007-D-0435. U.S. Department of Health and Human Services FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2007.

Таблица 1. Классификация ожирения в соответствии с индексом массы тела по данным Всемирной организации здравоохранения⁸**Table 1.** Obesity classification by body mass index (BMI) according to the World Health Organisation⁸

Тип массы тела <i>Body mass classification</i>	Индекс массы тела, кг/м ² <i>Body Mass Index, kg/m²</i>
Недостаточное питание <i>Insufficient nutrition</i>	<18,5
Нормальное питание <i>Normal nutrition</i>	18,5–24,9
Избыточная масса тела <i>Excess body weight</i>	25,0–29,9
Ожирение <i>Obesity</i>	>30,0
Ожирение I степени <i>Obesity stage I</i>	30,0–34,9
Ожирение II степени <i>Obesity stage II</i>	35,0–39,9
Ожирение III степени (морбидное) <i>Obesity stage III (morbid)</i>	>40,0

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Таблица 2. Классификация ожирения Всемирной организации гастроэнтерологов [16]**Table 2.** Obesity classification by the World Gastroenterology Organisation [16]

Критерий <i>Criterion</i>	Норма <i>Norm</i>	Избыточная масса тела <i>Excess body weight</i>	Ожирение, степень <i>Obesity, stage</i>		
			I	II	III
Западные страны <i>Western countries</i>					
Индекс массы тела, кг/м ² <i>Body Mass Index, kg/m²</i>	25,0–26,9	27,0–29,9	30,0–34,9	35,0–39,9	≥40
Окружность талии, см <i>Waist circumference, cm</i>					
Мужчины <i>Men</i>	94–102	94–102	≥102	≥102	≥102
Женщины <i>Women</i>	80–88	80–88	≥88	≥88	≥88
Страны Азии <i>Asian countries</i>					
Индекс массы тела, кг/м ² <i>Body Mass Index, kg/m²</i>	23,0–24,9	25,0–29,9	30,0–34,9	≥35	≥35
Окружность талии, см <i>Waist circumference, cm</i>					
Мужчины <i>Men</i>	<90	<90	≥90	≥90	≥90
Женщины <i>Women</i>	<80	<80	≥80	≥80	≥80

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

ИМТ и окружности талии (ОТ), а также отношения ОТ к окружности бедер (ОБ). Совместная оценка ИМТ и ОТ может выделить фенотип ожирения, связанный с более высоким риском развития осложнений, чем только ИМТ или ОТ [15].

Всемирная организация гастроэнтерологов (World Gastroenterology Organisation) в 2011 г. предложила классификацию ожирения в зависимости от ИМТ, ОТ, пола и принадлежности к этнической группе [16] (табл. 2).

⁸ <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63854>

Практически все рекомендации профессиональных сообществ указывают на необходимость одновременной оценки ИМТ и состояния здоровья. При избыточной МТ или ожирении такая оценка включает клинический осмотр, лабораторные и инструментальные исследования для выявления симптомов и заболеваний, ассоциированных с ожирением или усугубляющих риск развития осложнений. На XXIII Ежегодном научном конгрессе Американской ассоциации клинических эндокринологов и Американского колледжа эндокринологов (American Association of Clinical Endocrinologists и American College of Endocrinology, AACE/ACE) предложено перейти от количественной оценки ожирения на основе ИМТ к оценке ожирения на основе наличия или отсутствия связанных с ожирением заболеваний или состояний. В новой классификации предложено учитывать наличие или отсутствие таких заболеваний/состояний, как метаболический синдром, предиабет, СД2, дислипидемия, АГ, неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП), синдром поликистозных яичников (СПКЯ), ночное апноэ, остеоартроз, гастроэзофагеальный рефлюкс, затруднение/неспособность активно двигаться [17] (табл. 3).

Основополагающими принципами лечения ожирения являются диета, физические нагрузки,

поведенческая терапия и медикаментозное лечение или бариатрическая хирургия.

Пациентам с избыточной МТ или ожирением рекомендуется многофакторная комплексная программа по изменению образа жизни, включая снижение потребления калорий, увеличение физической активности и мероприятия по поддержанию изменения поведения как минимум в течение 6–12 мес. Поскольку изменение образа жизни и поведения обеспечивают умеренную эффективность, стратегию лечения ожирения следует расширить за счет добавления медикаментозных и (или) хирургических вмешательств.

Бариатрическая хирургия может быть предложена пациентам с ИМТ ≥ 35 кг/м² при условии, что использование нехирургических методов лечения не привело к достижению эффекта, после детального обсуждения с пациентом ожидаемой пользы и всех рисков, готовности пациента к выполнению всех связанных с таким лечением рекомендаций [15].

Несмотря на значительные успехи бариатрической хирургии в лечении ожирения и метаболических нарушений и прогрессивный рост числа бариатрических операций в год, охват пациентов, которым показан такой вид лечения, ничтожно мал. По данным литературы, это в среднем не более 0,1% от популяции при средней

Таблица 3. Классификация ожирения Американской ассоциации клинических эндокринологов и Американского колледжа эндокринологов (AACE/ACE, США, 2014) [17]

Table 3. Obesity classification by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American College of Endocrinologists (AACE/ACE/USA, 2014) [17]

Диагноз <i>Diagnosis</i>	Антропометрические данные <i>Anthropometric data</i>	Коморбидная патология <i>Comorbid pathology</i>
Нормальная масса тела <i>Normal body weight</i>	ИМТ <25 кг/м ² , ОТ менее пороговых значений при ИМТ 23–25 кг/м ² <i>BMI <25 kg/m²; WC at a BMI of 23–25 kg/m² is smaller than the threshold</i>	Не учитывается <i>Not taken into account</i>
Избыточная масса тела <i>Excess body weight</i>	ИМТ 25–29,9 кг/м ² <i>BMI 25–29 kg/m²</i>	Нет связанных с ожирением осложнений, заболеваний, состояний <i>No obesity-related complications, diseases, conditions</i>
Ожирение 0-я стадия <i>Obesity stage 0</i>	ИМТ ≥ 30 кг/м ² <i>BMI ≥ 30 kg/m²</i>	Нет связанных с ожирением осложнений, заболеваний, состояний <i>No obesity-related complications, diseases, conditions</i>
Ожирение 1-я стадия <i>Obesity stage 1</i>	ИМТ ≥ 25 кг/м ² <i>BMI ≥ 25 kg/m²</i>	Есть одно или более связанных с ожирением осложнений, заболеваний, состояний средней степени выраженности <i>One or more moderate obesity-related complications, diseases, conditions</i>
Ожирение 2-я стадия <i>Obesity stage 2</i>	ИМТ ≥ 25 кг/м ² <i>BMI ≥ 25 kg/m²</i>	Есть одно или более связанных с ожирением осложнений, заболеваний, состояний тяжелой степени <i>One or more severe obesity-related complications, diseases, conditions</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Примечание. ОТ — окружность талии; ИМТ — индекс массы тела.

Note. WC, waist circumference; BMI, Body Mass Index.

заболеваемости ожирением в популяции приблизительно 25–30%. Таким образом, хирургические вмешательства неспособны удовлетворить в полной мере потребности в медицинской помощи пациентам с ожирением.

Показания к применению ЛП для коррекции МТ несколько варьируют в разных рекомендациях. Практически во всех современных клинических рекомендациях указано, что медикаментозное лечение — это только дополнение к изменению образа жизни.

Современные подходы к лечению ожирения в Российской Федерации базируются на стратегиях, разработанных ведущими организациями по лечению ожирения.

Основные принципы фармакотерапии ожирения [15]:

- ЛП должны быть дополнением к изменению образа жизни;
- не существует «идеального» ЛП, подходящего всем пациентам;
- эффективными ЛП для уменьшения МТ считаются те препараты, с помощью которых можно достигнуть снижения исходной МТ не менее чем на 5% за 3 мес. и удержание результата в течение одного года;
- медикаментозное лечение ожирения проводится в течение длительного времени.

Показанием к медикаментозному лечению ожирения являются увеличение ИМТ $>30 \text{ кг/м}^2$ при отсутствии эффекта от диеты и изменения образа жизни; увеличение ИМТ до $27\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$ при наличии сопутствующих заболеваний, таких как АГ, дислипидемия и гиперинсулинемия, а также абдоминальное ожирение с наследственной предрасположенностью к СД2.

Назначение ЛП для лечения ожирения рекомендовано пациентам, которые не могут достичь в течение 3–6 мес. клинически значимого снижения МТ на 5–10% на фоне немедикаментозных методов лечения и (или) на этапе удержания достигнутого результата. При наличии хотя бы одного коморбидного состояния, ассоциированного с ожирением, с целью снижения риска развития осложнений назначение медикаментозного лечения показано сразу на фоне немедикаментозных методов лечения.

Оценку эффективности медикаментозной терапии ожирения рекомендуется проводить спустя 3 мес. после начала лечения.

Неэффективным может считаться снижение МТ менее чем на 5% от исходной в течение 3 мес. [6, 18, 19]. Если проводимая терапия не привела к снижению МТ на 5% у пациентов без СД или к снижению МТ более чем на 3% у пациентов с СД, прием данного препарата для лечения ожирения следует прекратить [6, 11].

Оценку безопасности проводимой терапии рекомендуется проводить спустя 1–3 мес. от момента назначения ЛП и не реже чем 1 раз в 3 мес. в дальнейшем [6, 18].

Рекомендуется снижение МТ на 5–10% в течение 3–6 мес. терапии. Большую (15–20% и более) потерю МТ можно рекомендовать пациентам с ИМТ $\geq 35 \text{ кг/м}^2$ при наличии коморбидных заболеваний⁹ [20–25].

Пациентам, достигшим клинически значимого снижения МТ ($\geq 5\%$ от исходной), рекомендуется удержание МТ в течение 1–2 лет, что позволяет уменьшить риски для здоровья, а также улучшить течение заболеваний, ассоциированных с ожирением [21–25].

На этапе удержания МТ рекомендуются ежемесячное консультирование со специалистом (очное или дистанционное), регулярный контроль МТ (взвешивание не реже 1 раза в неделю), сохранение или увеличение количества аэробных физических нагрузок, эукалорийное сбалансированное питание [21–25].

Лечение заболеваний, ассоциированных с ожирением, проводится в рамках соответствующих стандартов в соответствии с клиническими рекомендациями. При этом рекомендуется назначение ЛП, не влияющих на МТ или ЛП, способствующих ее снижению [18, 26, 27].

У пациентов с СД2 с избыточной МТ или ожирением предлагается применять гипогликемические препараты, оказывающие дополнительное действие в отношении снижения МТ. У пациентов с ССЗ, которым проводится медикаментозное лечение ожирения, рекомендуется применять препараты, которые не являются симпатомиметиками [6, 20]. Не рекомендуется для лечения ожирения применять пищевые добавки или биологически активные добавки в связи с отсутствием данных об их эффективности и безопасности в лечении ожирения [18, 26, 27].

В последнем столетии медикаментозная терапия ожирения включала амфетамины, препараты гормонов щитовидной железы,

⁹ Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series 894. Geneva; 2000. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330>

динитрофенол и различные комбинации ЛП, применение которых было прекращено вскоре после одобрения регуляторными органами в связи с возникновением серьезных нежелательных реакций (НР) [28].

Лекарственные препараты, эффективность и безопасность которых были исследованы при ожирении, включают: митохондриальные разобщители [29], симпатомиметики [28], серотонинергические агонисты [30], ингибиторы липазы [30], антагонисты каннабиноидных рецепторов [31] и семейство пептидов желудочно-кишечного происхождения [28].

Некоторые из ранее разрешенных к применению ЛП для лечения ожирения затем были отозваны с рынка в связи с НР со стороны сердечно-сосудистой системы (фенфлурамин, дексфенфлурамин), повышенным суицидальным риском (римонабант) или повышенной вероятностью наркотической зависимости и злоупотребления (метамфетамин). Некоторые ЛП рекомендованы только для кратковременного применения из-за возможности привыкания или возникновения тахифилаксии (фентермин, амфепрамон, катин) [32].

В настоящее время для снижения МТ применяются следующие ЛП: сибутрамин, орлистат, фентермин, топирамат+фентермин, бупропион+налтрексон, лираглутид, гидрогель целлюлозы [33–36]. В Российской Федерации медикаментозная терапия ожирения включает несколько групп ЛП, воздействующих на разные звенья патологического процесса и имеющих разный механизм действия: подавление аппетита, уменьшение всасывания жира в кишечнике, задержка опорожнения желудка и модуляция чувства насыщения. Согласно информации Государственного реестра лекарственных средств¹⁰ разрешены к применению орлистат, сибутрамин и лираглутид. Их комбинированное применение не рекомендуется в связи с отсутствием данных о безопасности и эффективности.

Проблемы разработки лекарственных препаратов для лечения ожирения

Ограниченное количество доступных ЛП для лечения ожирения, проблемы с их переносимостью и безопасностью при длительном применении приводят к постоянному поиску «идеального» препарата для лечения ожирения.

В последние два десятилетия понимание молекулярных механизмов контроля аппетита достигло такого уровня, что разработка ЛП

для лечения ожирения смогла осуществляться рационально [37].

В процессе разработки ЛП при переносе фармакологических данных с животных на человека необходимо учитывать, что ряд исследований показал высокую корреляцию между грызунами и людьми в снижении МТ при приеме ЛП для лечения ожирения (фентермин/топирамат, сибутрамин, римонабант, топирамат, фентермин, орлистат и др.) [38, 39]. Однако отмечено, что максимальная эффективность потери МТ у человека в 2–4 раза ниже, чем у грызунов, поскольку грызуны обладают большим удельным расходом энергии по отношению к МТ с большим вкладом в этот процесс бурой жировой ткани по сравнению с человеком [40].

При разработке ЛП для лечения ожирения также следует учитывать неоднородность когорты пациентов с ожирением. Ожирение представляет собой гетерогенное состояние, характеризующееся редкой моногенетической [41] и, чаще всего, полигенной этиологией, связанной с нейрореповеденческими, эндокринными и метаболическими причинами [42–44].

Факторы риска, связанные с ожирением, и (или) локусы количественных признаков обнаруживаются почти на каждой хромосоме человека [45, 46]. Эпигенетические процессы могут объяснять дополнительные факторы, предрасполагающие к ожирению [47].

Дальнейшее изучение гетерогенности генетических, эпигенетических и экологических факторов риска имеет важное значение, поскольку это поможет не только объяснить разницу в ИМТ, но и повлиять на индивидуальную реакцию пациента при терапии определенными ЛП [48].

Более тщательное понимание метаболической, генетической причины ожирения в сочетании с пониманием этиологии заболевания и реакцией на различные ЛП должно привести к повышению эффективности проводимой терапии. Кроме того, это также может потенциально способствовать появлению следующего поколения ЛП для лечения ожирения путем углубленного понимания молекулярной фармакологии регулирования МТ.

Поиск более эффективных ЛП для лечения ожирения следующего поколения неизбежно должен быть связан с проблемой безопасности терапии. Приоритетом должно быть безопасное достижение максимального снижения МТ, за которым следует достижение устойчивого результата терапии. Для достижения стойкого

¹⁰ <https://grls.rosminzdrav.ru>

результата в снижении МТ пациентам с ожирением часто требуется долгосрочная медикаментозная терапия ожирения. Только небольшая часть пациентов способна достигать и поддерживать потерю МТ >10% при приеме допустимых доз ЛП [49, 50]. Значительное снижение МТ обычно сопровождается развитием различных НР [28].

Большинство смертей, связанных с ожирением, происходят из-за ССЗ [51], поэтому улучшение сердечно-сосудистого (СС) здоровья является основной целью терапии снижения МТ.

Следует отметить, что отсутствуют проспективные результаты исследований сердечно-сосудистых исходов (ССИ) у пациентов с ожирением без тяжелых кардиометаболических сопутствующих заболеваний. Ряд КИ новых ЛП, предназначенных для снижения потребления пищи, в конечном итоге закончились неудовлетворительным результатом из-за отсутствия доклинических моделей, позволяющих надежно прогнозировать СС безопасность у человека [52]. Хотя грызуны и другие животные являются важным инструментом для изучения влияния ЛП на МТ и контроль глюкозы [53], они относительно устойчивы к НР ЛП, связанным с СС и легочной системой. Это делает экспериментальные модели животных менее релевантными к возможности прогнозировать СС безопасность у человека. На сегодня не существует экспериментальных моделей животных, которые позволяли бы прогнозировать лекарственно-индуцированную первичную легочную гипертензию и вальвулопатию у человека [54].

У большинства пациентов с ожирением пожилого возраста имеются СС и сопутствующие заболевания, такие как СД. Практически невозможно доклинически оценить весь риск применения ЛП для лечения ожирения в таких популяциях пациентов.

Таким образом, возникло понимание, что «идеальный» препарат для снижения МТ должен значительно и устойчиво корректировать повышенную МТ, снижая при этом риск ССЗ и других сопутствующих заболеваний, без возможности злоупотребления, тахифилаксии и других НР, которые обычно отмечались при проведении медикаментозной терапии ожирения [27].

Поиск и разработка «идеального» препарата для лечения ожирения ставит перед разработчиками ряд вопросов и задач, от решения

которых будут зависеть особенности программы проведения КИ ЛП для лечения ожирения, и это необходимо учитывать при планировании и разработке программы.

В настоящее время в Российской Федерации и в других государствах – членах ЕАЭС отсутствуют нормативные документы и рекомендации по планированию КИ и оценке новых (оригинальных) ЛП для лечения ожирения, поэтому разработка единых подходов к планированию программы КИ указанных препаратов имеет актуальное значение.

Программа клинических исследований новых препаратов для лечения ожирения

Программа КИ новых (оригинальных) ЛП зависит от типа, предполагаемого механизма действия препарата, показаний к применению, предполагаемого профиля безопасности и других факторов и должна включать следующие этапы¹¹.

1. Фармакологические исследования (I фаза):
 - оценка безопасности и переносимости, в том числе исследования переносимости различных доз ЛП;
 - оценка метаболизма ЛП и лекарственных взаимодействий; определение/описание фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД), в том числе исследование ФК и (или) ФД при однократном и многократном введении.
2. Поисковые терапевтические КИ (II фаза):
 - поисковое КИ по целевому показанию к применению;
 - подбор дозы ЛП для последующих КИ;
 - получение исходных данных для подбора дизайна, конечных точек и методологии подтверждающих КИ III фазы.
3. Подтверждающие терапевтические КИ (исследования III фазы):
 - подтверждение/доказательство эффективности;
 - установление профиля безопасности;
 - получение необходимых данных для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения ЛП в целях обоснования регистрации;
 - установление зависимости «доза–эффект».

Фармакологические исследования. Цели планируемого КИ должны определяться обязательно до его начала.

Цели ФД исследований нового ЛП для лечения ожирения у человека должны включать

¹¹ ICH guideline E8 (R1) on general considerations for clinical studies. EMA/CHMP/ICH/544570/1998.

изучение и описание механизма его действия и ФД свойств, а также демонстрацию того, что причиной снижения МТ при применении нового ЛП для лечения ожирения является соответствующая потеря жира.

Цели ФК исследований нового ЛП для лечения ожирения должны включать обязательное изучение распределения действующего вещества. При необходимости должны быть рассмотрены и исследованы функциональные изменения печени и почек, связанные с ожирением, а также их влияние на распределение, связь с белками плазмы крови, метаболизм и почечную экскрецию ЛП.

В зависимости от фармакологического класса ЛП и механизма его действия следует рассмотреть и исследовать соответствующие лекарственные взаимодействия (например, с гипотензивными или гипогликемическими препаратами).

Поисковые терапевтические клинические исследования. Целью данных исследований является изучение эффективности и безопасности различных режимов дозирования новых ЛП для лечения ожирения в четко определенных популяциях пациентов. Как и при проведении поисковых КИ ЛП, применяемых в других терапевтических областях, в поисковых КИ ЛП для лечения ожирения необходимо определить максимально эффективную и безопасную терапевтическую дозу ЛП. Поскольку избыточная МТ и ожирение являются хроническими состояниями, может быть рассмотрена возможность различных режимов дозирования, таких как прерывистое лечение.

Подтверждающие терапевтические клинические исследования новых ЛП для лечения ожирения состоят в изучении и оценке их эффективности и безопасности в сравнении с плацебо.

Основной целью подтверждающих КИ новых ЛП является доказательство превосходства эффективности ЛП в отношении снижения МТ по сравнению с плацебо в качестве дополнения к низкокалорийной диете и повышению физической активности у пациентов с избыточной МТ или ожирением.

Дополнительными целями КИ новых ЛП для лечения ожирения являются:

- подтверждение превосходства эффективности ЛП в отношении влияния на физическое состояние пациента (например, по опросникам «Опросник качества жизни. Краткая форма»¹² и «Влияние веса на качество жизни. Версия для клинических исследований»¹³) по сравнению с плацебо в качестве дополнения к низкокалорийной диете и повышению физической активности у пациентов с избыточной МТ или ожирением;
- оценка эффективности ЛП в отношении кардиометаболических показателей по сравнению с плацебо в качестве дополнения к низкокалорийной диете и повышению физической активности у пациентов с избыточной МТ или ожирением;
- сравнительная оценка безопасности ЛП и плацебо в качестве дополнения к низкокалорийной диете и повышению физической активности у пациентов с избыточной МТ или ожирением.

Стратегия оценки терапевтического эффекта нового ЛП должна быть тщательно спланирована, обоснована, отражена в дизайне КИ, критериях оценки эффективности и безопасности и статистическом анализе результатов КИ. Разработчик нового ЛП должен проводить статистическую обработку результатов КИ, подтверждающую эффективность ЛП¹⁴.

Критерии оценки эффективности. Выбор критериев оценки эффективности новых ЛП в КИ должен проводиться с учетом особенностей заболевания, исследуемой популяции и длительности терапии. Наиболее объективно оценить результаты проведенного КИ позволяют критерии, называемые конечными точками, используемыми для оценки клинической эффективности ЛП. Конечные точки в КИ должны быть клинически значимы, чувствительны к терапии, хорошо измеримы и интерпретируемы [55].

Первичной конечной точкой в подтверждающих КИ ЛП для лечения ожирения, позволяющей оценить клинический эффект ЛП, является снижение МТ. Важно четко определить ожидаемую цель исследования в отношении первичной конечной точки. Определение первичной конечной точки должно включать уточнение того, каким образом будет измеряться эффект лечения после рандомизации. Именно это будет служить

¹² The Short Form-36 Health Status Survey, SF-36.

¹³ The Impact of Weight on Quality of Life-Lite. Clinical Trials Version, IWQoL-Lite-CT.

¹⁴ E9 (R1) Statistical principles for clinical trials: addendum: estimands and sensitivity analysis in clinical trials. Guidance for industry. FDA-2017-D-6113. U.S. Department of Health and Human Services FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2021. <https://www.fda.gov/media/148473/download>
ICH E9 (R1) Addendum on estimands and sensitivity analysis in clinical trials to the guideline on statistical principles for clinical trials. EMA/CHMP/ICH/436221/2017.

основой для разработки дизайна исследования, сбора данных и выбора метода анализа.

Изменение МТ в конце периода лечения по сравнению с исходным показателем при применении исследуемого ЛП по сравнению с изменением МТ при применении плацебо должно быть задокументировано в виде как абсолютной (кг), так и относительной потери МТ (%).

Обоснованным первичным критерием эффективности является демонстрация статистически значимого снижения МТ по сравнению с плацебо по крайней мере на 5% от исходной МТ после 12 мес. лечения.

Пациенты со снижением МТ не менее чем на 5 и 10% после 12 мес. лечения рассматриваются как ответившие на лечение. Пациенты, прекратившие исследование до окончания периода лечения 12 мес., должны рассматриваться как не ответившие на лечение.

В протокол КИ должны быть включены альтернативные критерии оценки ответа на лечение, которые учитывают другие события, произошедшие после рандомизации и начала лечения, и указывают на отсутствие ответа на лечение (отмена лечения, применение других методов лечения и т.д.).

Должна быть задокументирована прогностическая ценность снижения МТ после краткосрочного лечения (например, 12 недель лечения ЛП в целевой лечебной дозе) в отношении долгосрочной эффективности ЛП для того, чтобы лучше определить популяцию с ожидаемой долгосрочной эффективностью и изучить потенциальные причины для прекращения лечения пациентов, не ответивших на лечение.

Вторичные конечные точки, связанные с массой тела, должны включать оценку:

- уменьшения степени выраженности абдоминального ожирения (уменьшение ОТ или уменьшение отношения ОТ к ОБ);
- уменьшения количества подкожного и висцерального жира, оцениваемое с использованием магнитно-резонансной томографии или компьютерной томографии (для демонстрации того, что снижение МТ связано с соответствующей потерей жировой ткани в организме, а не мышечной ткани или воды);
- влияния препарата на поддержание сниженной МТ после низкокалорийной / очень низкокалорийной диеты.

Влияние на сердечно-сосудистые факторы риска и сердечно-сосудистую заболеваемость/

смертность. В качестве вторичных конечных точек могут быть выбраны:

- оценка влияния ЛП на СС факторы риска и ССЗ/смертность;
- оценка влияния ЛП на параметры, связанные с СС риском: концентрацию глюкозы в крови, АД, частоту сердечных сокращений, концентрацию липидов.

Ожидается, что новый потенциальный ЛП для лечения ожирения либо не окажет влияния, либо его влияние на параметры, связанные с СС риском, будет благоприятным.

Для ЛП, которые показали клинически значимое влияние на снижение МТ, нет необходимости демонстрировать прямое положительное влияние на ССЗ или смертность в КИ до момента регистрации препарата, если не будет специального требования регуляторных органов. Любое утверждение о снижении ССЗ/смертности при применении ЛП должно быть подкреплено результатами хорошо спланированных КИ, в которых будут участвовать пациенты с повышенной МТ и (или) ожирением, представляющие целевую популяцию в отношении степени избыточной МТ и (или) ожирения и базового СС риска.

Влияние на другие сопутствующие заболевания, связанные с ожирением. Оценка влияния ЛП для лечения ожирения на риск развития СД2 рассматривается как важная вторичная конечная точка.

Оценка влияния снижения МТ на сопутствующие заболевания, такие как апноэ во сне, боль в суставах, недержание мочи, нарушение фертильности, депрессия, тревога и функциональные ограничения, имеет большое значение. Конечные точки, оценивающие влияние на одно или несколько из этих сопутствующих заболеваний, могут быть включены в качестве вторичных конечных точек. Соответствующие и подтверждающие конечные точки должны использоваться для оценки любого благоприятного влияния исследуемого ЛП на указанные сопутствующие заболевания.

В КИ особое значение придается показателю качества жизни, оценивающему субъективный ответ пациентов на лечение с помощью анкет, которые заполняются в процессе лечения. В качестве вторичной конечной точки в КИ ЛП для лечения ожирения может быть включена оценка влияния снижения МТ на качество жизни. Для этой цели могут быть использованы валидированные опросники для самостоятельного заполнения пациентами, например SF-36,

IWQoL-Lite, Голландский опросник пищевого поведения (Dutch Eating Behavior Questionnaire, DEBQ) и др.

Целевая популяция КИ должна включать пациентов обоего пола с ожирением ($\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$) или избыточной МТ с сопутствующими факторами риска, связанными с МТ ($\text{ИМТ} \geq 27 \text{ кг/м}^2$).

Учитывая, что риск заболеваемости и смертности, а также других осложнений повышается с увеличением ИМТ, клинические программы разработки ЛП для лечения ожирения всегда должны включать соответствующие выборки пациентов с ожирением с $\text{ИМТ} \geq 35 \text{ кг/м}^2$ и с ожирением с $\text{ИМТ} \geq 40 \text{ кг/м}^2$, чтобы описать величину снижения МТ в этих подгруппах.

Соответствующая доля пациентов с повышенной МТ и (или) ожирением, включенных в исследование, должна иметь сопутствующие факторы СС риска. У пациентов с СД2 эффект снижения МТ, а также влияние на гликемические параметры предпочтительно документировать отдельно.

Терапия первой линии при контроле МТ состоит в первую очередь в изменении образа жизни за счет смены привычной диеты на диету с пониженной калорийностью и увеличении физической активности, поэтому целевой популяцией являются пациенты, для которых, по крайней мере, одна попытка с применением низкокалорийной диеты для снижения МТ оказалась неэффективной.

Дизайн. Подтверждающие исследования III фазы должны быть рандомизированными, плацебо-контролируемыми, двойными слепыми. Такой дизайн должен свести к минимуму погрешности при оценке эффективности и безопасности нового ЛП для лечения ожирения.

Поскольку контроль МТ может быть достигнут только за счет диеты, физических упражнений и изменения поведения, использование группы плацебо необходимо, чтобы четко показать, что исследуемый ЛП в дополнение к соответствующим немедикаментозным вмешательствам более эффективен, чем те же самые немедикаментозные вмешательства без медикаментозного лечения.

При появлении новых эффективных ЛП для снижения МТ в дополнение к плацебо-контролируемым КИ могут быть актуальны дизайны с использованием активного контроля.

Проведение плацебо-контролируемых исследований (особенно долгосрочных) может быть связано с высоким уровнем выбывших пациентов. Это усложняет оценку результатов КИ. В связи с этим дополнительно требуется проведение эффективного немедикаментозного вмешательства, а также необходимо принять все возможные меры для минимизации числа выбывших пациентов. Перед рандомизацией всем пациентам должны быть даны единые инструкции и рекомендации в отношении изменения рациона питания и физической активности. В ходе долгосрочных исследований такие инструкции и рекомендации пациентам следует давать регулярно.

От продолжительности КИ нового ЛП зависит рекомендуемая продолжительность лечения пациентов с ожирением. Часто наблюдается прекращение снижения МТ после 5–6 мес. непрерывного применения существующих или ранее доступных медикаментозных методов лечения. Тем не менее для полной оценки влияния ЛП на снижение МТ и сопутствующие заболевания, связанные с ожирением, продолжительность большинства подтверждающих исследований должна составлять не менее 12 мес.

Для оценки влияния на некоторые состояния, связанные с МТ (например, профилактика развития СД2), могут потребоваться более длительные КИ, в то время как для других состояний (например, влияние на апноэ во сне) может быть приемлемой меньшая продолжительность КИ. Для оценки безопасности также может потребоваться увеличить продолжительность КИ.

Дизайн с отменой рандомизированного лечения, рандомизация пациентов на активном ЛП для продолжения лечения или замены на плацебо может дать информацию о продолжительности эффекта ЛП.

Интеркуррентные события. Это события, которые происходят во время КИ и могут повлиять на интерпретацию результатов¹⁵. Такими событиями могут быть прекращение участия в исследовании (непереносимость терапии, разочарование в достигнутой потере МТ, переезд, осложнения со стороны здоровья, начало приема других ЛП); курение и отказ от курения; занятия в тренажерном зале; изменение в диете и др. Интерпретация наблюдаемых различий между группами лечения в КИ по снижению МТ может быть сложной задачей; интеркуррентные события, возникающие после начала лечения, могут повлиять на интерпретацию результатов в конце

¹⁵ ICH E9 (R1) Addendum on estimands and sensitivity analysis in clinical trials to the guideline on statistical principles for clinical trials. EMA/CHMP/ICH/436221/2017.

лечения [56]. Все интеркуррентные события во время КИ должны быть надлежащим образом задокументированы.

Следует учитывать влияние других ЛП на МТ (например, метформина, инсулина, агонистов глюкагоноподобного пептида-1), часто назначаемых пациентам с ожирением в сочетании с СД.

Исследования в особых группах. Дизайн КИ должен быть разработан таким образом, чтобы позволить идентифицировать и охарактеризовать любые клинически важные подгруппы пациентов, которые в большей или меньшей степени реагируют на лечение. Например, можно ожидать, что для пациентов с ожирением с ИМТ ≥ 35 кг/м² снижение МТ имеет важное значение в связи со снижением риска ССЗ/смертности.

Для пациентов пожилого возраста следует представить данные по различным возрастным группам для оценки соотношения эффекта лечения и профиля безопасности у этих пациентов по сравнению с более молодыми группами пациентов. Любое ограничение данных об эффективности и безопасности ЛП в данной категории пациентов должно быть отражено в информации о препарате.

Оценка безопасности. При поведении КИ необходима всесторонняя оценка любых потенциальных НР, характерных для исследуемого класса ЛП.

Общий план выявления и оценки потенциальных НР, включая обоснование размера и продолжительности исследований с учетом возможности оценки безопасности, должен быть перспективно разработан на ранних этапах клинической разработки, оптимально ко времени проведения исследований II фазы. Эта программа должна учитывать ключевые элементы фармакологической безопасности, а также результаты доклинических токсикологических исследований. Повышенный риск определенных НР может вызвать необходимость дополнительного специального долгосрочного исследования безопасности до или после регистрации.

Нейропсихическая безопасность. Чтобы отразить общую популяцию пациентов с ожирением в клинической практике, участники КИ с легкой или умеренной депрессией в анамнезе, а также пациенты, получающие терапию антидепрессантами, не должны исключаться из КИ.

Некоторые препараты для снижения МТ (например, препараты с центральным механизмом действия) могут потенциально вызывать серьезные

нейропсихические НР. Если имеются какие-либо данные (доклинические, ранние клинические или маркетинговые) в отношении нейропсихической безопасности ЛП, следует провести проспективную оценку психических, нейро-стимуляторных или когнитивных НР (например, депрессия и суицидальность, возбуждение, тревога, бессонница, психотические реакции, нарушения внимания).

Потенциал злоупотребления/зависимости и реакции отмены должен быть обоснован для каждого конкретного ЛП. Если имеются какие-либо данные (доклинические, ранние клинические или маркетинговые) в отношении злоупотребления/зависимости и реакций отмены ЛП, следует провести проспективную оценку потенциала злоупотребления/зависимости и (или) реакций отмены. Крайне важно, чтобы в ходе КИ проводилось последующее обследование в течение достаточного периода времени для оценки любых потенциальных реакций отмены.

Сердечно-сосудистая безопасность. Программа разработки ЛП, содержащая все соответствующие доклинические и клинические данные, должна адекватно характеризовать профиль СС безопасности. Это относится к ЛП с новым механизмом действия или ЛП, принадлежащим к классу ЛП, для которых профиль СС безопасности еще не установлен или не поставлен под сомнение. Например, в случае неблагоприятного воздействия на другой фактор СС риска.

Европейская ассоциация по исследованию ожирения (European Association for the Study of Obesity, EASO) в 2014 г. впервые обратила внимание на необходимость при регистрации новых ЛП для лечения ожирения изучить их влияние на кардиоваскулярный риск [57].

В настоящее время при регистрации ЛП для лечения ожирения проведение исследований ССИ не требуется. Однако в популяции, которая подвержена большому риску развития неблагоприятных ССИ, ЛП могут усилить этот риск. Согласно рекомендациям EASO, следует надлежащим образом проводить разработку программы исследований безопасности ССИ для новых ЛП для лечения ожирения. Только для тех ЛП, которые не влияют на маркеры СС риска или их влияние на ССИ крайне маловероятно, оценка ССИ до или после регистрации ЛП не требуется.

Вальвулопатия и легочная гипертензия. Сообщалось о случаях тяжелой вальвулопатии

у пациентов, получающих терапию некоторыми анорексигенными ЛП центрального действия. Имеющиеся данные подтверждают, что механизм вальвулопатии связан со специфическим агонизмом рецептора 5-HT_{2B} [58], поэтому ЛП, стимулирующие этот рецептор, должны быть тщательно оценены в отношении риска развития вальвулопатии. Эта оценка должна включать повторные эхокардиографические исследования (например, в исходном состоянии и каждые 6 мес.) у участников исследования.

Применение некоторых анорексигенных ЛП центрального действия также было связано с повышенным риском развития легочной гипертензии [59], что должно быть учтено в программе разработки препарата при оценке его безопасности.

Заключение

Представленные рекомендации отражают основные принципы планирования и проведения КИ ЛП для лечения ожирения.

Стратегия оценки терапевтического эффекта нового ЛП должна быть тщательно спланирована, обоснована, отражена в дизайне, критериях оценки эффективности и безопасности и статистическом анализе результатов КИ.

Выбор популяции пациентов определяется общепризнанными алгоритмами диагностики и лечения ожирения, которые разрабатываются и утверждаются ведущими международными экспертными организациями.

Дизайн КИ должен отвечать современным общепринятым концепциям доказательной медицины и представлять собой рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое КИ. Особое внимание следует уделить необходимости соблюдения пациентами рекомендаций по питанию и уровню физической активности.

Первичной конечной точкой ЛП для лечения ожирения является демонстрация статистически значимого снижения МТ, по крайней мере,

на 5% от исходной МТ после 12 мес. терапии. Вторичные конечные точки: уменьшение степени выраженности абдоминального ожирения (уменьшение ОТ или уменьшение отношения ОТ к ОБ); оценка количества подкожного и висцерального жира с использованием магнитно-резонансной томографии или компьютерной томографии; оценка влияния ЛП на поддержание сниженной МТ после низкокалорийной / очень низкокалорийной диеты. В КИ следует продемонстрировать, что снижение МТ связано с соответствующей потерей жировой ткани. Также может быть оценено влияние ЛП на СС факторы риска и СС заболеваемость/смертность, влияние на параметры, связанные с СС риском (концентрация глюкозы в крови, АД и т.д.), и на сопутствующие заболевания. В протоколе КИ требуется представить определение интеркуррентных событий, влияние которых также нужно учитывать при анализе полученных результатов. Всестороннее изучение безопасности нового ЛП для лечения ожирения должно включать выявление предполагаемых или известных эффектов соответствующего класса ЛП. В отношении безопасности ЛП для лечения ожирения следует сделать акцент на нейropsychической безопасности, потенциале злоупотреблений/зависимости и реакций отмены, развитии вальвулопатии и легочной гипертензии.

Развитие подходов к оценке новых ЛП для лечения ожирения требует постоянного мониторинга научных публикаций и международных рекомендаций. В случае обновления международных рекомендаций и стандартов лечения может потребоваться уточнение информации, касающейся клинической разработки ЛП.

Представленные в работе подходы гармонизированы с требованиями ведущих регуляторных органов и отражают общие принципы планирования и проведения КИ ЛП для лечения ожирения. Данные подходы позволят повысить качество проводимых КИ и могут быть востребованы экспертами, оценивающими результаты КИ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009;9:88. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>
2. Lenz M, Richter T, Mühlhauser I. The morbidity and mortality associated with overweight and obesity in adulthood. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106(40):641–8. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0641>
3. Alberti K, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366(9491):1059–62. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67402-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67402-8)
4. Wolin KY, Carson K, Colditz GA. Obesity and cancer. *Oncologist*. 2010;15(6):556–65. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0285>
5. Peto R, Whitlock G, Jha P. Effects of obesity and smoking on US life expectancy. *N Engl J Med*. 2010;362(9):855–7. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1000079>

6. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Uberto Pagotto U, et al. Pharmacological management of obesity: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(2):342–62.
<https://doi.org/10.1210/jc.2014-3415>
7. Тепаева АИ. Качество жизни пациентов, страдающих избыточным весом и ожирением: результаты социологического анализа. *Бюллетень медицинской Интернет-конференции.* 2013;3(7):1027–30.
Тепаева АИ. Quality of life of overweight and obese patients: results of sociological analysis. *Bulletin of Medical Internet Conferences.* 2013;3(7):1027–30 (In Russ.).
EDN: [OGPUGL](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
8. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). World-wide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet.* 2017;390(10113):2627–42.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
9. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet.* 2016;387(10026):1377–96.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30054-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30054-X)
10. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, J He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(9):1431–7.
<https://doi.org/10.1038/ijo.2008.102>
11. Schutz DD, Busetto L, Dicker D, Farpour-Lambert N, Pryke R, Toplak H, et al. European practical and patient-centred guidelines for adult obesity management in Primary Care. *Obes Facts.* 2019;12(1):40–66.
<https://doi.org/10.1159/000496183>
12. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Галстян ГР. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION). *Сахарный диабет.* 2016;19(2):104–12.
Dedov II, Shestakova MV, Galstyan GR. The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study). *Diabetes Mellitus.* 2016;19(2):104–12 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14341/DM2004116-17>
13. Colman E. Food and Drug Administration's Obesity Drug Guidance Document: a short history. *Circulation.* 2012;125(17):2156–64.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.028381>
14. Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL. Indices of relative weight and obesity. *J Chronic Dis.* 1972;25:329–43. Reprinted *Int J Epidemiol.* 2014;43(3):655–65.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyu058>
15. Драпкина ОМ, Самородская ИВ, Старинская МА, Ким ОТ, Неймарк АЕ. *Ожирение: оценка и тактика ведения пациентов.* Коллективная монография. М.: ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, ООО «Силиция-Полиграф»; 2021.
Drapkina OM, Samorodskaya IV, Starinskaya MA, Kim OT, Neymark AE. *Obesity: assessment and management tactics.* Collective monograph. Moscow: National Research Institute of Cardiology and Therapy of the Ministry of Health of Russia; Silicea-Polygraph; 2021 (In Russ.).
16. Mathus-Vliegen L, Toouli J, Fried M, Khan AG, Garisch J, Hunt R et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines on Obesity. *J Clin Gastroenterol.* 2012;46(7):555–61.
<https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318259bd04>
17. Garvey WT, Garber AJ, Mechanick I, Bray A, Dagogo-Jack S, Einhorn D, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology position statement on the 2014 advanced framework for a new diagnosis of obesity as a chronic disease. *Endocr Pract.* 2014;20(9):977–89.
<https://doi.org/10.4158/EP14280.PS>
18. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Мельниченко ГА, Мазурин НВ, Андреева ЕН, Бондаренко ИЗ и др. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение Ожирения и коморбидных заболеваний». *Ожирение и метаболизм.* 2021;18(1):5–99.
Dedov II, Shestakova MV, Melnichenko GA, Mazurina NV, Andreeva EN, Bondarenko IZ, et al. Interdisciplinary clinical practice guidelines “Management of obesity and its comorbidities”. *Obesity and Metabolism.* 2021;18(1):5–99 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14341/omet12714>
19. Wharton S, Lau DCW, Vallis M, Sharma AM, Biertho L, Campbell-Scherer D, et al. Obesity in adults: a clinical practice guideline. *CMAJ.* 2020;192(31):E875–91.
<https://doi.org/10.1503/cmaj.191707>
20. Pasquali R, Casanueva F, Haluzik M, Hulsteyn L, Ledoux S, Monteiro MP, et al. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline: endocrine work-up in obesity. *Eur J Endocrinol.* 2020;182(1):G1–G32.
<https://doi.org/10.1530/eje-19-0893>
21. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(25):2985–3023.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.11.004>
22. Blundell JE, Dullloo AG, Salvador J, Frühbeck G. Beyond BMI – phenotyping the obesities. *Obes Facts.* 2014;7(5):322–8.
<https://doi.org/10.1159/000368783>
23. Sampsel S, May J. Assessment and management of obesity and comorbid conditions. *Dis Manag.* 2007;10(5):252–65.
<https://doi.org/10.1089/dis.2007.105712>
24. Hainer V, Toplak H, Mitrakou A. Treatment modalities of obesity: what fits whom? *Diabetes Care.* 2008;31(2):S269–S277.
<https://doi.org/10.2337/dc08-s265>
25. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 2002;346(6):393–403.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa012512>
26. Biddle SJH, Bengoechea EG, Pedisic Z, Bennie J, Vergeer I, Wiesner G. Screen time, other sedentary behaviours, and obesity risk in adults: a review of

- reviews. *Curr Obes Rep*. 2017;6(2):134–47.
<https://doi.org/10.1007/s13679-017-0256-9>
27. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017;376(3):254–66.
<https://doi.org/10.1056/NEJMr1514009>
 28. Müller TD, Clemmensen C, Finan B, Di Marchi RD, Tschöp MH. Anti-obesity therapy: from rainbow pills to polyagonists. *Pharmacol Rev*. 2018;70(4):712–46.
<https://doi.org/10.1124/pr.117.014803>
 29. Dunlop DM. The use of 2,4-dinitrophenol as a metabolic stimulant. *Br Med J*. 1934;1(3820):524–7.
<https://doi.org/10.1136/bmj.1.3820.524>
 30. Khera R, Murad MH, Chandar AK, Dulai PS, Wang Z, Prokop LJ, et al. Association of pharmacological treatments for obesity with weight loss and adverse events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2016;315(22):2424–34.
<https://doi.org/10.1001/jama.2016.7602>
 31. Després JP, Golay A, Sjöström L, Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med*. 2005;353(20):2121–34.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa044537>
 32. Hauner H, Hastreiter L, Werdier D, Chen-Stute A, Scholze J, Blüher M. Efficacy and safety of cathine (nor-pseudoephedrine) in the treatment of obesity: a randomized dose-finding study. *Obes Facts*. 2017;10(4):407–19.
<https://doi.org/10.1159/000478098>
 33. Müller TD, Blüher M, Tschöp MH. Anti-obesity drug discovery: advances and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2022;21(3):201–23.
<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00337-8>
 34. Алиева ВА. Современные лекарственные препараты в лечении ожирения. *Клиническая фармакология и терапия*. 2020;29(4):61–6.
 Alieva VA. Modern medicines for the treatment of obesity. *Clinical pharmacology and therapy*. 2020;29(4):61–6 (In Russ.).
<https://doi.org/10.32756/0869-5490-2020-4-61-66>
 35. Beverly GT, Mohini A, Rekha BK, Louis JA, Kenneth RF, Bradley A, et al. *Pharmacologic treatment of overweight and obesity in adults*. In: Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. PMID: 25905267
 36. Greenway F, Aronne L, Raben A, Astrup A, Apovian C, Hill JO, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of Gelesis100: a novel nonsystemic oral hydrogel for weight loss. *Obesity*. 2018;27(2):205–16.
<https://doi.org/10.1002/oby.22347>
 37. Farooqi IS. Defining the neural basis of appetite and obesity: from genes to behaviour. *Clin Med (Lond)*. 2014;14(3):286–9.
<https://doi.org/10.7861/clinmedicine.14-3-286>
 38. Heal D, Gosden J, Smith S. The 5-HT₆ receptor as a target for developing novel antiobesity drugs. *Int Rev Neurobiol*. 2011;96:73–109.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00004-8>
 39. Vickers SP, Jackson HC, Cheetham SC. The utility of animal models to evaluate novel anti-obesity agents. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1248–62.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01245.x>
 40. Tschöp MH, Speakman JR, Arch JRS, Auwerx J, Brüning JC, Chan L, et al. A guide to analysis of mouse energy metabolism. *Nat Methods*. 2011;9(1):57–63.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.1806>
 41. Farooqi IS, O'Rahilly S. Monogenic human obesity syndromes. *Recent Prog Horm Res*. 2004;59:409–24.
<https://doi.org/10.1210/rp.59.1.409>
 42. Farooqi IS, O'Rahilly S, Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G. *The genetics of obesity in humans*. In: Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. PMID: 25905292
 43. Xue A, Wu Y, Zhu Z, Zhang F, Kemper KF, Zheng Z, et al. Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2018;9(1):2941.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-04951-w>
 44. Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A, Martinell M, Dorkhan M, Carlsson A, et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(5):361–9.
[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30051-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30051-2)
 45. Fall T, Ingelsson E. Genome-wide association studies of obesity and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;382(1):740–57.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.08.018>
 46. Locke AE, Kahali B, Berndt SI, Justice AE, Pers TH, Day FR, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*. 2015;518(7538):197–206.
<https://doi.org/10.1038/nature14177>
 47. Huypens P, Sass S, Wu M, Dyckhoff D, Theis F, et al. Epigenetic germline inheritance of diet-induced obesity and insulin resistance. *Nat Genet*. 2016;48(5):497–9.
<https://doi.org/10.1038/ng.3527>
 48. Melvin A, O'Rahilly S, Savage DB. Genetic syndromes of severe insulin resistance. *Curr Opin Genet Dev*. 2018;50:60–7.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.02.002>
 49. Tak YJ, Lee SY. Anti-obesity drugs: long-term efficacy and safety: an updated review. *World J Mens Health*. 2021;39(2):208–21.
<https://doi.org/10.5534/wjmh.200010>
 50. Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, Wilding JP. Management of obesity. *Lancet*. 2016;387(100031):1947–56.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00271-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00271-3)
 51. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med*. 2017;377(1):13–27.
<https://doi.org/10.1056/NEJMr1614362>
 52. Таубэ АА, Романов БК. Экспертная оценка прогностических критериев неклинических исследований при регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2021;20(1):18–25.
 Taube AA, Romanov BK. Expert evaluation of prognostic criteria for non-clinical trials when registering medicinal products for medical use. *Vestnik of the*

- Smolensk State Medical Academy. 2021;20(1):18–25 (In Russ.).
<https://doi.org/10.37903/vsgma.2021.1.3>
53. Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, Moore MC, Renner S, Woods SC, et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(3):140–62.
<https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>
54. Elangbam CS. Review paper: Current strategies in the development of anti-obesity drugs and their safety concerns. *Vet Pathol*. 2009;46(1):10–24.
<https://doi.org/10.1354/vp.46-1-10>
55. Atkinson A, Colburn W, Degruittola V, Demets D, Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89–95.
<https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
56. Wharton S, Astrup A, Endahl L, Lean MEJ, Satyrganova A, Skovgaard D, et al. Estimating and reporting treatment effects in clinical trials for weight management: using estimands to interpret effects of intercurrent events and missing data. *Int J Obes (Lond)*. 2021;45(5):923–33.
<https://doi.org/10.1038/s41366-020-00733-x>
57. Toplak H, Woodward E, Yumuk V, Oppert JM, Halford JCD, Frühbeck G. 2014 EASO Position statement on the use of anti-obesity drugs. *Obes Facts*. 2015;8(3):166–74.
<https://doi.org/10.1159/000430801>
58. Rothman RB, Baumann JE, Savage JE, Rauser L, McBride A, Hufeisen SJ, Roth BL. Evidence for possible involvement of 5-HT_{2B} receptors in the cardiac valvulopathy associated with fenfluramine and other serotonergic medications. *Circulation*. 2000;102(23):2836–41.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.102.23.2836>
59. Schermuly RT, Ghofrani HA, Wilkins MR, Grimmer F. Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(8):443–55.
<https://doi.org/10.1038/nrcardio.2011.87>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: И.А. Проскурина — написание и редактирование текста рукописи, ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей рукописи; Т.Е. Горская — написание текста рукописи, сбор и систематизация данных литературы; Д.В. Горячев — разработка концепции исследования, критический пересмотр текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Irina A. Proskurina drafted and edited the manuscript and agreed to be accountable for all aspects of the work and its integrity. Tatiana E. Gorskaya drafted the manuscript, collected and collated literature data. Dmitry V. Goryachev elaborated the study concept, critically revised the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Проскурина Ирина Анатольевна, канд. мед. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0934-5067>

Proskurina@expmed.ru

Горская Татьяна Евгеньевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5430-6975>

gorskayate@expmed.ru

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Gorachev@expmed.ru

Поступила 05.05.2022

После доработки 31.01.2023

Принята к публикации 07.03.2023

Online first 29.06.2023

Irina A. Proskurina, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0934-5067>

Proskurina@expmed.ru

Tatiana E. Gorskaya

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5430-6975>

gorskayate@expmed.ru

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Gorachev@expmed.ru

Received 5 May 2022

Revised 31 January 2023

Accepted 7 March 2023

Online first 29 June 2023



А.И. Губенко 
Д.В. Горячев 
А.И. Муравьева 
Г.В. Шукшина 

Планирование программы клинических исследований препаратов прямого противовирусного действия для лечения хронического вирусного гепатита С

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

✉ Губенко Анна Игоревна; gubenko@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Разработка и применение препаратов прямого противовирусного действия существенно повысили эффективность лечения пациентов с инфекцией гепатита С. Однако рекомендации по клинической разработке данной группы препаратов в России и странах Евразийского экономического союза на данный момент отсутствуют.

Цель. Анализ требований и рекомендаций к планированию клинических исследований эффективности и безопасности противовирусной терапии хронического гепатита С препаратами прямого противовирусного действия на основании нормативной документации регуляторных органов Европейского союза и США.

Обсуждение. В результате проведенного анализа обоснован выбор целевой популяции пациентов и дизайна клинических исследований эффективности и подтверждающих исследований, а также особенности разработки на клиническом этапе в особых группах пациентов, в том числе с коинфекцией гепатитом С и вирусом иммунодефицита человека, пациентов с трансплантатом печени и наличием предшествующего опыта лечения. Отмечено, что за пациентами, достигшими устойчивого вирусологического ответа, требуется наблюдение в течение одного полного года после завершения терапии для подтверждения длительности эффекта. В исследованиях по подбору дозы рекомендовано сначала изучить достаточный диапазон доз в режиме монотерапии, а затем проводить исследования комбинированного применения препарата. Показана необходимость совершенствования существующих схем лечения и изучения возможности сокращения продолжительности курса лечения.

Выводы. Сформулированы основные подходы и определена методология программы клинических исследований с учетом высокой степени корреляции эффективности указанных препаратов с генотипом и подтипом вируса гепатита С, которым инфицирован пациент.

Ключевые слова: клинические исследования; препараты прямого противовирусного действия; хронический вирусный гепатит С; вирус гепатита С; ЕАЭС

Для цитирования: Губенко А.И., Горячев Д.В., Муравьева А.И., Шукшина Г.В. Планирование программы клинических исследований препаратов прямого противовирусного действия для лечения хронического вирусного гепатита С. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):519–530. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-499>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Д.В. Горячев — член редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2018 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Anna I. Gubenko ✉ 
Dmitry V. Goryachev 
Anna I. Muravieva 
Galina V. Shukshina 

Planning a Clinical Trial Programme for Direct-Acting Antivirals for Chronic Viral Hepatitis C

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

✉ Anna I. Gubenko; gubenko@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Direct-acting antivirals have significantly improved the effectiveness of treatment for hepatitis C. However, Russia and the Eurasian Economic Union lack recommendations for the clinical development of medicinal products from this pharmacotherapeutic group.

Aim. The study aimed to analyse the requirements and recommendations for planning safety and efficacy clinical trials of direct-acting antivirals for chronic viral hepatitis C, outlined in the regulatory documents of the European Union and the United States.

Discussion. Upon analysing the requirements and recommendations, the authors explained the reasons behind choosing the target population and the design for the efficacy and confirmatory studies. The article covers the clinical development of direct-acting antivirals in special populations, including patients with hepatitis C and HIV co-infection, a liver transplant, and prior treatment experience. According to the authors, patients who achieved a sustained virological response should be followed up for a full year after the end of treatment in order to confirm the durability of their response. A dose-finding study should first identify a suitable dose range for monotherapy and, subsequently, for combined therapy. Current treatment regimens should be optimised, and studies should be conducted to reduce treatment duration.

Conclusions. The authors outlined the main approaches and a methodology for clinical trial programmes that should take into account the degree of correlation between the efficacy of direct-acting antivirals and the genotype/subtype of hepatitis C virus.

Keywords: clinical trials; direct-acting antivirals; chronic viral hepatitis C; hepatitis C virus; EAEU

For citation: Gubenko A.I., Goryachev D.V., Muravieva A.I., Shukshina G.V. Planning a clinical trial programme for direct-acting antivirals for chronic viral hepatitis C. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):519–530. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-499>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121021800098-4).

Disclosure. Dmitry V. Goryachev has been a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2018. The other authors declare having no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 2016 г. была принята глобальная стратегия по вирусному гепатиту, ориентированная на период до 2030 г. Целью разработанной стратегии стала элиминация вирусного гепатита, а целевыми показателями — снижение числа новых случаев инфицирования и смертности¹. Стратегия направлена на борьбу с пятью

вирусами гепатита: А, В, С, D, Е, но прежде всего с вирусами гепатитов В и С, учитывая их особую социальную значимость и экономическое бремя для здравоохранения [1].

Вирус гепатита С (ВГС) является одной из наиболее распространенных инфекционных причин хронических заболеваний печени. ВГС имеет существенное генетическое многообразие и характеризуется высокой мутагенной активностью.

¹ <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250042>

GHSS 2022–2030. Всемирная организация здравоохранения. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/full-final-who-ghss-hiv-vh-sti_1-june2022_ru.pdf?sfvrsn=7c074b36_9

У РНК вируса есть полиморфные участки, на различиях нуклеотидной последовательности которых построена классификация вируса по генотипам и субтипам, имеющим разную степень чувствительности к препаратам противовирусной терапии. На данный момент выделяют 8 генотипов ВГС и десятки субтипов вируса. У инфицированных ВГС могут появляться новые варианты вируса, называемые квазивидами [2–4].

Антитела к ВГС выявляются у 1% населения от общей численности в мире, среди них 2/3 хронически инфицированы. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) с прогрессированием заболевания часто наблюдается увеличение степени тяжести фиброза печени, что с высокой долей вероятности приводит к циррозу печени (ЦП), развитию гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и необходимости трансплантации печени. Целью лечения ХВГС является элиминация ВГС и профилактика осложнений, включая ЦП, ГЦК и летальный исход [5–7].

Первые схемы лечения ХВГС включали препараты интерферона, эффективность которых варьировала в пределах 30–40%. Благодаря достижениям в области молекулярной биологии были разработаны препараты прямого противовирусного действия (ПППД), влияющие на ВГС в определенные этапы жизненного цикла за счет подавления функции белков вируса. Применение ПППД последнего поколения позволяет достичь элиминации вируса гепатита С более чем у 95% пациентов.

Таблица 1. Препараты прямого противовирусного действия, зарегистрированные в Российской Федерации (по данным Государственного реестра лекарственных средств по состоянию на август 2023 г.)

Table 1. Direct-acting antivirals approved in the Russian Federation (Russian State Register of Medicines as of August 2023)

Класс препарата по типу действия	Международное непатентованное наименование	Страна держателя регистрационного удостоверения
Ненуклеозидный ингибитор NS5B; ингибитор NS5A+ингибитор NS3/4A+ингибитор CYP3A4 (фармакокинетический усилитель)	Дасабувир; омбитасвир+паритапревир+ритонавир	Россия
Ингибитор NS5A	Даклатасвир	Россия
Нуклеозидный ингибитор полимеразы NS5B	Софосбувир	Россия Великобритания
Ингибитор NS3/4A протеазы	Нарлапревир	Россия
Ингибитор NS3/4A протеазы+ингибитор NS5A	Глекапревир+пибрентасвир	Россия
Ингибитор NS3/4A+ингибитор NS5A	Гразопревир+элбасвир	Россия
Ингибитор NS5A+нуклеозидный ингибитор полимеразы NS5B	Велпатасвир+софосбувир	Великобритания
Ингибитор NS5A+нуклеозидный ингибитор полимеразы NS5B	Ледипасвир+софосбувир	Великобритания

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

² <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

По данным Государственного реестра лекарственных средств² на август 2023 г. в Российской Федерации зарегистрированы ПППД, представленные в *таблице 1*. Все препараты имеют пероральный способ применения.

Механизм действия ПППД заключается в ингибировании функции неструктурных белков NS3/4A, NS5A и NS5B вируса гепатита С. Неструктурные белки не входят в состав зрелых вирионов, а образуются во время репродукции вируса и обеспечивают регуляцию экспрессии вирусного генома, а также являются предшественниками структурных белков. В соответствии с действием на определенные неструктурные белки принято выделять 4 класса ПППД: 1) ингибиторы протеазы NS3/4A; 2) ингибиторы NS5A репликативного комплекса и ингибиторы NS5B полимеразы, которые включают два класса; 3) нуклеозидные ингибиторы NS5B полимеразы; 4) ненуклеозидные ингибиторы NS5B полимеразы [8].

Успехи в разработке новых ПППД существенно повысили эффективность лечения ХВГС, но основная задача полной элиминации вируса по-прежнему не решена. Эффективность лечения на уровне популяции зависит от количества пациентов с ВГС, получающих ПППД. Однако в связи с высокой ценой препаратов доступ к лечению остается ограниченным. Менее 10% пациентов с инфекцией ВГС имеют возможность использовать эффективные схемы лечения. В Российской Федерации особую важность представляет возможность лечения ХВГС

противовирусными препаратами, производство которых локализовано на территории страны. Терапия гепатита СППД обладает более благоприятным профилем безопасности по сравнению со схемами терапии, включающими интерферон, однако она по-прежнему требует оптимизации. Существует потребность в сокращении продолжительности лечения, что будет способствовать уменьшению побочных эффектов противовирусных препаратов [9–12].

Для части пациентов противовирусная терапияППД оказывается неэффективной. ПрименениеППД не приводит к полной элиминации вируса в 2–10% случаев. Неудачи терапии могут быть обусловлены феноменом лекарственной резистентности ВГС, несоблюдением режима лечения и межлекарственными взаимодействиями. По мере увеличения охвата терапией пациентов может произойти накопление резистентных штаммов ВГС, что приведет к необходимости разработки новых схем терапии и новых препаратов для лечения ХВГС. Снижение приверженности терапии может возникать вследствие возникновения побочных реакций или особенностей режима дозирования. На фоне несоблюдения режима дозирования концентрация действующих веществ в крови может быть снижена, что, в свою очередь, может привести к недостаточному воздействию на вирус и появлению мутаций резистентности. Возможные межлекарственные взаимодействия при сопутствующем приеме нескольких препаратов могут приводить к снижению эффективности проводимой терапии или ее небезопасности. Данный аспект подтверждает необходимость разработки как новых лекарственных препаратов, так и новых схем терапии ХВГС [13–15].

Для пациентов с почечной недостаточностью, с выраженной стадией цирроза, с так называемым декомпенсированным циррозом и печеночной недостаточностью или с опытом неудачного лечения в прошлом, пациентов детского возраста актуальна разработка новых препаратов и новых схем лечения³, а также изучение возможности сокращения продолжительности курса лечения.

Программа клинических исследованийППД должна быть спланирована таким образом, чтобы на всех этапах разработки были определены ключевые факторы, влияющие на эффективность и безопасность применения препарата у целевой популяции пациентов. Действующие на данный момент в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС) рекомендации относительно разработки препаратов для лечения ХВГС касаются препаратов, входящих в устаревшие схемы лечения интерфероном⁴. При этом в 2021 г. были опубликованы клинические рекомендации Минздрава, согласно которым в схемы лечения ХВГС входят толькоППД⁵.

В связи с отсутствием критериев оценки эффективности и безопасностиППД при их клинической разработке возникает потребность в заимствовании опыта зарубежных регуляторных органов в области планирования программ клинических исследованийППД, главным образом нормативно-правовой базы Европейского союза и США.

Цель работы — анализ требований и рекомендаций к планированию клинических исследований эффективности и безопасности противовирусной терапии хронического гепатита С препаратами прямого противовирусного действия на основании нормативной документации регуляторных органов Европейского союза и США.

Планирование программ клинических исследований

Данная работа является продолжением опубликованной ранее [16] и отражает быстрый прогресс в области лечения ХВГС, а также более детально раскрывает вопросы и проблемы клинической разработкиППД.

Основными документами, в которых представлены рекомендации по проведению клинических исследованийППД для лечения ХВГС, являются проект руководства Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA)⁶ и руководство Управления по контролю за качеством

³ Пичугина Е. Гепатит — от мала до велика. Московский комсомолец, № 28599 от 11.08.2021.

Котов Р. Гепатит С будут лечить по-новому. Интервью с соавтором рекомендаций Минздрава. СПИД.ЦЕНТР, 22.02.2022. <https://spid.center/ru/articles/4052/>

⁴ Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 4. М.: Гриф и К; 2014.

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

⁵ Хронический вирусный гепатит С. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2021.

⁶ Draft guideline on the clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA)⁷.

Методы исследований

Эталонными методами определения генотипа и подтипа ВГС являются прямое секвенирование, т.е. определение точного порядка расположения нуклеотидов в молекуле РНК, и филогенетический анализ. Секвенирование генома одновременно позволяет выявлять резистентные варианты вируса при изучении генотипической резистентности. Фенотипическая резистентность, т.е. резистентность, которая возникает в результате процесса жизнедеятельности вируса и не наследуется, определяется изменением чувствительности вируса к препарату в условиях *in vitro* [17]. Возможные межлекарственные взаимодействия прогнозируются путем изучения метаболического профиля разрабатываемого препарата, влияния совместного применения исследуемого и других препаратов на концентрации действующих веществ в крови [18, 19]. Концентрацию РНК ВГС в плазме крови определяют методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, нижний предел количественного определения метода⁸ должен быть около 10–15 МЕ/мл [20].

Оценка степени тяжести фиброза печени

Для правильной стратификации пациентов на группы и оценки полученных результатов требуется диагностика стадии цирроза или фиброза печени. Определение исходного состояния пациентов с ЦП имеет решающее значение для установления корреляции между развитием ЦП и эффективностью, безопасностью и фармакокинетикой препарата. ЦП является важным фактором, влияющим на результаты лечения. Диагностика цирроза основывается на результатах клинических, морфологических, инструментальных и лабораторных методов исследований с использованием различных прогностических шкал. Пациенты с ЦП должны быть обследованы на предмет портальной гипертензии. Биопсия печени является стандартным методом для оценки некровоспаления и фиброза, в качестве альтернативы доступен ряд методов неинвазивной оценки гистологии печени (эластометрия, панели биомаркеров фиброза)⁹ [5, 21–23].

Фармакокинетика

Одним из ключевых факторов, определяющих успешное достижение ответа на лечение у пациента, является концентрация препарата, позволяющая полностью подавить репликацию вируса и предотвратить селекцию резистентных вариантов. Препарат в концентрации выше ингибирующей обеспечивает эффективное подавление репликации вируса. Чтобы сократить риск отбора резистентных вариантов вируса, первоначальные исследования фармакокинетики следует проводить с привлечением здоровых добровольцев и применением однократных или многократных нарастающих доз. Исследования фармакокинетики, проводимые у пациентов, инфицированных ВГС, должны включать оценку взаимосвязи между экспозицией препарата и вирусологическим ответом [24].

Оценка фармакокинетических параметров у пациентов с нарушением функции почек и печени позволит получить необходимые данные по коррекции режима дозирования. Исследования с привлечением пациентов с почечной и печеночной недостаточностью возможно проводить с участием тех, у кого диагностирован ВГС, но только если при этом на основании результатов проведенных тестов на резистентность (анализы фенотипической и генотипической резистентности) было установлено, что развитие резистентности маловероятно. У пациентов с моноинфекцией вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) возможно проведение исследования фармакокинетики препарата при его однократном применении или краткосрочные исследования при многократном применении препарата¹⁰.

Оценка эффективности

Популяция. Эффективность многих ПППД зависит от генотипа и подтипа вируса ВГС, которым инфицирован пациент. Диапазон генотипов ВГС у пациентов, для которых актуально проведение клинического исследования, будет первоначально основываться на данных о противовирусной активности препарата *in vitro*. При выборе популяций пациентов с определенными генотипами вируса для последующих исследований следует использовать результаты ранних клинических исследований. Обоснование изучения различных генотипов и подтипов вируса у пациентов в отдельных исследованиях или в рамках одного исследования должно учитывать, какие

⁷ Chronic Hepatitis C Virus Infection: Developing direct-acting antiviral drug for treatment. FDA-2013-D-1170. Rockville, MD; 2017.

⁸ Там же.

⁹ Там же.

¹⁰ Draft guideline on clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

комбинации препаратов, дозы, продолжительность лечения и терапия сравнения могут быть оптимальными для каждой группы пациентов¹¹.

Информация о предыдущем опыте лечения интерфероном альфа и полученный ранее ответ на терапию помогают понять взаимосвязь ответа на интерферон и ответа на схему лечения без него¹². Набор в исследование пациентов, уже проходивших лечение, может быть полезным для определения оптимальной схемы терапии для тех пациентов, у которых регистрировался низкий вирусологический ответ на интерферон-содержащие схемы лечения или низкий иммунитет к ВГС. Чтобы аргументировать назначение ПППД широкому кругу уже получавших ПППД пациентов, следует подтвердить эффективность препарата в популяциях исследования среди пациентов, которые в том числе получали терапию препаратами ПППД того же класса, что и исследуемый препарат. В таких случаях следует отдельно доказывать эффективность препарата у пациентов, для которых замена схемы лечения необходима по причине резистентности, развившейся после ранее проведенной терапии ПППД того же класса, что и исследуемый препарат¹³.

Пациенты с фиброзом или ЦП могут быть исключены из ранних клинических исследований. В случае включения данной группы пациентов в исследование необходима стратификация пациентов и проведение подгруппового анализа действия препарата. У пациентов, для которых степень тяжести заболевания печени известна, в рамках клинического наблюдения возможно оценить взаимосвязь между исходными гистологическими показателями печени и эффективностью исследуемого ПППД¹⁴.

Дизайн. Наиболее информативными подтверждающими клиническими исследованиями являются рандомизированные двойные слепые исследования с активным контролем (стандартом терапии) у целевой популяции. Для использования других дизайнов исследования необходимо научное обоснование. Дизайн, который до начала подтверждающих исследований подходит

с точки зрения, например, генотипов и исследуемых популяций или использования соответствующих схем сравнения, может со временем измениться. Спонтанная элиминация ВГС при отсутствии лечения – очень редкое событие [25]. Поэтому проспективные рандомизированные исследования без активного контроля, представляющего собой рекомендованную регуляторными органами схему лечения, могут быть достаточно информативными, если ожидается, что частота устойчивого вирусологического ответа (УВО12)¹⁵ будет очень высокой (например, около 95%)¹⁶.

Возможные альтернативные варианты дизайна включают плацебо-контролируемые исследования с отсроченным активным лечением, исследования, в которых сравниваются разные схемы с исследуемым новым ПППД или несколькими новыми ПППД, и несравнимые исследования¹⁷. Если в исследовании нет группы сравнения с активным контролем, разработчик должен обосновать, что демографические характеристики и особенности заболевания включенных в исследование пациентов соответствуют предполагаемому назначению исследуемой схемы терапии. Чтобы удостовериться, что частота достижения УВО12 не зависит от подбора пациентов «легко поддающихся лечению», в исследование следует включать пациентов, характеристики которых могут ассоциироваться с более низкой частотой достижения УВО12 (например, пациенты, столкнувшиеся с неэффективностью предшествующего лечения или имеющие тяжелую стадию фиброза печени). Результаты исследований, в которых пациентов не рандомизируют в контрольную группу, сложно интерпретировать, если ожидаемая частота достижения УВО окажется ниже, чем предполагалось на этапе планирования. Рекомендуется проводить по крайней мере одно исследование, в котором исследуемая схема лечения сравнивается с приемом плацебо или активного препарата сравнения¹⁸.

Первичная конечная точка

Валидированной суррогатной первичной конечной точкой исследований, направленных

¹¹ Draft guideline on clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

¹² Там же.

¹³ Там же.

¹⁴ Там же.

¹⁵ Доля пациентов, у которых концентрация РНК ВГС в плазме крови ниже предела количественного определения через 12 недель после окончания лечения.

¹⁶ Draft guideline on the clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

¹⁷ Там же.

¹⁸ Там же.

на определение частоты излечения, является частота УВО12. Приблизительно 99% пациентов, достигших УВО12, остаются в ремиссии через 5 лет, снижается риск развития ГЦК и летального исхода [26]. Помимо частоты УВО12 следует исследовать динамику вирусологического ответа во время терапии. Наличие вирусологического ответа на ранней стадии терапии по схеме, включающей ПППД, и сразу после ее завершения часто не является показательным для УВО12. Но поскольку через четыре недели лечения (УВО4) можно приблизительно на 90% спрогнозировать УВО12, принимать решения по дальнейшей программе клинической разработки следует на основании данных в этой точке¹⁹ [27].

Вторичные конечные точки

Вторичные конечные точки должны включать определение частоты случаев вирусологической неэффективности (повторного выявления РНК ВГС в плазме крови после завершения лечения и роста концентрации вирусной РНК во время лечения), частоты достижения концентрации РНК ВГС в плазме крови ниже предела количественного определения через 24 недели после окончания лечения (УВО24) и долю пациентов, столкнувшихся с вирусологической неэффективностью лечения в связи с резистентностью из-за изменений генотипа ВГС, возникающих в результате терапии. После определения концентрации РНК ВГС в плазме крови в точке УВО12 следует вести последующее наблюдение за показательной выборкой пациентов, достигших и не достигших УВО. За пациентами, достигшими УВО12, требуется наблюдение в течение одного полного года после завершения терапии для подтверждения длительности эффекта. Для пациентов, не достигших УВО, требуется три полных года последующего наблюдения и анализ на генотипическую резистентность с целью понимания динамики возвращения вируса к дикому типу или долгосрочности сохранения резистентных к терапии вариантов после прекращения лечения²⁰.

Исследования по подбору дозы

Следует изучить достаточный диапазон доз в исследованиях в режиме монотерапии, принимая во внимание значения эффективной концентрации (EC50) как вируса дикого типа, так и вируса с мутациями, возникшими под влиянием препарата, чтобы дозы, выбранные для последующих

исследований в режиме комбинированной терапии, были достаточно эффективны против уже существовавших ранее вариантов вируса с пониженной чувствительностью. Исследования в режиме монотерапии сначала должны проводиться с участием пациентов с ХВГС без выраженного фиброза печени. Максимальная рекомендуемая продолжительность монотерапии ПППД для первоначального исследования фазы Ib зависит от нескольких факторов: механизма действия ПППД, фармакокинетических параметров, ожидаемого барьера резистентности, исследуемой популяции и доступности других ПППД того же или другого класса. Для оценки противовирусного действия препарата, применяемого по исследуемой схеме дозирования, достаточно трех суток в режиме монотерапии, охватывающих первую фазу вирусного размножения. Увеличение длительности исследований в режиме монотерапии возможно при выявлении резистентных вариантов вируса [28].

Исследования в режиме монотерапии должны обеспечить основу для подбора доз на следующем этапе в рамках исследований эффективности и безопасности комбинированной терапии. Ранние исследования комбинированного применения препарата выполняются с целью определения оптимальной дозы, схемы приема и длительности лечения. Их проводят при участии пациентов с заболеванием в более ранней стадии, а после получения необходимых данных — у пациентов на поздних стадиях заболевания. Полученные данные в дальнейшем будут использованы в исследованиях III фазы²¹.

Подтверждающие исследования

В подтверждающих исследованиях III фазы субпопуляции, подходящие с точки зрения генотипа ВГС, диагностированного ЦП или имеющегося предыдущего опыта лечения, в каждом конкретном случае могут быть разными. Это зависит от схемы терапии, а также от наличия доступных на рынке ПППД и рекомендуемых схем терапии сравнения для конкретной популяции. Наиболее эффективные схемы терапии представлены комбинациями препаратов. Исследуемый ПППД можно добавить к одному или нескольким ранее зарегистрированным препаратам, или заменить им один из компонентов рекомендованной схемы терапии, или исследуемая схема может состоять исключительно из двух или более исследуемых препаратов [29].

¹⁹ Там же.

²⁰ Там же.

²¹ Там же.

Исследование препарата в качестве дополнительной терапии или в качестве замены стандартной терапии.

Как правило, требуется группа пациентов, получающих активный препарат сравнения. Если исследуемый препарат используется для добавления к стандартной схеме терапии или для замены одного или нескольких ее компонентов, следует в первую очередь рассматривать в качестве терапии сравнения именно эту схему. Если цель таких исследований с заменой или с добавлением препарата — сократить длительность лечения, возможен дизайн подтверждающего исследования, которое продемонстрирует, что препарат не уступает по эффективности препарату сравнения, т.е. дизайн не меньшей эффективности. А если цель исследования с добавлением препарата к схеме терапии — повысить эффективность, то требуется дизайн по подтверждению его превосходства над препаратом сравнения.

Исследования с целью возможности сокращения длительности терапии.

Целью исследований в процессе разработки препарата может быть подтверждение эффективности более коротких схем терапии, чем те, которые рекомендуются в настоящее время, т.е. менее 12 недель. Включать в исследования с сокращенной продолжительностью лечения пациентов, которые нуждаются в терапии срочно, следует только в том случае, если на случай неэффективности препарата имеется безинтерфероновый вариант терапии. При этом следует принимать во внимание ожидаемую перекрестную резистентность вируса к другим, уже зарегистрированным, ПППД. Данные рекомендации также распространяются на ситуации, в которых стандартная для целевой популяции схема лечения требует больше времени, чем максимальный срок терапии, изученный в рамках программы разработки исследуемого ПППД.

Комбинированные схемы терапии. На этапе клинических исследований возможна разработка как отдельных препаратов, так и фиксированных комбинаций, которые могут включать либо ранее зарегистрированные и новые ПППД, либо только новые препараты. Клинических исследований с полным факторным дизайном для подтверждения вклада каждого компонента комбинации в эффективность терапии обычно не требуется. Программу разработки следует планировать так, чтобы получить обоснование необходимости применения каждого препарата с учетом всей совокупности данных²².

Экстраполяция эффективности на разные генотипы ВГС

В разных регионах распространены разные генотипы ВГС. В России самыми распространенными являются генотип 1 (52,6% случаев, из них 3,7% приходится на субтип 1a и 48,9% — на субтип 1b) и генотип 3 (39,6%), гораздо реже встречается генотип 2 (7,8%). Генотипы 4–6 встречаются менее чем в 0,01% случаев, генотипы 7 и 8 — крайне редко [3].

С точки зрения эффективности ПППД генотипы ВГС отличаются друг от друга по нескольким аспектам. Активность ПППД может быть разной для разных генотипов или подтипов, что может быть обусловлено разными EC50 для наиболее часто встречающихся вариантов, разными барьерами резистентности при разных генотипах в силу различий в частоте встречаемости резистентных квазивидов. У разных генотипов и подтипов вируса может различаться частота встречаемости поддающихся обнаружению полиморфных вариантов. Один из наиболее клинически значимых полиморфных вариантов — полиморфизм гена *IL28B* [30].

С учетом вирусологических данных, предварительно полученных *in vitro*, возможно использовать данные о клинической эффективности препарата в отношении одного генотипа для подтверждения вывода об эффективности в отношении другого генотипа, для которого клинических данных относительно мало. Например, если имеются данные об эффективности ПППД против генотипа 1, можно сделать вывод об эффективности того же препарата против генотипов 4, 5 и 6. При такой экстраполяции имеющиеся данные используются для оценки суммарной противовирусной эффективности препарата против доминирующих квазивидов или наиболее распространенных вариантов. Для возможности экстраполяции данных по эффективности генотип, на который экстраполируется эффективность, должен поддаваться элиминации не хуже, чем генотип, о котором данные уже получены. Как правило, для экстраполяции используются данные о клинической эффективности препарата в отношении генотипа 1. Предполагаемое сходство специфической противовирусной активности препарата против разных генотипов ВГС во время лечения необходимо подтвердить данными о значениях EC50, полученными ранее на доклиническом этапе. Необходимо проанализировать генетическую гетерогенность генотипа ВГС, на который экстраполируется эффективность препарата, и оценить частоту

²² Draft guideline on the clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

встречаемости потенциально значимых полиморфизмов в гене, кодирующем молекулярную мишень. Устойчивые квазивиды у генотипов, на которые экстраполируются данные, должны встречаться не чаще, чем у тех, с которых производится экстраполяция²³.

Особые группы пациентов

К особым группам пациентов с ХВГС в исследованиях эффективности и безопасности ПППД относят пациентов с декомпенсированным циррозом печени (класс В или С по шкале Чайлда–Пью), пациентов после трансплантации печени, пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), с ХВГС и коинфекцией ВИЧ, с ХВГС и коинфекцией вирусом гепатита В (ВГВ), а также ранее получавших лечение ПППД. Данные популяции пациентов в эпоху терапии ХВГС интерфероном относились к трудно поддающимся лечению. При применении безинтерфероновых схем вероятность достижения УВО у пациентов данных групп значительно возросла [31]. Пациенты пожилого возраста не считаются особой популяцией в том же смысле, что и все упомянутые выше категории, тем не менее включение пожилых пациентов в исследования желательно. Особенности клинических исследований ПППД в педиатрической популяции описаны далее.

Отдельные группы пациентов могут иметь ряд сопутствующих заболеваний, в том числе хронического характера, что способствует полипрагмазии, т.е. приему нескольких препаратов одновременно. В таких условиях вероятность метаболических или транспортно-опосредованных лекарственных взаимодействий весьма вероятна, что обуславливает необходимость изучения межлекарственных взаимодействий исследуемого препарата с препаратами для лечения ВИЧ-инфекции и с препаратами, применяемыми при трансплантации печени [32–35].

Пациенты с декомпенсированным заболеванием печени. К группе пациентов с декомпенсированным заболеванием печени следует относить тех, у кого наблюдается или ранее наблюдалась клиническая картина декомпенсации, в том числе кровотечение из варикозно расширенных вен, асцит, серьезные бактериальные инфекции или энцефалопатия, а также пациентов с печеночной недостаточностью, оцениваемой по шкале Чайлда–Пью. Использование ПППД у данной группы пациентов приводит к улучшению функции печени и последующей ремиссии заболевания. Более высокий риск дальнейшего

развития ГЦК у таких пациентов был исключен согласно имеющимся данным [36].

При выборе схем терапии для исследования необходимо принимать во внимание доступные данные, касающиеся длительности лечения и необходимости применения рибавирина для оптимизации результатов лечения у пациентов с декомпенсированным заболеванием печени. УВО также считается приемлемой конечной точкой. Для определения клинической значимости результатов достижения УВО12 рекомендуется продолжать наблюдение за пациентами для сбора данных о смертности, потребности в трансплантации, функциональном состоянии печени, частоте развития ГЦК и восстановления затронутых фиброзом тканей.

В качестве терапии сравнения рекомендуется использовать стандартную схему для целевой популяции. Дизайн, предполагающий сравнение групп немедленного и отсроченного начала терапии (контроль по плацебо), может быть менее целесообразным, поскольку для данной категории пациентов медицинская помощь требуется срочно.

Пациенты после трансплантации печени. Если у пациента перед трансплантацией в крови определяется РНК ВГС, неизбежно произойдет инфицирование трансплантата и быстрое развитие цирроза. Пациенты после трансплантации печени хуже переносят рибавирин из-за возникновения гематологической токсичности и развития инфекций, поэтому целесообразно использование рибавирина в дозах ниже стандартных. Важной целью исследований в данной популяции является обеспечение контроля межлекарственных взаимодействий ПППД с иммунодепрессантами в клиническом исследовании эффективности [37].

Пациенты с коинфекцией ВГС и ВИЧ. У пациентов с коинфекцией ВГС и ВИЧ, особенно имеющих низкое количество CD4⁺ лимфоцитов, заболевание печени может прогрессировать быстрее. Использование комбинаций ПППД у пациентов с коинфекцией в целом приводит к высокой частоте достижения УВО12. На основании имеющихся данных и профиля межлекарственного взаимодействия конкретной схемы терапии возможно включение пациентов с ВГС и ВИЧ в общие подтверждающие исследования при условии, что, независимо от наличия или отсутствия второго вируса, будут изучаться аналогичные схемы лечения. В таком случае может быть актуально

²³ Там же.

стратифицировать пациентов с коинфекцией или ввести для них особые ограничения [38].

Пациенты, ранее получавшие лечение ПППД.

Для данной популяции пациентов характерна существенная неоднородность, поскольку отличаются ПППД, которые применялись в ходе лечения, а среди причин неудачи лечения могут быть вирусологическая неэффективность, плохая переносимость терапии или у пациентов могут выявляться резистентные варианты вируса. Наиболее подходящей схемой лечения является использование комбинации препаратов тех классов, которые пациент раньше не получал или к которым не ожидается перекрестная резистентность, с рибавирином или без него. Практически все пациенты, которые сталкиваются с вирусологической неэффективностью при лечении ПППД, объективно трудно поддаются лечению. Для достижения ответа на лечение у пациентов, столкнувшихся с вирусологической неэффективностью, понадобятся изменения суммарной эффективности применяемых комбинаций препаратов и длительности лечения по сравнению с предыдущими неудачными попытками терапии. Если в исследуемую схему входит ПППД, который пациенты уже получали, или препарат, к которому может наблюдаться возникновение перекрестной резистентности, необходимо тщательно изучить исходную лекарственную резистентность, чтобы можно было сделать однозначные выводы о ее влиянии на ответ на терапию²⁴.

Педиатрическая популяция

Выбор препаратов для лечения ХВГС для детей и подростков значительно уже по сравнению со взрослой популяцией. Из зарегистрированных в Российской Федерации препаратов (табл. 1) для лечения инфекции ВГС у подростков от 12 до 18 лет показаны только софосбувир и комбинации софосбувира с велпатасвиром и ледипасвиром. Комбинация глекапревир+пибрентавир показана для лечения детей с 3 лет.

Разработка лекарственной формы – наиболее сложный аспект разработки ПППД для детей, поскольку эффективные схемы лечения могут содержать два и более препарата в виде комбинации. Лекарственные формы, предназначенные для взрослых, подходят для подростков 12–18 лет, но для детей младшего возраста может потребоваться разработка других лекарственных форм.

В исследования можно включать пациентов детского возраста с разными генотипами ВГС или другими особенностями заболевания, для лечения которых, если бы пациенты были взрослыми, были бы рекомендованы разрабатываемые ПППД. Основная цель в данных исследованиях – изучение фармакокинетики и подбор схемы дозирования для достижения концентраций препарата в плазме крови, аналогичных таковым у взрослых пациентов²⁵ [39].

Заключение

Эффективность лечения хронического вирусного гепатита С с применением ПППД значительно превышает эффективность используемых ранее схем лечения, включающих препараты интерферона. Однако из-за низкой доступности ПППД для широких слоев населения, снижения темпов диагностики вирусного гепатита С и развития резистентности актуальность разработки новых ПППД сохраняется. Необходимо также совершенствование существующих схем лечения и изучение возможности сократить продолжительность курса лечения.

Проведен анализ рекомендаций регуляторных органов Европейского союза и США по разработке программ клинических исследований ПППД с учетом современных научных знаний о стратегии терапии хронического вирусного гепатита С. Сформулированы основные методические подходы, научные принципы и критерии оценки планирования и проведения клинических исследований ПППД.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Waheed Y, Siddiq M, Jamil Z, Najmi MH. Hepatitis elimination by 2030: Progress and challenges. *World J Gastroenterol*. 2018;24(44):4959–61. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i44.4959>
2. Никитин ИГ. Современные подходы к безинтерфероновой противовирусной терапии хронического вирусного гепатита С. *Лечебное дело*. 2021;(2):121–8. Nikitin IG. Modern approaches to interferon-free antiviral therapy of chronic viral hepatitis C. *Lechebnoe Delo*. 2021;(2):121–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/2071-5315-2021-12339>
3. Пименов НН, Комарова СВ, Карандашова ИВ, Цапкова НН, Волчкова ЕВ, Чуланов ВП. Гепатит С и его исходы в России: анализ заболеваемости, распространенности и смертности до начала программы элиминации инфекции. *Инфекционные болезни*. 2018;16(3):37–45. Pimenov NN, Komarova SV, Karandashova IV, Tsap-

²⁴ Draft guideline on the clinical evaluation of direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis. EMEA/CHMP/EWP/30039/2008 Rev. 1. London; 2016.

²⁵ Там же.

- kova NN, Volchkova EV, Chulanov VP. Hepatitis C and its outcomes in Russia: analysis of incidence, prevalence and mortality rates before the start of the programme of infection elimination. *Infectious Diseases*. 2018;16(3):37–45 (In Russ.).
<https://doi.org/10.20953/1729-9225-2018-3-37-45>
4. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2007;13(17):2436–41.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i17.2436>
 5. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: final update of the series. *J Hepatol*. 2020;73(5):1170–218.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.08.018>
 6. Jakobsen JC, Nielsen EE, Feinberg J, Katakam KK, Fobian K, Hauser G, et al. Direct-acting antivirals for chronic hepatitis C. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;(9):CD012143.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD012143.pub3>
 7. Кочнева ГВ, Карташов МЮ, Кривошеина ЕИ, Кузнецов АИ, Чуб ЕВ, Сиволобова ГФ, Нетесов СВ. О возможности искоренения гепатита С в России. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2021;39(1):31–41.
Kochneva GV, Kartashov MYu, Krivosheina EI, Kuznetsov AI, Chub EV, Sivolobova GF, Netesov SV. On the possibility of eradicating hepatitis C in Russia. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2021;39(1):31–41 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17116/molgen20213901131>
 8. Малов ВА, Убеева ЕА, Убеева ИП, Николаев СМ, Умбетова КТ. Особенности лечения хронического вирусного гепатита С препаратами прямого противовирусного действия. *Терапевтический архив*. 2019;91(11):86–9.
Malov VA, Ubeeva EA, Ubeeva IP, Nikolaev SM, Umbetova KT. Treatment of chronic viral hepatitis C with direct acting antiviral agent: review. *Therapeutic Archive*. 2019;91(11):86–9 (In Russ.).
<https://doi.org/10.26442/00403660.2019.11.000307>
 9. Baumert TF, Berg, Lim JK, Nelson DR. Status of direct-acting antiviral therapy for HCV infection and remaining challenges. *Gastroenterology*. 2019;56(2):431–45.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.10.024>
 10. Климова ЕА, Бурневич ЭЗ, Чуланов ВП, Гусев ДА, Знойко ОО, Бацких СН и др. Эффективность и безопасность безинтерфероновой комбинации нарлапревир/ритонавир и даклатасвир в популяции российских пациентов с хроническим гепатитом С. *Терапевтический архив*. 2019;91(8):67–74.
Klimova EA, Burnevich EZ, Chulanov VP, Gusev DA, Znoyko OO, Batskikh SN, et al. Efficacy and safety of narlaprevir/ritonavir and daclatasvir non interferon combination in population of Russian patients with chronic hepatitis C. *Therapeutic Archive*. 2019;91(8):67–74 (In Russ.).
<https://doi.org/10.26442/00403660.2019.08.000384>
 11. Vermehren J, Susser S, Dietz J, von Hahn T, Petersen J, Hinrichsen H, et al. Retreatment of patients who failed DAA-combination therapies: real-world experience from a large hepatitis C resistance database. *J Hepatol*. 2016;64(2):S188.
[https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(16\)00128-8](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(16)00128-8)
 12. Crouchet E, Wrensch F, Schuster C, Zeisel MB, Baumert TF. Host-targeting therapies for hepatitis C virus infection: current developments and future applications. *Therap Adv Gastroenterol*. 2018;11:1756284818759483.
<https://doi.org/10.1177/1756284818759483>
 13. Sarrazin C. The importance of resistance to direct antiviral drugs in HCV infection in clinical practice. *J Hepatol*. 2016;64(2):486–504.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.09.011>
 14. Liu CH, Kao JH. Acute hepatitis C virus infection: clinical update and remaining challenges. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(3):623–42.
<https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0349>
 15. Kouroumalis E, Voumvouraki A. Hepatitis C virus: A critical approach to who really needs treatment. *World J Hepatol*. 2022;14(1):1–44.
<https://doi.org/10.4254/wjv.v14.i1.1>
 16. Губенко АИ, Еременко НН. Планирование программы регистрационных клинических исследований препаратов для лечения хронического гепатита С. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(1):6–13.
Gubenko AI, Eremenko NN. Planning a programme of pre-authorisation clinical trials of medicines for the treatment of chronic hepatitis C. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(1):6–13 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-1-6-13>
 17. Fourati S, Pawlotsky J-M. Virologic tools for HCV drug resistance testing. *Viruses*. 2015;7(12):6346–59.
<https://doi.org/10.3390/v7122941>
 18. Полунина ТЕ. Лекарственные взаимодействия противовирусных препаратов прямого действия при лечении хронического вирусного гепатита С. *Терапия*. 2017;(3):29–41.
Polunina TE. Drug interactions of directly acting antivirals in the treatment of chronic virus hepatitis C. *Therapy*. 2017;(3):29–41 (In Russ.).
EDN: YQZFFT
 19. Badri PS, Dutta S, Wang H, Podsadecki TJ, Polepally AR, Khatri A, et al. Drug interactions with the direct-acting antiviral combination of ombitasvir and paritaprevir-ritonavir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(1):105–14.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01778-15>
 20. Houldcroft CJ, Beale MA, Breuer J. Clinical and biological insights from viral genome sequencing. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(3):183–92.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.182>
 21. Падучева СВ, Булатова ИА, Щекотова АП, Третьякова ЮИ, Щекотова ИВ. Возможности применения шкалы MELD для определения степени тяжести цирроза печени. *Пермский медицинский журнал*. 2017;34(6):40–4.
Paducheva SV, Bulatova IA, Schekotova AP, Tretyakova Yul, Schekotova IV. Possibilities of using the MELD scale for determining hepatic cirrhosis degree of severity. *Perm Medical Journal*. 2017;34(6):40–4 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17816/pmj34640-44>
 22. Patel K, Sebastiani G. Limitations of non-invasive tests for assessment of liver fibrosis. *JHEP Rep*. 2020;2(2):100067.
<https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100067>
 23. Кляритская ИЛ, Шелихова ЕО, Мошко ЮА, Семенихина ЕВ. Лечение хронического вирусного гепатита С согласно новым рекомендациям Европейского общества по изучению печени 2020 г. (EASL recommendations on treatment of hepatitis C, 2020). *Крымский терапевтический журнал*. 2020;(3):21–30.
Klyaritskaya IL, Shelikhova EO, Moshko YA, Semenikhina EV. Treatment of chronic viral hepatitis C according to the new guidelines of the European Society for the Study of the Liver 2020. *Crimian Therapeutic Journal*. 2020;3:21–30 (In Russ.).
EDN: ZWCESX
 24. Vispo E, Barreiro P, Soriano V. Pharmacokinetics of new oral hepatitis C antiviral drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2013;9(1):5–16.
<https://doi.org/10.1517/17425255.2013.729577>
 25. Micu SI, Musat M, Dumitru A, Paduraru DN, Rogoianu A, Dumitriu A, et al. Hepatitis C virus: host, environmental and viral factors promoting spontaneous clearance. *J Mind Med Sci*. 2020;7(2):156–61.
<https://doi.org/10.22543/7674.72.P156161>
 26. Dennis BB, Naji L, Jajarmi Y, Ahmed A, Kim D. New hope for hepatitis C virus: Summary of global epidemiologic changes and novel innovations over 20 years. *World J*

- Gastroenterol.* 2021;27(29):4818–30.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i29.4818>
27. Krassenburg LAP, Zanjir WR, Georgie F, Stotland E, Jansen HLA, Hansen BE, Feld JJ. Evaluation of sustained virologic response as a relevant surrogate endpoint for long-term outcomes of hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis.* 2021;72(5):780–6.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa144>
 28. Lawitz EJ, O'Riordan WD, Asatryan A, Freilich BL, Box TD, Overcash JS, et al. Potent antiviral activities of the direct-acting antivirals ABT-493 and ABT-530 with three-day monotherapy for hepatitis C virus genotype 1 infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(3):1546–55.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02264-15>
 29. Kohli A, Osinusi A, Sims Z, Nelson A, Meissner EG, Barrett LL, et al. Virological response after 6 week triple-drug regimens for hepatitis C: a proof-of-concept phase 2A cohort study. *Lancet.* 2015;385(9973):1107–13.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61228-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61228-9)
 30. Coppola N, Pisaturo M, Sagnelli C, Onorato L, Sagnelli E. Role of genetic polymorphisms in hepatitis C virus chronic infection. *World J Clin Cases.* 2015;3(9):807–22.
<https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i9.807>
 31. Pabjan P, Brzdek M, Chrapek M, Dziedzic K, Dobrowolska K, Paluch K, et al. Are there still difficult-to-treat patients with chronic hepatitis C in the era of direct-acting antivirals? *Viruses.* 2022;14(1):96.
<https://doi.org/10.3390/v14010096>
 32. Boff da Costa R, Boff Costa M, Longo L, Miotto DE, Hirata Dellavia G, Trucollo Michalczuk M, Reis Alvares-da-Silva M. Direct antiviral agents for hepatitis C and drug interaction risk: a retrospective cohort study with real and simulated data on medication interaction, prevalence of comorbidities and comedication. *PLoS One.* 2021;16(2):e0245767.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245767>
 33. Garrison KL, German P, Mogalian E, Mathias A. The drug-drug interaction potential of antiviral agents for the treatment of chronic hepatitis C infection. *Drug Metab Dispos.* 2018;46(8):1212–25.
<https://doi.org/10.1124/dmd.117.079038>
 34. Hill L. Hepatitis C virus direct-acting antiviral drug interactions and use in renal and hepatic impairment. *Top Antivir Med.* 2015;23(2):92–6.
PMID: 26200709
 35. Gao LH, Nie QH, Zhao XT. Drug–drug interactions of newly approved direct-acting antiviral agents in patients with hepatitis C. *Int J Gen Med.* 2021;14:289–301.
<https://doi.org/10.2147/IJGM.S283910>
 36. Gentile I, Scotto R, Coppola C, Staiano L, Amoruso DC, Simone TD, et al. Treatment with direct-acting antivirals improves the clinical outcome in patients with HCV-related decompensated cirrhosis: results from an Italian real life cohort (Liver Network Activity – LINA cohort). *Hepatology.* 2019;73(1):66–74.
<https://doi.org/10.1007/s12072-018-9914-6>
 37. Coilly A, Roche B, Duclos-Vallée JC, Samuel D. Optimal therapy in hepatitis C virus liver transplant patients with direct acting antivirals. *Liver Int.* 2015;35(Suppl 1):44–50.
<https://doi.org/10.1111/liv.12728>
 38. Milazzo L, Lai A, Calvi E, Ronzi P, Micheli V, Binda F, et al. Direct-acting antivirals in hepatitis C virus (HCV)-infected and HCV/HIV-coinfected patients: real-life safety and efficacy. *HIV Med.* 2017;18(4):284–91.
<https://doi.org/10.1111/hiv.12429>
 39. Indolfi G, Serranti D, Resti M. Direct-acting antivirals for children and adolescents with chronic hepatitis C. *Lancet Child Adolesc Health.* 2018;2(4):298–304.
[https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(18\)30037-3](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(18)30037-3)

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.И. Губенко — разработка концепции исследования, написание и редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; Д.В. Горячев — интерпретация результатов, критический пересмотр текста, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; А.И. Муравьева — сбор, анализ и обобщение данных, участие в разработке концепции исследования, составление плана работы; Г.В. Шукшина — написание и редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Anna I. Gubenko conceptualised the study, drafted and edited the manuscript, approved the final version for publication. Dmitry V. Goryachev interpreted the obtained results, critically revised the manuscript, and approved the final version for publication. Anna I. Muravieva collected, analysed, and systematised data, provided assistance in the elaboration of the study concept and design. Galina V. Shukshina drafted and edited the manuscript, and approved the final version for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Губенко Анна Игоревна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5596-0848>
gubenko@expmed.ru
Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Gorachev@expmed.ru
Муравьева Анна Ивановна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6743-9403>
Шукшина Галина Викторовна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3553-8340>
shukshinagv@expmed.ru

Поступила 28.09.2022

После доработки 10.08.2023

Принята к публикации 06.09.2023

Online first 20.09.2023

Anna I. Gubenko, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5596-0848>
gubenko@expmed.ru
Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Gorachev@expmed.ru
Anna I. Muravieva
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6743-9403>
Galina V. Shukshina
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3553-8340>
shukshinagv@expmed.ru

Received 28 September 2022

Revised 10 August 2023

Accepted 6 September 2023

Online first 20 September 2023



Р.Е. Казаков¹
Г.И. Городецкая^{1,2}
Р.В. Арчвадзе³
А.В. Завтонец³
А.В. Данилов³
Д.Л. Фетлам³
Д.А. Ишалева³
Н.Г. Бердникова^{2,3}
Е.Ю. Демченкова¹

Особенности развития токсической нефропатии при проведении антибиотикотерапии

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

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

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени И.В. Давыдовского Департамента здравоохранения города Москвы», Яузская ул., д. 11, Москва, 109240, Российская Федерация

✉ Казаков Руслан Евгеньевич; kazakov@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Антибактериальные препараты могут оказывать нефротоксическое действие, поскольку препараты этой группы преимущественно элиминированы почками.

Цель. Анализ данных литературы о механизмах, факторах риска и особенностях развития токсической нефропатии при проведении антибиотикотерапии.

Обсуждение. Рассмотрены механизмы развития острого интерстициального нефрита, острого некроза канальцев, отложения кристаллов внутри канальцев, проксимальной или дистальной тубулопатии с аномалиями расщепления электролитов на фоне применения антибиотиков. Показано, что нефротоксичность наиболее часто ассоциирована с применением аминогликозидных, бета-лактамов антибактериальных средств, ванкомицина. Проанализирована зависимость нефротоксичности от липофильности антибактериальных препаратов и межлекарственного взаимодействия. Определено, что основными факторами риска развития нефропатии являются пожилой возраст, мужской пол, негроидная раса, гиповолемия, артериальная гипотензия, прием ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина II, нестероидных противовоспалительных препаратов или их комбинации, индивидуальные генетические особенности. Отмечена связь нефротоксичности и генетических особенностей систем метаболизма и выведения антибактериальных средств: изоферментов цитохрома P450, P-гликопротеина, белков семейства множественной лекарственной резистентности MRP (multidrug resistance-associated protein) и MATE (multidrug and toxin extrusion protein), белка резистентности рака молочной железы BCRP (breast cancer resistance protein). Тяжелая генерализованная инфекция изменяет фармакокинетические параметры антибактериальных лекарственных средств, что следует учитывать при назначении гидрофильных антибиотиков, которые выводятся путем канальцевой секреции и реабсорбируются в почечных канальцах.

Выводы. Показано, что коррекция дозирования антибактериальных лекарственных препаратов на основе результатов терапевтического лекарственного мониторинга в совокупности с контролем функции почек является эффективным методом повышения безопасности антибиотикотерапии.

Ключевые слова: токсическая нефропатия; острый интерстициальный нефрит; острый некроз канальцев; нежелательные реакции; антибиотики; безопасность фармакотерапии

Для цитирования: Казаков Р.Е., Городецкая Г.И., Арчвадзе Р.В., Завтонева А.В., Данилов А.В., Фетлам Д.Л., Ишалева Д.А., Бердникова Н.Г., Демченкова Е.Ю. Особенности развития токсической нефропатии при проведении антибиотикотерапии. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):531–539. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-392>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400082-4).

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

Ruslan E. Kazakov¹ 
Galina I. Gorodetskaya^{1,2} 
Regina V. Archvadze³ 
Alexander V. Zavgonev³ 
Alexander V. Danilov³ 
Dmitry L. Fetlam³ 
Dmitry A. Ishalev³ 
Nadezhda G. Berdnikova^{2,3} 
Elena Yu. Demchenkova¹ 

Features of Toxic Nephropathy Development during Antibiotic Therapy

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

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

³ I.V. Davydovsky City Clinical Hospital,
11 Yauzskaya St., Moscow 109240, Russian Federation

✉ Ruslan E. Kazakov; kazakov@expmed.ru

ABSTRACT

Scientist relevance. Antibacterials can have nephrotoxic effects because medicinal products of this class are primarily excreted by the kidneys.

Aim. The study aimed to analyse literature data on the mechanisms, risk factors and specific features of toxic nephropathy development during antibiotic therapy.

Discussion. The article considers mechanisms of development of acute interstitial nephritis, acute tubular necrosis, crystal deposits in the tubules, proximal or distal tubulopathy with electrolyte abnormalities during the use of antibiotics. Nephrotoxicity was shown to be most often associated with the use of aminoglycosides, beta-lactams, and vancomycin. The authors analysed the dependence of nephrotoxicity on antibacterial agent lipophilicity and drug–drug interactions. The main risk factors for developing nephropathy are older age; male sex; black race; hypovolaemia; arterial hypotension; angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers, non-steroidal anti-inflammatory drugs or their combinations; and individual genetic characteristics. Nephrotoxicity is associated with genetic characteristics of the systems responsible for metabolism and excretion of antibacterial products: cytochrome P450 isoenzymes, P-glycoprotein, multidrug resistance protein (MRP), multidrug and toxin extrusion (MATE), breast cancer resistance protein (BCRP), and organic anion transporters. Severe generalised infections change pharmacokinetic parameters of antibacterial products. This should be taken into account when prescribing the hydrophilic antibiotics that are excreted by tubular secretion and reabsorbed in the renal tubules.

Conclusions. The study demonstrated the effectiveness of the method comprising a combination of dose adjustment based on therapeutic drug monitoring results and renal function monitoring for improving the safety of antibiotic therapy.

Keywords: toxic nephropathy; acute interstitial nephritis; acute tubular necrosis; adverse drug reactions; antibiotics; safety of pharmacotherapy

For citation: Kazakov R.E., Gorodetskaya G.I., Archvadze R.V., Zavgonev A.V., Danilov A.V., Fetlam D.L., Ishalev D.A., Berdnikova N.G., Demchenkova E.Yu. Features of toxic nephropathy development during antibiotic therapy. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):531–539. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-392>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121022400082-4).

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

Введение

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о стремительном расширении применения антибактериальных препаратов, в том числе у пациентов, находящихся в стационаре в тяжелом состоянии. Антибактериальные препараты могут вызывать спектр нежелательных реакций, в том числе оказывать нефротоксическое действие и приводить к развитию нефропатии. Частота лекарственно-индуцированной нефропатии у взрослых составляет 20–40% от всех случаев выявленного в стационаре острого поражения почек (ОПП)¹ [1–3]. По данным исследования С. Liu и соавт., из 1960 случаев диагностированного в госпитальных условиях внутрибольничного ОПП 735 (37%) было вызвано применением лекарственных средств (ЛС), при этом на антибактериальные препараты (АБП) пришлось 87% от общего количества противомикробных ЛС [4].

АБП и их метаболиты могут оказывать прямое токсическое действие на почки. Возможна кумуляция ЛС и продуктов их метаболизма в структурах нефрона, наиболее часто — в мезангии и базальной мембране, в канальцах и интерстиции, вокруг сосудов. Антибиотик-индуцированная нефропатия может протекать бессимптомно и быть обратимой (Фанкони-подобный синдром или дистальный тубулярный ацидоз) либо приводить к тяжелому поражению почек, связанному с некрозом почечных канальцев².

Цель работы — анализ данных литературы о механизмах, факторах риска и особенностях развития токсической нефропатии при проведении антибиотикотерапии.

Механизмы токсической нефропатии

Общая характеристика механизмов токсической нефропатии, вызванной антибиотиками. Главную роль в элиминации антибиотиков играют почки. Почечный клиренс зависит от клубочковой фильтрации и эффективности активной секреции или реабсорбции ЛС в проксимальных канальцах нефрона. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ), в свою очередь, является функцией размерных характеристик молекул и степени их связывания с белками плазмы крови. На распределение ЛС в органах и тканях организма влияют сердечный выброс, перфузия тканей, содержание воды во внутриклеточном

или внеклеточном пространстве, гидрофильность или липофильность, а также степень связывания с белками плазмы крови самого ЛС³. Жирорастворимые антибиотики (макролиды, линезолид, рифампицин, фторхинолоны, за исключением цiproфлоксацина и левофлоксацина) характеризуются высокой степенью связывания с белками плазмы крови и большим объемом распределения. При заболеваниях печени (например, при циррозе) нарушается синтез белков-переносчиков, что может привести к попаданию в кровоток АБП или их метаболитов в токсических концентрациях⁴. Для препаратов с гидрофильными свойствами (бета-лактамы, аминогликозиды, гликопептиды) характерны более низкие объемы распределения, меньшее, чем для липофильных ЛС, связывание с белками плазмы крови, а также худшее проникновение сквозь биологические мембраны. В большинстве своем они выводятся почками в неизменном виде, что потенциально создает риск нефротоксичности [5].

Нефротоксические вещества могут образовываться путем биотрансформации ЛС, в том числе непосредственно в почках. Как правило, конечные продукты внутрипочечного метаболизма представляют меньшую опасность, чем исходные ксенобиотики [6].

Обычно поступление ксенобиотиков через базолатеральную мембрану в клетку почечного канальца происходит посредством транспортеров органических анионов OAT 1/3 (organic anion transporter) и транспортеров органических катионов OCT 2/3 (organic cation transporter), а выведение через апикальную мембрану в полость канальца — с помощью транспортеров Р-гликопротеина, а также белков семейства множественной лекарственной резистентности MRP (multidrug resistance-associated protein) и MATE (multidrug and toxin extrusion protein), белка резистентности рака молочной железы BCRP (breast cancer resistance protein), транспортеров органических анионов OAT 4 и др. [6, 7]. Нефротоксические вещества также могут проникать в клетки проксимальных канальцев непосредственно из крови при помощи базолатеральных OAT и OCT, поэтому экспрессия этих транспортеров является важным фактором, определяющим исходную восприимчивость к токсическому влиянию антибиотиков [8, 9].

¹ Острое повреждение почек. Клинические рекомендации. https://www.rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf

² Козлов К.Л., Смольников А.В., Лукьянов Н.Г., Захаров М.В., Тишко В.В., Шелухин В.А. Контраст-индуцированная нефропатия. СПб.: ВМедА; 2017.

³ Бакиров А.Б. Лекарственные поражения почек. Уфа: Вагант; 2016.

⁴ Кукес В.Г., Стародубцев А.К., Ших Е.В. Клиническая фармакология и фармакотерапия. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020.

Острый тубуло-интерстициальный нефрит (ОТИН) представляет собой воспаление в тубуло-интерстициальном пространстве почки и обычно вызывается лекарственными препаратами, которые связываются с тубулярным антигеном или, накапливаясь в интерстиции, индуцируют Т-клеточную иммунную реакцию. При интерстициальном нефрите, как правило, через несколько дней после начала приема препарата появляются сыпь, лихорадка, развивается мочевого синдром. Первые симптомы могут быть отложенными, возникать спустя недели или даже месяцы [10]. ОТИН могут вызвать бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины), а также аминогликозиды, рифампицин, цiproфлоксацин, кларитромицин [11–15]. При развитии интерстициального нефрита необходимо отменить препарат, вызывающий данную патологию; в схемы лечения, учитывая иммунный механизм заболевания, часто включают глюкокортикостероиды.

Острый некроз канальцев, или острый тубулярный некроз — ОПП, возникающее после состояния тяжелой и стойкой гипоперфузии (ишемия, сепсис, гипотония). Следует отметить, что в клетках канальцев и в петле Генле происходит активный транспорт растворенных веществ при участии Na⁺/K⁺-АТФазы, что приводит к гипоксии, создающей условия для нарушения функции почек [13–14].

Тяжелая генерализованная инфекция, приводящая к сепсису, изменяет фармакокинетический профиль ЛС, в том числе антибиотиков. Сепсис и септический шок в начальной фазе приводят к увеличению сердечного выброса, что способствует повышению почечного кровотока и увеличению ренального клиренса ЛС. Углубление шока сопровождается нарушением функции почек и перемещением больших объемов жидкости из внутрисосудистого в межклеточное пространство, что может приводить к значительному увеличению объема распределения антибиотиков. Наблюдаемое при критических состояниях снижение уровня альбумина усугубляет эти процессы. В результате этих явлений объем распределения гидрофильных антибиотиков значительно увеличивается, при этом их концентрация в плазме крови снижается до субтерапевтического уровня. Сопутствующий сепсису некроз канальцев характеризуется не только уменьшением СКФ, но и нарушением абсорбционно-выделительной функции почек. Возможность развития острого некроза канальцев следует учитывать при назначении гидрофильных антибиотиков, которые выводятся

путем канальцевой секреции и реабсорбируются в почечных канальцах (аминогликозиды, бета-лактамы, гликопептиды). Повреждение эпителия канальцев за счет внутриклеточного накопления характерно для ванкомицина, гентамицина, канамицина, стрептомицина, тобрамицина [14, 16]. Прямое токсическое повреждение почечных канальцев аминогликозидами и ванкомицином часто объясняют повышением внутриклеточной концентрации антибиотика вследствие дисбаланса поступления ЛС из крови в клетки канальца и их выведения в просвет почечного канальца, что приводит к отслоению базальной мембраны и канальцевой дисфункции. С развитием ХБП увеличивается количество уремических токсинов, которые накапливаются в почках, поступают в кровеносные сосуды, в кости и гематоэнцефалический барьер, где впоследствии вызывают образование свободных радикалов и производство воспалительных цитокинов в этих органах. Одновременно уменьшается количество транспортных систем (ОАТ), обеспечивающих выведение различных ЛС и эндогенных органических кислот [6, 13–15, 17–19].

Отложение кристаллов внутри канальцев. Нефротоксичность большинства АБТ прямо пропорциональна концентрации ЛС. Данный процесс усугубляется при заболеваниях почек и нарушении кислотно-щелочного баланса⁵ [20–22]. Плохорастворимые в первичной моче антибиотики (ампициллин и цiproфлоксацин) выпадают в осадок, что приводит к образованию кристаллов и закупорке просвета канальца [22]. Наносферические агрегаты ванкомицина взаимодействуют с уромулином и закупоривают просвет канальца. К перенасыщению ванкомицином и его преципитации в просвете канальцев могут привести различные факторы, в том числе высокие концентрации препарата и низкий pH мочи [16].

Токсическое повреждение нефрона с развитием аутоиммунной реакции. Повреждения такого рода могут наблюдаться под действием бета-лактамов (пенициллин, метициллин), фторхинолонов (цiproфлоксацин) и других АБП, но их механизм пока недостаточно изучен. Бета-лактамы и их метаболиты представляют собой неполные антигены, приобретающие антигенные свойства после связывания с определенными белковыми структурами. Лекарственные поражения иммунного типа локализованы почти исключительно в клубочках. Следует отметить, что многие лекарственные нефропатии являются аутоиммунными. Предполагают, что ЛС вызывают

⁵ Мухин НА, Козловская ЛВ, Шилов ЕМ, Гордовская НБ. Рациональная фармакотерапия в нефрологии. М.: Литтерра; 2006.

денатурацию структур нефрона, главным образом базальной мембраны, причем полученные продукты действуют в качестве аутоантител и приводят к реакциям замедленного типа (IV тип). Повреждение клубочков нефронов с развитием протеинурии развивается при сочетании нескольких факторов: применение нефротоксического препарата, наличие злокачественных новообразований, одновременное применение нескольких нефротоксических препаратов⁶ [14, 23].

СКФ может снижаться при всех механизмах токсической нефропатии. Мезангиальные клетки, расположенные между капиллярами клубочка, подобно мышечным, могут сокращаться, а также способны фагоцитировать и секретировать простагландины и эндотелины. Сокращение мезангиальных клеток приводит к снижению СКФ по следующему механизму [24]:

- индукция секреции фактора активации тромбоцитов;
- активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы;
- выработка вазоконстрикторов (эндотелин 1, тромбоксан A_2) — снижает почечный кровоток, что также уменьшает СКФ;
- окислительный стресс.

Таким образом, применение нефротоксических АБП снижает СКФ, что вызывает повышение концентрации АБП как в системном кровотоке, так и в нефроне, что может пролонгировать и усиливать процесс его дальнейшего повреждения.

Помимо непосредственного токсического действия на клетки почечной ткани прием антибиотиков может приводить к ХБП через развитие рабдомиолиза [25]. Этот механизм нефротоксичности включает в себя выход из миоцитов миоглобина, который оказывает прямое токсическое воздействие на клетки почечных канальцев, способствуя развитию ОПП [26, 27].

Факторы риска развития нефропатии

Основные факторы риска АБТ-нефротоксичности классифицируются на неизменяемые и изменяемые. К неизменяемым факторам риска относят возраст >65 лет, мужской пол (при кардиохирургических вмешательствах и рентгеноконтрастных процедурах фактором риска является женский пол), негроидную расу, аллергические реакции на некоторые ЛС, индивидуальные генетические особенности. Изменяемыми факторами являются ятрогенная

гипоперфузия, неконтролируемая низконатриевая диета (гиповолемия), артериальная гипотензия, прием диуретических препаратов на фоне низконатриевой диеты, прием препаратов групп ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина II, нестероидных противовоспалительных препаратов или их комбинации [28]. Риск развития нефропатии у лиц пожилого возраста и женщин возникает вследствие изменения общего содержания воды в организме, которое уменьшается на фоне снижения тощей массы тела и приводит к передозировке препарата. В ряде случаев, несмотря на нормальную концентрацию креатинина в сыворотке крови, уровень СКФ низок, что создает условия для развития нефротоксичности. Снижение связывания ЛС с белками крови из-за гипоальбуминемии приводит к увеличению концентрации свободной фракции АБТ, что, особенно у лиц пожилого возраста, может привести к развитию нефропатии [29]. К группе повышенного риска также относятся пациенты со сниженным функциональным резервом почек, сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом [13].

К ассоциированным с нефропатией состояниям относятся ХБП, ОПП, сепсис, анемия, сахарный диабет (диабетическая нефропатия), артериальная гипертензия (гипертензивный нефросклероз), хроническая сердечная недостаточность, билатеральный стеноз почечных артерий, затруднение оттока мочи, снижение объема циркулирующей крови, шок, тяжелый цирроз [30]. Канальцевое повреждение АБП чаще развивается при вазоконстрикции почечных сосудов [31].

Метаболические пути, транспортные белки и переносчики ЛС различаются между популяциями пациентов в связи с наличием генетического полиморфизма. Некоторые ферменты, входящие в состав ферментной системы цитохрома P450 (CYP450), локализованной в том числе в печени и почках, имеют генетические полиморфизмы, способствующие снижению метаболизма ЛС с развитием последующего токсического действия в органах-мишенях [32].

Особенности развития токсической нефропатии и пути снижения нефротоксичности при применении антибиотиков разных групп

Нежелательные реакции со стороны почек наиболее часто развиваются при применении

⁶ Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int., Suppl.* 2012;(2):1–138.

аминогликозидов, бета-лактамов, а также трициклического гликопептида ванкомицина.

Аминогликозидные антибиотики действуют на прокариотические рибосомы, нарушая синтез белка; выделяются почками в неизмененном виде. Препараты всех поколений могут оказывать нефротоксическое действие, при этом вероятность развития нежелательной реакции коррелирует с концентрацией ЛС в крови [33]. При применении аминогликозидов поражение почек наблюдается в 10–25% случаев, что значительно чаще, чем при использовании антибиотиков других групп [24].

Нефротоксические свойства аминогликозидов реализуются через три основных механизма [14, 18]:

- прямое токсическое действие на проксимальные и дистальные канальцы нефронов (основной путь) с развитием острого некроза канальцев или Фанкони-подобного синдрома;
- снижение СКФ;
- снижение почечного кровотока.

В клетках проксимального канальца аминогликозиды поступают в лизосомы аппарата Гольджи и эндоплазматический ретикулум, а при повышении концентрации выходят в цитозоль. Молекулярный механизм нефротоксического действия аминогликозидов связан с их проникновением в клетки проксимальных канальцев путем эндоцитоза при посредстве мегалин-кубилинового белка-переносчика, после чего они транспортируются в лизосомы. В лизосомах аминогликозидные антибиотики ингибируют лизосомальные ферменты, приводя к накоплению неферментированных макромолекул и образованию миелолиновых телец — фрагментов мембран и поврежденных органелл. После разрушения лизосом происходит поражение митохондрий, приводящее к гибели клетки путем апоптоза или некроза. Кроме того, АБП подавляют ряд транспортеров в проксимальных канальцах, влияя тем самым на реабсорбцию. Так, индуцированный гентамицином синдром Фанкони проявляется глюкозурией, гипераминиоацидурией, молочной ацидурией и кетонурией. Это объясняется снижением активности глюкозного транспортера (GLUT) или натрий-глюкозного контранспортера (SGLT) проксимальных канальцев, при этом отмечается обратная корреляция между уменьшением уровня транскрипции тубулярных генов *SLC5A1* и *SLC5A2* и повышением уровня глюкозы в моче [18, 34].

Нефротоксичность аминогликозидов усиливается при их совместном применении с такими

ЛС, как петлевые диуретики, цефалоспорины, ванкомицин [24].

Бета-лактамы антибиотики. Механизм действия бета-лактамов (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы) заключается в нарушении синтеза клеточной стенки бактерий. Нефротоксические эффекты при применении бета-лактамов связаны с их прямым токсическим действием на проксимальные канальцы и клубочки нефронов [14]. Пенициллин и некоторые другие антибиотики в терапевтических дозах могут приводить к изменениям в клетках проксимального извитого мочевыводящего канальца, высвобождению кислых гидролаз из лизосом, некрозу клеток с дальнейшим замещением некротизированного участка фиброзной тканью. Полусинтетические пенициллины обуславливают дегенеративные изменения и набухание митохондрий. Этот процесс может не выходить за физиологические пределы, однако увеличение объема митохондриального матрикса может быть следствием открытия пор наружной митохондриальной мембраны, при этом выход в цитоплазму апоптогенных белков из межмембранного пространства может активировать митохондриальный сигнальный путь апоптоза [35].

Также следует отметить, что пенициллины могут вызывать аллергические реакции, в том числе с поражением почек. Частота и тяжесть аллергических проявлений при применении пенициллинов неуклонно растет, увеличивается доля нежелательных реакций, приводящих к летальному исходу [36].

Ванкомицин — представитель группы трициклических гликопептидов, фармакологическое действие которого обусловлено ингибированием биосинтеза клеточной стенки. Ванкомицин не метаболизируется в организме, выводится через почки. При нарушениях функции почек выведение ванкомицина снижается, что характерно для пожилых пациентов вследствие замедления клубочковой фильтрации. Увеличение уровня ванкомицина в крови у таких пациентов может усугублять его нефротоксическое действие, что приводит к развитию острого интерстициального нефрита и острого некроза канальцев [14]. Концентрация ванкомицина в сыворотке характеризуется широкой межиндивидуальной вариабельностью, даже с учетом корректировки по оценке функции почек [37]. Для расчета индивидуальной дозы ванкомицина рекомендуют проведение терапевтического лекарственного мониторинга для определения минимальных

равновесных концентраций и дозирование в зависимости от массы тела пациента [38].

При проведении антибиотикотерапии пациентов с ХБП необходимо руководствоваться тремя правилами⁷:

- применять ЛС с внепочечным выведением;
- проводить коррекцию доз препаратов;
- использовать терапевтический лекарственный мониторинг.

Поводом коррекции дозы ЛС могут быть⁸:

- снижение клубочковой фильтрации, нарушение секреции и реабсорбции (уменьшают выведение ЛС и их метаболитов и, соответственно, увеличивают их уровень в плазме крови);
- возросшая токсичность ЛС и (или) их метаболитов при нарушении функций основных систем;
- снижение скорости элиминации вследствие нарушения метаболизма;
- увеличение свободной фракции ЛС в крови за счет снижения связывания с белком плазмы крови.

Современные схемы антибиотикотерапии предполагают использование приемов, способствующих минимизированию нефротоксического эффекта²:

- применение препарата один раз в сутки (для аминогликозидов) [39];
- применение препарата в виде короткого курса;
- поддержание должного уровня гидратации;
- исключение совместного назначения нескольких нефротоксичных препаратов;
- наблюдение за состоянием функции почек в процессе лечения.

Так, например, применение гентамицина с интервалом в 3 сут при курсе более двух недель позволяет снизить риск развития нефропатии с 50 до 3,9% [40].

Повышению эффективности и безопасности антибиотиков может также способствовать проведение терапевтического лекарственного мониторинга содержания препарата в плазме крови, что позволяет скорректировать дозу препарата в соответствии с особенностями его фармакокинетики у конкретного пациента [41].

Заключение

Механизмы нефротоксического воздействия антибиотиков изучены недостаточно, сложность их исследования связана с химической природой препаратов и отличиями в патогенезе поражения разных отделов нефрона разными классами лекарственных средств. Наиболее тяжелые повреждения почек отмечаются при применении аминогликозидов, бета-лактамов, ванкомицина. Факторами риска развития патологии почек на фоне применения антибактериальных препаратов являются индивидуальные особенности пациента (пол, возраст, масса тела, генетическая предрасположенность к поражению почек, аллергические реакции в анамнезе), а также наличие некоторых заболеваний или состояний (фоновые болезни почек, сахарный диабет, гиповолемия), совместное применение с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, блокаторами рецепторов ангиотензина II, нестероидными противовоспалительными препаратами или их комбинациями.

Использование современных схем антибиотикотерапии, коррекция дозирования антибиотиков на основе результатов проведения терапевтического лекарственного мониторинга в совокупности с контролем функции почек позволит в значительной степени снизить частоту или даже предупредить возникновение лекарственно-индуцированных нарушений функции почек.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rolland AL, Garnier AS, Meunier K, Drablier G, Briet M. Drug-induced acute kidney injury: a study from the French medical administrative and the French national pharmacovigilance databases using capture-recapture method. *J Clin Med*. 2021;10(2):168. <https://doi.org/10.3390/jcm10020168>
2. Xu X, Nie S, Liu Z, Chen C, Xu G, Zha Y, et al. Epidemiology and clinical correlates of AKI in Chinese hospitalized adults. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(9):1510–8. <https://doi.org/10.2215/CJN.02140215>
3. Wang Y, Cui Z, Fan M. Hospital-acquired and community-acquired acute renal failure in hospitalized Chinese: a ten-year review. *Ren Fail*. 2007;29(2):163–8. <https://doi.org/10.1080/08860220601095918>
4. Liu C, Yan S, Wang Y, Wang J, Fu X, Song H, et al. Drug-induced hospital-acquired acute kidney injury in China: a multicenter cross-sectional survey. *Kidney Dis*. 2021;7(2):143–55. <https://doi.org/10.1159/000510455>
5. Рыбицкий З. Антибиотикотерапия в проблематике госпитальных инфекций. Люблин: Макмед; 2014. [Rybitsky Z. Antibiotic therapy and the challenges of nosocomial infections. Lublin: Makmed; 2014 (In Russ.)]
6. Евтеев ВА, Прокофьев АВ, Бунятян НД, Кулес ВГ. МАТЕ-транспортеры: участие в фармакокинетике лекарственных средств и межлекарственных взаимодействиях. *Фармация*. 2019;68(7):44–7. [Evtsev VA, Prokofyev AB, Bunyatyan ND, Kules VG. MATE transporters: involvement in drug pharmacokinetics and drug-drug interactions. *Far-*

⁷ Кулес ВГ, ред. Клиническая фармакокинетика. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2009.

⁸ Острое повреждение почек. Клинические рекомендации. https://www.rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/AKI_final.pdf

- matsiya = Pharmacy. 2019;68(7):44–7 (In Russ.)
<https://doi.org/10.29296/25419218-2019-07-08>
7. Moss DM, Neary M, Owen A. The role of drug transporters in the kidney: lessons from tenofovir. *Front Pharmacol*. 2014;5:248.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00248>
 8. Launay-Vacher V, Izzedine H, Karie S, Hulot JS, Baumelou A, Deray G. Renal tubular drug transporters. *Nephron Physiol*. 2006;103(3):97–106.
 9. Moledina DG, Perazella MA. Drug-induced acute interstitial nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(12):2046–9.
<https://doi.org/10.2215/CJN.07630717>
 10. Остроумова ОД, Клепикова МВ, Литвинова СН. Лекарственно-индуцированный острый интерстициальный нефрит. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;4:34–50. [Ostroumova OD, Klepikova MV, Litvinova CN. Drug-induced acute interstitial nephritis. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review*. 2021;4:34–50 (In Russ.)]
<https://doi.org/10.20333/25000136-2021-4-34-50>
 11. Захарова ЕВ, Остроумова ОД, Клепикова МВ. Лекарственно-индуцированное острое повреждение почек. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(3):117–27. [Zakharova EV, Ostroumova OD, Klepikova MV. Drug-induced acute kidney injury. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2021;9(3):117–27 (In Russ.)]
<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-3-117-127>
 12. Perazella MA. Drug-induced nephropathy: an update. *Expert Opin Drug Saf*. 2005;4(4):689–706.
<https://doi.org/10.1517/14740338.4.4.689>
 13. Perazella MA. Renal vulnerability to drug toxicity. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(7):1275–83.
<https://doi.org/10.2215/CJN.02050309>
 14. Morales-Alvarez MC. Nephrotoxicity of antimicrobials and antibiotics. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2020;27(1): 31–7.
<https://doi.org/10.1053/j.ackd.2019.08.001>
 15. Namrata K, Perazella MA. Drug-induced acute interstitial nephritis: pathology, pathogenesis, and treatment. *Iran J Kidney Dis*. 2015;9(1):3–13. PMID: 25599729
 16. Pais GM, Liu J, Zepcan S, Avedissian SN, Rhodes NJ, Downes KJ, et al. Vancomycin-induced kidney injury: animal models of toxicodynamics, mechanisms of injury, human translation, and potential strategies for prevention. *Pharmacotherapy*. 2020;40(5):438–54.
<https://doi.org/10.1002/phar.2388>
 17. McWilliam SJ, Antoine DJ, Smyth RL, Pirmohamed M. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity in children. *Pediatr Nephrol*. 2017;32(11):2015–25.
<https://doi.org/10.1007/s00467-016-3533-z>
 18. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int*. 2011;79(1):33–45.
<https://doi.org/10.1038/ki.2010.337>
 19. Silverblatt F. Pathogenesis of nephrotoxicity of cephalosporins and aminoglycosides: a review of current concepts. *Clin Infect Dis*. 1982;4:360–5.
https://doi.org/10.1093/clinids/4.supplement_2.s360
 20. Смирнов АВ, Шилов ЕМ, Добронравов ВА, Каюков ИГ, Бобкова ИН, Швецов МЮ и др. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. *Нефрология*. 2012;16(1):89–115. [Smirnov AV, Shilov EM, Dobronravov VA, Kayukov IN, Bobkova MYu, Shvetsov AN, et al. National guidelines. Chronic kidney disease: basic principles of screening, diagnosis, prevention and treatment approaches. *Nefrologiya = Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2012;16(1):89–115 (In Russ.)]
 21. Perazella MA. Pharmacology behind common drug nephrotoxicities. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(12): 1897–908.
<https://doi.org/10.2215/CJN.00150118>
 22. Stratta P, Lazzarich E, Canavese C, Bozzola C, Monga G. Ciprofloxacin crystal nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2007;50(2):330–5.
<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2007.05.014>
 23. Nickolas TL, Schmidt-Ott KM, Canetta P, Forster C, Singer E, Sise M et al. Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage: a multicenter prospective cohort study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(3):246–55.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.10.854>
 24. Wargo KA, Edwards JD. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *J Pharm Pract*. 2014;27(6):573–7.
<https://doi.org/10.1177/0897190014546836>
 25. Teng C, Baus C, Wilson JP, Frei CR. Rhabdomyolysis associations with antibiotics: a pharmacovigilance study of the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS). *Int J Med Sci*. 2019;16(11):1504–9.
<https://doi.org/10.7150/ijms.38605>
 26. Сокова ЕА, Архипов ВВ, Мазеркина ИА, Муслимова ОВ. Некоторые аспекты оценки лекарственного поражения почек. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2020;8(3):123–33. [Sokova EA, Arkhipov VV, Mazerkina IA, Muslimova OV. Some aspects of drug induced nephrotoxicity assessment. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2020;8(3):123–33 (In Russ.)]
<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2020-8-3-123-133>
 27. Matsubara A, Oda S, Akai S, Tsuneyama K, Yokoi T. Establishment of a drug-induced rhabdomyolysis mouse model by co-administration of ciprofloxacin and atorvastatin. *Toxicol Lett*. 2018;291:184–93.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.04.016>
 28. Sales GTM, Foresto RD. Drug-induced nephrotoxicity. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2020;66 Suppl:s82–s90.
<https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.S1.82>
 29. Jerkic M, Vojvodic S, Lopez-Novoa JM. The mechanism of increased renal susceptibility to toxic substances in the elderly. Part I. The role of increased vasoconstriction. *Int Urol Nephrol*. 2001;32(4):539–47.
<https://doi.org/10.1023/a:1014484101427>
 30. Осипенко МФ, Волошина НБ, Шайде НЛ. Патология почек при циррозе печени. *Эффективная фармакотерапия*. 2020;16(1):58–61. [Osipenko MF, Voloshina NB, Shayde NL. Renal failure with cirrhosis of the liver. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*. 2020;16(1):58–61 (In Russ.)]
<https://doi.org/10.33978/2307-3586-2020-16-1-58-61>
 31. Evenepoel P. Acute toxic renal failure. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2004;18(1):37–52.
<https://doi.org/10.1016/j.bpa.2003.09.007>
 32. Aleksa K, Matsell D, Krausz K, Gelboin H, Ito S, Koren G. Cytochrome P450 3A and 2B6 in the developing kidney: implications for ifosfamide nephrotoxicity. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(7):872–85.
<https://doi.org/10.1007/s00467-004-1807-3>
 33. Бушма КМ, Спас ВВ, Шпель ИА, Герасимчик ПА, Григорук АВ. К вопросу о нефротоксичности аминогликозидов. *Новости хирургии*. 2009;1(17):157–62. [Bushma KM, Spas VV, Shapel' IA, Gerasimchik PA, Grigoruk AV. On aminoglycoside nephrotoxicity. *Novosti khirurgii = Surgery News*. 2009;1(17):157–62 (In Russ.)]
 34. Xu EY, Perlina A, Vu H, Troth SP, Brennan RJ, Aslamkhan AG, Xu Q. Integrated pathway analysis of rat urine metabolic profiles and kidney transcriptomic profiles to elucidate the systems toxicology of model nephrotoxicants. *Chem Res Toxicol*. 2008;21(8):1548–61.
<https://doi.org/10.1021/tx800061w>
 35. Kwiatkowska E, Domański L, Dziedzicko V, Kajdy A, Stefańska K, Kwiatkowski S. The mechanism of drug nephrotoxicity and the methods for preventing kidney damage. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):6109.
<https://doi.org/10.3390/ijms22116109>
 36. Macy E. Penicillin and beta-lactam allergy: epidemiology and diagnosis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014;14(11):476.
<https://doi.org/10.1007/s11882-014-0476-y>
 37. Murphy JE, Gillespie DE, Bateman CV. Predictability of vancomycin trough concentrations using seven approaches for estimating pharmacokinetic parameters. *Am J Health Syst Pharm*. 2006;63(23):2365–70.
<https://doi.org/10.2146/ajhp060047>

38. Van Driest SL, McGregor TL, Velez Edwards DR, Saville BR, Kitchner TE, Hebbbring SJ, et al. Genome-wide association study of serum creatinine levels during vancomycin therapy. *PLoS One*. 2015;10(6):e0127791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127791>
39. Olsen KM, Rudis MI, Rebeck JA, Hara J, Gelmont D, Mehdian R, et al. Effect of once-daily dosing vs. multiple daily dosing of tobramycin on enzyme markers of nephrotoxicity. *Crit Care Med*. 2004;32(8):1678–82. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000134832.11144.cb>
40. Paterson DL, Robson JM, Wagener MM. Risk factors for toxicity in elderly patients given aminoglycosides once daily. *J Gen Intern Med*. 1998;13(11):735–9. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1497.1998.00224.x>
41. Streetman DS, Nafziger AN, Destache CJ, Bertino AS. Individualized pharmacokinetic monitoring results in less aminoglycoside-associated nephrotoxicity and fewer associated costs. *Pharmacotherapy*. 2001;21(4):443–51. <https://doi.org/10.1592/phco.21.5.443.34490>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Р.Е. Казаков — концепция работы, интерпретация и критический пересмотр содержания и результатов работы, ответственность за все аспекты работы, написание текста рукописи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Г.И. Городецкая — критический пересмотр содержания, решение вопросов, связанных с целостностью всех частей статьи, написание текста рукописи; Р.В. Арчвадзе — концепция и определение структуры работы; А.В. Завтонева — поиск и анализ источников литературы, концепция работы; А.В. Данилов — поиск и анализ источников литературы, анализ результатов; Д.Л. Фетлам и Д.А. Ишалева — сбор и анализ данных литературы; Н.Г. Бердникова — интерпретация результатов; Е.Ю. Демченкова — анализ результатов, решение вопросов, связанных с целостностью всех частей статьи.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Ruslan E. Kazakov* conceptualised the study, interpreted and critically revised the manuscript and study results, agreed to be accountable for all aspects of the work, drafted the manuscript, and approved the final version for publication. *Galina I. Gorodetskaya* critically revised the manuscript, agreed to be accountable for resolving integrity issues, and drafted the manuscript. *Regina V. Archvadze* conceptualised the study and outlined its structure. *Alexander V. Zavtonev* searched and analysed literature sources and conceptualised the study. *Alexander V. Danilov* searched and analysed literature sources and analysed the study results. *Dmitry L. Fetlam* and *Dmitry A. Ishalev* collected and analysed literature data. *Nadezhda G. Berdnikova* interpreted the study results. *Elena Yu. Demchenkova* analysed the study results and agreed to be accountable for resolving integrity issues.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Казаков Руслан Евгеньевич, канд. биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0802-4229>
kazakov@expmed.ru

Городецкая Галина Ивановна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-3323>
gorodetskaya@expmed.ru

Арчвадзе Регина Владимировна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8872-967X>
Rg3@yandex.ru

Завтонева Александр Валентинович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5975-4072>
monky_92@mail.ru

Данилов Александр Владимирович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1691-8591>
dr_dav@mail.ru

Фетлам Дмитрий Леонидович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5477-4920>
dmfetlam@yandex.ru

Ишалева Дмитрий Алексеевич
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9854-9904>
DmitriyIshalyov11@mail.ru

Бердникова Надежда Георгиевна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2036-7403>
berdnad@mail.ru

Демченкова Елена Юрьевна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1972-4386>
demchenkova@expmed.ru

Ruslan E. Kazakov, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0802-4229>
kazakov@expmed.ru

Galina I. Gorodetskaya
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-3323>
gorodetskaya@expmed.ru

Regina V. Archvadze
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8872-967X>
Rg3@yandex.ru

Alexander V. Zavtonev
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5975-4072>
monky_92@mail.ru

Alexander V. Danilov
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1691-8591>
dr_dav@mail.ru

Dmitry L. Fetlam
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5477-4920>
dmfetlam@yandex.ru

Dmitry A. Ishalev
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9854-9904>
DmitriyIshalyov11@mail.ru

Nadezhda G. Berdnikova, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2036-7403>
berdnad@mail.ru

Elena Yu. Demchenkova, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1972-4386>
demchenkova@expmed.ru

Статья поступила 05.10.2021
После доработки 28.07.2022
Принята к публикации 31.08.2022
Online first 30.09.2022

Received 5 October 2021
Revised 28 July 2022
Accepted 31 August 2022
Online first 30 September 2022



Т.Ф. Субботина¹
Ю.А. Кудяев²
Н.Л. Лоховина²
М.З. Алуغيшвили²
И.Т. Абесадзе²
И.В. Титенков²
М.А. Чернявский²
А.В. Панов²
А.А. Жлоба¹

Метаболическая модель для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере использования никорандила

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Льва Толстого ул., д. 6–8, Санкт-Петербург, 197022, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Аккуратова ул., д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Российская Федерация

✉ Субботина Татьяна Федоровна; subbotina2002@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Важным механизмом антиишемического действия некоторых препаратов является их влияние на метаболизм эндотелиальных факторов вазодилатации, в частности на образование оксида азота из аминокислоты аргинина и его предшественника цитруллина.

Цель. Изучение возможности использования показателей динамики гуанидиновых производных — предшественников аргинина — в плазме крови для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере однократного перорального приема никорандила у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы. Метаболиты определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в образцах крови, взятых у 30 пациентов со стенокардией напряжения II–III функционального класса. Референтной группой являлись 30 здоровых доноров. Никорандил использовали перорально в разовой дозе 20 мг после 10-часового голодания.

Результаты. У пациентов исходный уровень цитруллина был достоверно выше, чем у здоровых доноров. После приема никорандила содержание цитруллина снижалось до уровня, не отличающегося от уровня в плазме крови здоровых доноров группы сравнения. Содержание аргинина в плазме крови пациентов после приема препарата достоверно возрастало. При этом у них сохранялся пониженный уровень гомоаргинина как до, так и после приема никорандила. Обнаружено также отсутствие влияния приема никорандила на уровень эндогенного ингибитора синтазы оксида азота — асимметричного диметиларгинина.

Выводы. В дополнение к известным механизмам воздействия никорандила на клеточный метаболизм показано усиление участия цитруллина в ресинтезе аргинина. При оценке эффективности антиишемической терапии в модельную схему для лабораторного контроля целесообразно включать цитруллин и аргинин, которые являются участниками вазодилатационного ответа.

Ключевые слова: никорандил; ишемическая болезнь сердца; аргинин; цитруллин; гомоаргинин; асимметричный диметиларгинин; синтаза оксида азота

Для цитирования: Субботина Т.Ф., Кудяев Ю.А., Лоховина Н.Л., Алуغيшвили М.З., Абесадзе И.Т., Титенков И.В., Чернявский М.А., Панов А.В., Жлоба А.А. Метаболическая модель для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере использования никорандила. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(4):540–548. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-535>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания на проведение прикладных научных исследований: ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова»: «Предиктивные биохимические показатели и их критические уровни для оценки угрозы осложнений при артериальной гипертензии» (рег. № НИОКТР 121060800167-6) — разделы работы по сопоставлению данных доноров и пациентов на фоне антиишемической терапии; ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»: «Разработка методов снижения риска коронарных событий у пациентов ишемической болезнью сердца при плановом хирургическом вмешательстве на периферических артериях и аорте» (рег. № НИОКТР ААА-А-А20-120092490045-8) — разделы работы по сопоставлению данных пациентов до и после приема никорандила.

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

Tatiana F. Subbotina¹ 
Yuri A. Kudaev² 
Natalia L. Lokhovinina² 
Marianna Z. Alugishvili² 
Inga T. Abesadze² 
Igor V. Titenkov² 
Mikhail A. Chernyavskiy² 
Alexey V. Panov² 
Alexander A. Zhloba¹ 

Metabolic Model for Laboratory Control of Anti-ischaemic Therapy Effectiveness: A Case Study of Nicorandil

¹ Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University, 6–8 Lev Tolstoy St., St Petersburg 197022, Russian Federation

² V.A. Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratov St., St Petersburg 197341, Russian Federation

✉ Tatiana F. Subbotina; subbotina2002@mail.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. A key anti-ischaemic mechanism of some medicinal products involves their effects on the metabolism of endothelial vasodilators, particularly the synthesis of nitric oxide from arginine and its precursor citrulline.

Aim. The study was aimed to determine whether the plasma time course of guanidine derivatives (arginine precursors) is applicable to laboratory control of anti-ischaemic therapy effectiveness using a single oral dose of nicorandil in patients with coronary heart disease as a case study.

Materials and methods. The authors used high-performance liquid chromatography to determine metabolites. Blood samples for analysis were obtained from 30 patients with angina pectoris (Grade II–III, Canadian Cardiovascular Society) and 30 healthy donors. All the study participants received a single oral dose of 20 mg nicorandil after 10 h of fasting.

Results. At baseline, patients showed significantly higher plasma citrulline levels than donors. However, the elevated levels decreased to the healthy range after nicorandil administration. Plasma arginine levels in patients showed a statistically significant increase following nicorandil administration. Plasma homoarginine levels in patients remained reduced both before and after dosing. Nicorandil did not influence elevated levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor (asymmetrical dimethylarginine).

Conclusions. In addition to the established mechanisms responsible for altering cell metabolism, nicorandil enhances the contribution of citrulline to arginine re-synthesis. It is reasonable to include citrulline and arginine, which are involved in the vasodilator response, in model schemes for laboratory control of the effectiveness of anti-ischaemic therapy.

Keywords: nicorandil; coronary heart disease; arginine; citrulline; homoarginine; asymmetrical dimethylarginine; nitric oxide synthase

For citation: Subbotina T.F., Kudaev Yu.A., Lokhovinina N.L., Alugishvili M.Z., Abesadze I.T., Titenkov I.V., Chernyavskiy M.A., Panov A.V., Zhloba A.A. Metabolic model for laboratory control of anti-ischaemic therapy effectiveness: a case study of nicorandil. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):540–548. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-535>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded applied research projects. The sections on comparing the data of donors and patients receiving anti-ischaemic therapy are prepared under the Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University project “Predictive biochemical indicators and their critical levels for the assessment of the risk of complications in arterial hypertension”, R&D reporting No. 121060800167-6. The sections on comparing the data of patients before and after nicorandil administration are prepared under the V.A. Almazov National Medical Research Center project “Development of risk mitigation methods for adverse cardiac events in patients with coronary heart disease during scheduled surgery on peripheral arteries and aorta”, R&D reporting No. АААА-А20-120092490045-8.

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

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают лидировать в структуре заболеваемости и смертности. В России смертность от всех ССЗ составляет 47%, а смертность от ишемической болезни сердца (ИБС) – 27% от общей смертности [1].

Снижение частоты сердечно-сосудистых событий может быть достигнуто путем антиишемической терапии лекарственными средствами одновременно антиангинального и вазодилатационного действия. Такие средства действуют на гладкомышечные клетки сосудов, одновременно повышая содержание циклического гуанозинмонофосфата путем активации гуанилатциклазы и открывая аденозинтрифосфат-зависимые калиевые каналы, что обеспечивает расслабление клеток и снижает их потребность в кислороде [2]. К группе подобных препаратов с двойным механизмом действия относится никорандил. Его антиишемический эффект опосредуется эндотелиальным фактором вазодилатации – оксидом азота (NO), при этом предполагается, что никорандил может выступать в качестве как непосредственного донора NO, так и активатора его образования под действием NO-синтаз [2]. Известно, что непосредственным субстратом, используемым для образования эндогенного NO, является аргинин (Арг) [3]. Пополнение этого субстрата за счет пищевых источников приводит к кратковременному повышению содержания Арг в крови и небольшому антиишемическому эффекту. Арг после всасывания из воротной вены эффективно извлекается тканью печени, поступая в цикл синтеза мочевины, и не достигает в достаточных количествах эндотелия в других органах. Предшественник Арг – неcodируемая аминокислота цитруллин (Цит) – не усваивается из системы воротной вены печенью, а, достигая почек, превращается в Арг [4–6]. Цит в наибольших количествах синтезируется в ворсинках тонкого кишечника из таких аминокислот, как глутамин, пролин и Арг [7, 8]. Таким образом, основным субстратом для биосинтеза Арг в ткани почек является Цит, образуемый в эпителии ворсинок тонкого кишечника.

Никорандил находит применение как в терапии стабильной ИБС [9], так и в периоперационный период при коронарных вмешательствах [10, 11]. По данным метаанализа 14 рандомизированных клинических исследований с участием 1864 пациентов показано, что назначение никорандила после планового чрескожного коронарного вмешательства приводило к улучшению

сократительной функции миокарда левого желудочка и снижению сердечно-сосудистых событий [10]. Проведенный в 2020 г. метаанализ клинических исследований, включавших 2965 пациентов, показал, что назначение никорандила при чрескожном коронарном вмешательстве у пациентов с инфарктом миокарда улучшало реперфузию миокарда и систолическую функцию левого желудочка, снижало частоту сердечно-сосудистых осложнений и летальность [11]. Примером эффективного антиишемического кардиопротективного воздействия, описанным в проведенном нами исследовании [12], является успешное применение никорандила в ходе предоперационной подготовки, которое способствовало статистически значимому снижению общей частоты осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы в раннем послеоперационном периоде. Данное исследование выявило значимость изучения и лабораторного контроля эффектов антиишемической терапии на основные звенья метаболизма, непосредственно влияющие на сосудистый тонус, и необходимость разработки соответствующей метаболической модели.

Цель работы – изучение возможности использования показателей динамики гуанидиновых производных (предшественников аргинина) в плазме крови для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере однократного перорального приема никорандила у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Задачи исследования:

- 1) изучение динамики уровней эндогенных производных гуанидина у пациентов после однократного применения никорандила;
- 2) сравнение полученных данных с результатами анализа уровней эндогенных производных гуанидина у здоровых доноров;
- 3) изучение влияния никорандила на уровни эндогенных производных гуанидина, участвующих в механизмах вазодилатации;
- 4) уточнение механизма антиишемического действия никорандила;
- 5) разработка метаболической модели для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии.

Материалы и методы

В исследование были включены 30 пациентов, проходивших лечение в период с августа по сентябрь 2022 г. в клинике сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России с диагнозом ИБС и стенокардией напряжения II–III функционального класса (ФК)

по классификации Канадского сердечно-сосудистого общества. Все пациенты были назначены на плановое оперативное вмешательство на артериях нижних конечностей. Критериями исключения являлись острый инфаркт миокарда, декомпенсация хронической сердечной недостаточности, брадикардия с частотой сердечных сокращений менее 50 ударов в минуту, систолическое артериальное давление ниже 100 мм рт. ст., атриовентрикулярная блокада II и III степени, анемия и непереносимость никорандила.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» (протокол заседания № 09-22 от 02.09.2022). От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие на включение результатов их обследования и лечения в данное исследование, которое проводилось в соответствии с утвержденным протоколом, этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, трехсторонним Соглашением по надлежащей клинической практике и действующим законодательством Российской Федерации.

Референтную группу составили 30 здоровых лиц – регулярных доноров крови старшей возрастной группы 55 (42–58) лет, зарегистрированных в донорском пункте ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова» Минздрава России (ПСПбГМУ). Проведение исследования было одобрено локальным этическим

комитетом ПСПбГМУ (выписка из протокола № 248 от 26.04.2021). Все обследуемые дали письменное информированное согласие на анонимное использование полученных данных.

Никорандил использовали перорально в разовой дозе 20 мг после 10-часового голодания за 2 ч до хирургического вмешательства на артериях нижних конечностей.

Всем пациентам перед началом исследования были проведены стандартное общеклиническое обследование (включавшее физикальный осмотр, измерение артериального давления, лабораторные исследования, в том числе клинический и биохимический анализы крови и общий анализ мочи) и клинико-инструментальное обследование, в том числе электрокардиография и эхокардиография.

При поступлении у 86,7% пациентов присутствовали клинические проявления стенокардии II ФК, у 13,3% – III ФК. Фибрилляция предсердий была выявлена у 13,3%, сахарный диабет – у 23,3%, инфаркт миокарда перенесли 26,7%, острое нарушение мозгового кровообращения – 20% пациентов. Основные результаты проведенного обследования пациентов приведены в таблице 1.

Помимо стандартных биохимических параметров, в плазме крови определяли гомоаргинин (ГArg), асимметричный диметиларгинин (АДМА), симметричный диметиларгинин (СДМА), Arg, Цит

Таблица 1. Клинико-anamнестическая характеристика группы пациентов (n=30), включенных в исследование

Table 1. Clinical signs and medical history of patients (n=30) enrolled in the study

Наименование показателя	Значение показателя
Возраст, лет	64 (60–68)
Мужской пол, n (%)	25 (83,3)
Индекс массы тела, кг/м ²	26,4 (25,6–28,4)
Курение, n (%)	25 (83,3)
Гипертоническая болезнь, n (%)	28 (93,3)
Длительность ишемической болезни сердца, годы	8 (7–10)
Фракция выброса левого желудочка, %	59 (56–62)
Гемоглобин, г/л	131 (124–138)
Креатинин, мкмоль/л	89 (79–99)
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ²	83 (68–90)
Общий холестерин, ммоль/л	4,2 (3,8–5,1)
Холестерин липопротеинов низкой плотности, ммоль/л	2,4 (1,8–3,2)
Глюкоза, ммоль/л	5,2 (5,0–6,1)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Значения показателей приведены в виде медианы и межквартильного размаха (в скобках), если не указано иначе.

и лизин (Лиз). Образцы крови для анализа получали из кубитальной вены до приема никорандила (исходный уровень) и через 2 ч после него, непосредственно перед началом операции. Образцы крови, взятые в вакутейнеры с этилендиамин-тетрауксусной кислотой, немедленно помещали в холодильник (+4 °C), а затем отделяли плазму путем центрифугирования (1500 об/мин, 10 мин) не позднее 30 мин после взятия. Образцы полученной плазмы хранили при –80 °C до проведения анализа. Пробоподготовку образцов крови референтной группы осуществляли аналогичным образом.

Анализ образцов плазмы крови проводили в отделе биохимии научно-образовательного института биомедицины ПСПбГМУ. Количественное определение гАрг, АДМА, СДМА, Арг, Цит и Лиз осуществляли одновременно методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Ultimate 3000 (Thermo Scientific) с флуориметрическим детектором и аутосамплером для приготовления реакционной смеси и ее ввода на колонку Zorbax Eclipse AAA (150×4,6 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies). Для предколоночной дериватизации использовали ортофталевый альдегид [13]. Оценку содержания продуктов окисления NO суммарно ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$) проводили методом Грисса в модификации [14]. В качестве восстановителя нитратов использовали рекомбинантную никотинамид-дениндинуклеотид-зависимую нитратредуктазу растительного происхождения из *Arabidopsis thaliana* (Sigma-Aldrich, кат. № N0163).

В периоперационный период у пациентов контролировали уровень высокочувствительного сердечного тропонина (вч-сТн). Определение вч-сТн выполняли с помощью тест-систем

ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I (Abbott Laboratories) на анализаторе Architect i2000 (Abbott Laboratories). Верхняя граница нормы вч-сТн составляет 0,034 нг/мл в соответствии с руководством производителя тест-систем.

Статистический анализ с определением медиан, межквартильного размаха, оценки достоверности различий и корреляций осуществляли с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft). Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. В случае несоблюдения нормального распределения вариантов использовали непараметрические методы обработки данных. Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых и парный критерий Вилкоксона для зависимых выборок. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05, а значение $0,05 < p < 0,1$ рассматривали как тенденцию.

Результаты и обсуждение

Данные таблицы 1 указывают на высокую распространенность факторов риска сердечно-сосудистых осложнений среди пациентов [1]. Это мужской пол, возраст старше 60 лет, избыточный вес или ожирение, курение (83%), артериальная гипертензия (93% пациентов). Мультифокальный атеросклероз с вовлечением трех сосудистых бассейнов (коронарные, каротидные и артерии нижних конечностей) верифицирован у 9 пациентов. На догоспитальном этапе целевой уровень холестерина липопротеинов низкой плотности менее 1,4 ммоль/л был достигнут только

Таблица 2. Сравнение уровней метаболических маркеров до и после применения никорандила перед хирургическим вмешательством

Table 2. Comparison of metabolic marker levels before and after preoperative nicorandil

Название маркера	Уровни маркера в плазме крови		Уровень значимости p
	Исходный уровень	Через 2 ч после приема никорандила	
$\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, мкмоль/л	12,7 (9,4–19,1)	13,1 (10,2–24,9)	0,59
Аргинин, мкмоль/л	66,9 (52,3–72,0)	76,5 (63,0–83,5)	0,018
Цитруллин, мкмоль/л	57,8 (44,7–68,2)	49,8 (31,2–62,6)	0,038
Аргинин/Цитруллин	1,33 (0,95–1,58)	1,55 (1,18–2,35)	0,00037
Гомоаргинин, мкмоль/л	1,37 (1,29–1,51)	1,34 (1,14–1,56)	0,75
Асимметричный диметиларгинин, мкмоль/л	0,57 (0,49–0,64)	0,56 (0,51–0,58)	0,31
Симметричный диметиларгинин, мкмоль/л	0,81 (0,76–1,00)	0,85 (0,69–0,97)	0,62

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Значения показателей приведены в виде медианы и межквартильного размаха (в скобках). Достоверность различий оценивали с помощью теста Вилкоксона для парных наблюдений по величине уровня достоверности нулевой статистической гипотезы (p).

в 4 (13,3%) случаях. Таким образом, у всех пациентов были выявлены факторы риска в разных сочетаниях.

Прием никорандила в дозе 20 мг хорошо переносился пациентами, случаев выраженной гипотензии не зафиксировано.

После применения никорандила достоверного изменения концентрации суммы оксидов азота в плазме крови пациентов не было зарегистрировано (табл. 2), что свидетельствует о том, что препарат действует без образования NO. При этом уровни сердечного тропонина и оксидов азота положительно коррелировали друг с другом.

Через 2 ч после приема никорандила у пациентов возникало повышение уровня в крови Арг ($p = 0,018$) и снижение содержания Цит ($p = 0,038$), соотношение Арг/Цит достоверно ($p = 0,0004$) возрастало от 1,33 до 1,55 (табл. 2). У пациентов с ИБС уровень Цит был повышен по сравнению со здоровыми донорами, хотя уровень Арг в крови достоверно не отличался. Под влиянием никорандила не обнаружено изменений

содержания другой положительно заряженной аминокислоты — Лиз, не участвующей непосредственно в реакциях образования субстратов или ингибиторов NO-синтаз. Отсутствовало заметное влияние никорандила на содержание гАрг — производного Арг. Не выявлено также его непосредственного воздействия и на уровень АДМА (эндогенного ингибитора NO-синтаз) и уремиического токсина СДМА.

Анализ результатов сравнения исследуемых показателей пациентов, принимавших никорандил, с таковыми в группе здоровых лиц (рис. 1) показал, что уровень Цит, основного субстрата, поддерживающего необходимое содержание Арг в крови, у пациентов до приема никорандила был достоверно выше, чем у здоровых лиц. Спустя 2 ч после приема никорандила содержание Цит снижалось, и достоверного отличия от референтной группы уже не наблюдалось. Разброс значений уровней Цит после приема препарата указывает на вариабельность отклика пациентов на прием никорандила. Содержание Арг в крови пациентов было достоверно выше, чем

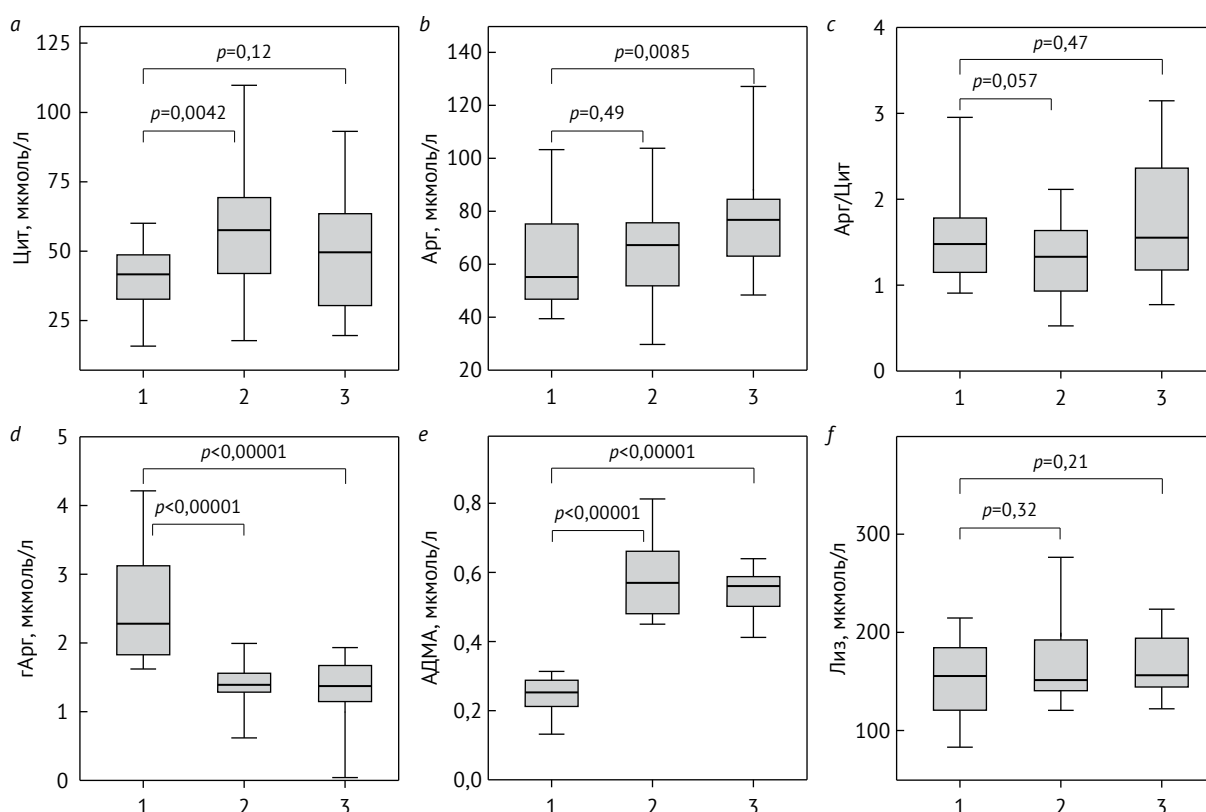


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Содержание аминокислот, участвующих в метаболизме оксида азота, в плазме крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в сравнении с референтной группой доноров: цитруллин (Цит) (а), аргинин (Арг) (б), соотношение Арг/Цит (с), гомоаргинин (гАрг) (д), асимметричный диметиларгинин (АДМА) (е), лизин (Лиз) (ф). 1 — референтная группа; 2 — пациенты с ИБС, исходный уровень; 3 — пациенты с ИБС через 2 ч после приема никорандила

Fig. 1. Plasma levels of amino acids involved in nitric oxide metabolism in patients with coronary heart disease compared with those in healthy donors: citrulline (Citr) (a), arginine (Arg) (b), arginine/citrulline ratio (c), homoarginine (gArg) (d), asymmetrical dimethylarginine (ADMA) (e), and lysine (Lys) (f). 1, donors; 2, patients (baseline); 3, patients (2 h after nicorandil administration)

у здоровых лиц. Соответственно, соотношение Арг/Цит возрастало от низких значений до приема препарата ($p=0,057$) до уровня, характерного для здоровых лиц. При этом в группе пациентов с ИБС сохранялся пониженный уровень гАрг как до, так и после приема никорандила, что указывало на сохранение угнетения ключевой реакции биосинтеза креатина, побочным продуктом которой является гАрг. Обнаружено также отсутствие краткосрочного влияния никорандила на содержание АДМА, ингибитора NO-синтазы, которое сохранялось на исходном более высоком уровне, чем у здоровых лиц. Уровень другой основной аминокислоты — Лиз, не участвующей

непосредственно в NO-синтазной реакции, у пациентов как до, так и после приема препарата не отличался от такового в группе здоровых лиц.

Известно, что почти весь циркулирующий в плазме крови Цит образуется за счет метаболических функций клеток эпителия кишечника, а не из пищевых источников [8, 15]. В частности, за счет метаболической активности энтероцитов примерно 80% Цит плазмы крови происходит непосредственно из глутамина плазмы крови [15]. Таким образом, превращение глутамин в Арг осуществляется за счет межорганного распределения реакций этого метаболического пути (рис. 2), включающего кишечник и почки. В кишечнике глутамин и другие аминокислоты, не исключая Арг, превращаются в Цит; далее Цит, не задерживаясь в печени, вновь превращается в Арг, в основном в почках. Метаболизм глутамин в кишечнике имеет решающее значение для эндогенного синтеза Арг у человека [15].

Объяснить активизацию метаболизма Цит под действием никорандила можно увеличением перфузии почек с возрастанием скорости клубочковой фильтрации [16]. Это следует из того, что, как показано в настоящем исследовании, в результате действия никорандила наблюдалось увеличение содержания Арг в крови и значительное понижение уровня Цит. Таким образом, действие антиишемического препарата никорандил проявляется в резком снижении уровня Цит и повышении значения соотношения Арг/Цит.

Ингибитор NO-синтаз АДМА и уремический токсин СДМА образуются в тканях при гидролизе метилированных белков [3]. Уровень ингибитора NO-синтазы АДМА в плазме крови у пациентов в проведенном нами исследовании спустя 2 ч после приема никорандила не изменялся.

У взрослых Цит практически не поступает в кровь из органов и тканей, в которых присутствуют соединения, участвующие в цикле синтеза мочевины (например, из тканей печени и мозга), так как при нормальной активности энзимов этого цикла его реакции изолированы внутримитохондриально в пределах клеток, и промежуточные метаболиты цикла мочевины практически не попадают в кровоток [7, 8]. Было показано, что поглощение Цит клетками почечного эпителия может происходить как апикально из первичной мочи, так и базолатерально из капиллярной системы. В клетках проксимальных почечных канальцев Цит преобразуется в Арг под действием аргинин-носукцинатсинтазы и аргинин-носукцинатлиазы. Известно, что в норме скорость образования

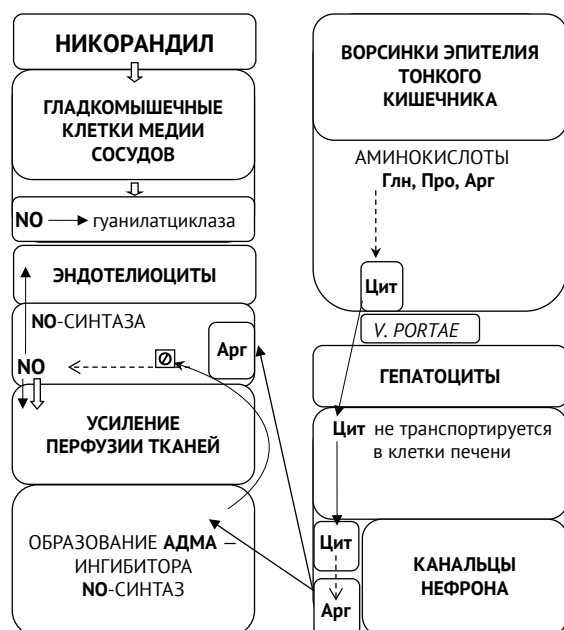


Рисунок подготовлен авторами / Figure is prepared by the authors

Рис. 2. Основные метаболические участники NO-синтазных реакций в условиях усиления перфузии тканей в ходе антиишемической терапии: образование цитруллина (Цит) в тонком кишечнике (Глн — глутамин, Про — пролин, Арг — аргинин) и его превращение в субстрат NO-синтаз (Арг) в почках. Стрелки: 1) $\Rightarrow$ — прямое действие оксида азота и никорандила на гуанилатциклазу гладкомышечных клеток вызывает усиление перфузии тканей; 2) $\rightarrow$ — образование Цит в ворсинках тонкой кишки и предшественников NO в последовательности реакций в почках и эндотелии; 3) $\dashrightarrow$ — образование Арг в тканях почек и NO в эндотелиоцитах. $\odot$ — ингибирование NO-синтазы производным Арг — асимметричным диметиларгинином (АДМА)

Fig. 2. Main metabolic participants of NO-synthase reactions under increased tissue perfusion conditions during anti-ischaemic therapy: citrulline (Citr) formation in the small intestine (Gln, glutamine; Pro, proline; Arg, arginine) and its transformation into arginine, a substrate for nitric oxide synthases, in the kidneys. Arrows: 1) $\Rightarrow$ direct action of nitric oxide and nicorandil on guanylate cyclase of smooth muscle cells causing an increase in tissue perfusion; 2) $\rightarrow$ reaction pathways for the formation of citrulline in the villi of the small intestine and NO precursors in the kidneys and endothelium; 3) $\dashrightarrow$ formation of arginine in kidney tissues and NO in endotheliocytes. $\odot$ NO-synthase inhibition by asymmetrical dimethylarginine (ADMA), a derivative of arginine

и высвобождения в кровоток Арг определяется в основном поступлением Цит в эпителий проксимальных канальцев [17].

Изученные нами эффекты ограничены краткосрочным периодом после приема никорандила. Для оценки отдаленных последствий влияния терапии никорандилом на баланс гуанидиновых производных, задействованных в регуляции активности NO-синтаз, необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

1. Полученные результаты показали, что никорандил эффективно повышает уровень аргинина и понижает уровень цитруллина, что, в свою очередь, вызывает повышение продукции NO.
2. В дополнение к известным механизмам воздействия никорандил способствует увеличению перфузии почек, тем самым усиливая

клубочковую фильтрацию и накопление цитруллина в эпителии канальцев. При этом возрастает участие цитруллина в ресинтезе аргинина и, соответственно, увеличение соотношения Арг/Цит.

3. Эффективность антиишемической терапии с использованием никорандила опосредуется его влиянием на метаболический путь образования аргинина из цитруллина, что происходит преимущественно в почках.

4. Применение никорандила не повлияло на образование производных аргинина, в т.ч. асимметричного диметиларгинина – эндогенного ингибитора NO-синтазы.

5. При проведении дальнейших исследований в модельную схему для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии целесообразно включать цитруллин и аргинин, которые являются участниками вазодилаторного ответа.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Акчурин РС, Алякин БГ, Аронов ДМ, Беленков ЮН, Бойцов СА, Болдуева СА и др. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):201–50. Akchurin RS, Alekyan BG, Aronov DM, Belenkov YuN, Boytsov SA, Boldueva SA, et al. 2020 Clinical practice guidelines for stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):201–50 (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/291560-4071-2020-4076>
2. Tarkin JM, Kaski JC. Vasodilator therapy: nitrates and nicorandil. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2016;30(4):367–78. <https://doi.org/10.1007/s10557-016-6668-z>
3. Жлоба АА. Асимметричный диметиларгинин в качестве медиатора и маркера развития эндотелиальной дисфункции. *Артериальная гипертензия*. 2007;13(2):119–27. Zhloba AA. ADMA as a marker and mediator of endothelial dysfunction progression. *Arterial Hypertension*. 2007;13(2):119–27 (in Russ.). EDN: [LSPEPL](https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008025)
4. Chen GF, Baylis C. *In vivo* renal arginine release is impaired throughout development of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;298(1):F95–102. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00487.2009>
5. Pillai S, Seebeck P, Fingerhut R, Huang JI, Ming X-F, Yang Z, et al. Kidney mass reduction leads to L-arginine metabolism-dependent blood pressure increase in mice. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(5):e008025. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008025>
6. Tsikas D. Homoarginine in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2023;26(1):42–9. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000889>
7. Osowska S, Moinard C, Neveux N, Loi C, Cynober L. Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*. 2004;53(12):1781–6. <https://doi.org/10.1136/gut.2004.042317>
8. Couchet M, Pestour S, Breuillard C, Corne C, Rendu J, Fontaine E, et al. Regulation of citrulline synthesis in human enterocytes: Role of hypoxia and inflammation. *Biofactors*. 2022;48(1):181–9. <https://doi.org/10.1002/biof.1810>
9. Марцевич СЮ, Лукина ЮВ, Кутишенко НП, Воронина ВП, Дмитриева НА, Загребельный АВ и др. Первые результаты оценки влияния длительного применения никорандила на вероятность возникновения сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ишемической болезнью сердца (данные наблюдательного исследования НИКЕЯ). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019;15(3):335–42. Martsevich SYu, Lukina YuV, Kutishenko NP, Voronina VP, Dmitrieva NA, Zagrebelsky AV, et al. The first results of the evaluation of long-term nicorandil treatment effect on the probability of cardiovascular complications in patients with stable coronary artery disease (data of observational NIKEA study). *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* 2019;15(3):335–42 (In Russ.). <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2019-15-3-335-342>
10. Zhao XT, Zhang CF, Liu QJ. Meta-analysis of nicorandil effectiveness on myocardial protection after percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019;19(1):144. <https://doi.org/10.1186/s12872-019-1071-x>
11. Zhou J, Xu J, Cheng A, Li P, Chen B, Sun S. Effect of nicorandil treatment adjunctive to percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res*. 2020;48(11):300060520967856. <https://doi.org/10.1177/0300060520967856>
12. Кудавев ЮА, Субботина ТФ, Лоховинина НЛ, Алугишвили МЗ, Абесадзе ИТ, Титенков ИВ и др. Профилактика кардиальных осложнений у больных с ишемической болезнью сердца при сосудистых операциях: возможности никорандила. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2022;15(4):402–11. Kudaev YuA, Subbotina TF, Lohovininina NL, Alugishvili MZ, Abesadze IT, Titenkov IV, et al. Prevention of cardiac complications in patients with coronary artery disease undergoing vascular surgery: possibilities of nicorandil. *Cardiology and Cardiovascular Surgery*. 2022;15(4):402–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/kardio202215041402>
13. Жлоба АА, Субботина ТФ, Шипаева КА. Способ определения содержания гомоаргинина в плазме крови и других биологических жидкостях человека. Патент РФ № 2609873; 2017. Zhloba AA, Subbotina TF, Shipaeva KA. The way for determining the content of homoarginine in blood plasma and other biological fluids of human. Patent of the Russian Federation No. 2609873; 2017 (In Russ.).
14. Жлоба АА, Субботина ТФ, Алексеевская ЕС. Содержание окислов азота в плазме крови здоровых лиц в зависимости от возраста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(11):760–5. Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES. The content of nitric oxide in blood plasma of health persons depending on age. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016;61(11):760–5 (In Russ.). EDN: [XHCYOH](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.126029)
15. van de Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, Deutz NE, van Leeuwen PA, Dejong CH. Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans. *J Physiol*. 2007;581(Pt 2):819–27. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.126029>

16. Du X, Ma Z, Li L, Zhong X. Nicorandil decreases renal injury in patients with coronary heart disease complicated with type I cardiorenal syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2021;78(5):e675–80.
<https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000001117>
17. Maric S, Restin T, Muff JL, Camargo SM, Guglielmetti LC, Holland-Cunz SG, et al. Citrulline, biomarker of enterocyte functional mass and dietary supplement. Metabolism, transport, and current evidence for clinical use. *Nutrients*. 2021;13(8):2794.
<https://doi.org/10.3390/nu13082794>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Т.Ф. Субботина* — сбор и статистическая обработка данных по референтной группе, написание разделов «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», редактирование рисунка; *Ю.А. Кудав* — дизайн исследования, написание раздела «Результаты и их обсуждение»; *Н.Л. Лоховинина* — сбор биоматериала, статистическая обработка данных, оформление табличного материала; *М.З. Алуишвили* — сбор данных клинических исследований и анамнеза пациентов, написание раздела «Материалы и методы»; *И.Т. Абесадзе* — написание разделов «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение»; *И.В. Титенков* — сбор биоматериала, написание раздела «Материалы и методы»; *М.А. Чернявский* — концепция статьи, редактирование текста рукописи; *А.В. Панов* — дизайн исследования; обработка данных клинических исследований; *А.А. Жлоба* — концепция статьи, дизайн исследования, написание разделов «Введение», «Результаты и их обсуждение», редактирование рисунков.

Соответствие принципам этики. Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, протокол заседания № 248 от 26.04.2021. Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, протокол заседания № 09-22 от 02.09.2022.

Согласие пациентов. Получено информированное добровольное согласие пациентов на обработку персональных данных и их использование с научной и образовательной целью, в том числе на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Tatiana F. Subbotina* collected donor data and carried out statistical analysis of the data, drafted the "Materials and methods" and "Results and discussion" sections of the manuscript, edited the figures. *Yuri A. Kudaev* designed the study, drafted the "Results and discussion" section of the manuscript. *Natalia L. Likhovinnina* collected the biological material, carried out statistical analysis, and prepared the tables. *Marianna Z. Alugishvili* collected patient data from clinical investigations and medical histories, drafted the "Materials and methods" section of the manuscript. *Inga T. Abesadze* drafted the "Materials and methods" and "Results and discussion" sections of the manuscript. *Igor V. Titenkov* collected the biological material and drafted the "Materials and methods" section of the manuscript. *Mikhail A. Chernyavskiy* conceptualised the article and edited the manuscript. *Alexey V. Panov* designed the study and processed the clinical data. *Alexander A. Zhloba* conceptualised the article, designed the study, drafted the "Introduction" and "Results and discussion" sections of the manuscript, and edited the figures.

Ethics approval. The study was approved by the Bioethics Committee at Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University under meeting minutes No. 248 of 26 April 2021, as well as by the Bioethics Committee at V.A. Almazov National Medical Research Center under meeting minutes No. 09-22 of 2 September 2022.

Informed consent. The patients gave informed consent for the processing of their protected personal and health information, as well as for its use and anonymised publication for scientific and educational purposes.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Субботина Татьяна Федоровна, д-р мед. наук, профессор
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2278-8391>
subbotina2002@mail.ru

Кудав Юрий Анатольевич
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2111-0765>
kudaev_yua@almazovcentre.ru

Лоховинина Наталья Львовна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9579-061X>
lokhovinnina_nl@almazovcentre.ru

Алуишвили Марианна Захариевна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9397-655X>
alugishvili_mz@almazovcentre.ru

Абесадзе Инга Тенгизовна, канд. мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-327X>
it@almazovcentre.ru

Титенков Игорь Викторович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1771-1023>
titenkov_iv@almazovcentre.ru

Чернявский Михаил Александрович, д-р мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1214-0150>
chernyavskiy_ma@almazovcentre.ru

Панов Алексей Владимирович, д-р мед. наук, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3356-3873>
panov_av@almazovcentre.ru

Жлоба Александр Анатольевич, д-р мед. наук, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0605-7617>
zhlobaana@1spbgmu.ru

Tatiana F. Subbotina, Dr. Sci. (Med.), Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2278-8391>
subbotina2002@mail.ru

Yuri A. Kudaev
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2111-0765>
kudaev_yua@almazovcentre.ru

Natalia L. Likhovinnina, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9579-061X>
lokhovinnina_nl@almazovcentre.ru

Marianna Z. Alugishvili, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9397-655X>
alugishvili_mz@almazovcentre.ru

Inga T. Abesadze, Cand. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-327X>
it@almazovcentre.ru

Igor V. Titenkov
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1771-1023>
titenkov_iv@almazovcentre.ru

Mikhail A. Chernyavskiy, Dr. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1214-0150>
chernyavskiy_ma@almazovcentre.ru

Alexey V. Panov, Dr. Sci. (Med.), Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3356-3873>
panov_av@almazovcentre.ru

Alexander A. Zhloba, Dr. Sci. (Med.), Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0605-7617>
zhlobaana@1spbgmu.ru

Поступила 07.02.2023

После доработки 16.03.2023

Принята к публикации 22.05.2023

Online first 17.08.2023

Received 7 February 2023

Revised 16 March 2023

Accepted 22 May 2023

Online first 17 August 2023



Т.А. Батуашвили 
Е.О. Чечетова  
П.В. Шадрин 
Н.П. Неугодова 

Определение биологической активности гонадотропинов на инбредных и аутбредных животных. Часть 1: Определение биологической активности фолликулостимулирующего гормона

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

✉ Чечетова Екатерина Олеговна; stepanuk@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Биологическая активность (БА) лекарственных средств может различаться в зависимости от способа их получения (биологические и рекомбинантные). Расширение номенклатуры гонадотропных препаратов, различия в способах их получения, невозможность замены биологических методов определения БА физико-химическими методами требуют совершенствования условий проведения испытаний с использованием лабораторных животных.

Цель. Анализ результатов определения биологической активности фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) на крысах различных линий для выбора оптимальных условий проведения испытания.

Материалы и методы. Определение БА проводили методом *in vivo*. Для сравнительного анализа были использованы результаты, полученные в течение нескольких лет при исследовании аутбредных и инбредных крыс на введение ФСГ. Во всех случаях использовали трехдозовый рандомизированный метод, основанный на определении БА испытуемого образца в сравнении с активностью стандартного образца (СО). В качестве СО использовали действующий стандарт Всемирной организации здравоохранения, содержащий 183 МЕ ФСГ и 177 МЕ ЛГ/амп. (кат. № 10/286). Испытание проводили на неполовозрелых крысах-самках аутбредных и инбредных линий Sprague Dawley и Wistar-Kyoto. В зависимости от выбора линии крыс менялись условия проведения выполнения испытания. Основными варьируемыми параметрами были тест-доза и количество животных в группах.

Результаты. Проведен сравнительный анализ реакции аутбредных и инбредных животных на введение растворов различных доз стандартного образца ФСГ и испытуемых образцов. Для крыс линии Wistar-Kyoto была выявлена относительно низкая дозозависимость в условиях сужения аналитического диапазона методики. Показано, что величина доз и длительность проведения испытания зависят от степени чувствительности животных. Разброс результатов при проведении испытания на инбредных крысах был меньше, чем в испытаниях на аутбредных животных. Статистический анализ результатов определения БА ФСГ показал, что выбор инбредных крыс позволяет вдвое уменьшить количество животных, взятых в испытание.

Выводы. Предложенный подход к проведению исследований биологической активности ФСГ позволяет сократить количество используемых животных при сохранении достоверности результатов и является экономически выгодным.

Ключевые слова: менотропины мочевые и рекомбинантные; фолликулостимулирующий гормон; лютеинизирующий гормон; гонадотропин хорионический человеческий; стандартные образцы; регрессионный и дисперсионный анализ

Для цитирования: Батуашвили Т.А., Чечетова Е.О., Шадрин П.В., Неугодова Н.П. Определение биологической активности гонадотропинов на инбредных и аутбредных животных. Часть 1: Определение биологической активности фолликулостимулирующего гормона. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):549–559. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-549-559>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

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

Tamara A. Batuashvili 
Ekaterina O. Chechetova 
Pavel V. Shadrin 
Natalia P. Neugodova 

Determination of Biological Activity of Gonadotrophins in Inbred and Outbred Animals. Part 1: Determination of Biological Activity of Follicle-Stimulating Hormone

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

✉ Ekaterina O. Chechetova; stepanuk@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. The biological activity of medicinal products may vary depending on the method of production (i.e. biological or recombinant products). The widening variety of gonadotrophin preparations, the diversity of their production methods, and the irreplaceability of biological activity bioassays with physicochemical tests require improvement of animal testing conditions.

Aim. This study aimed to determine the biological activity of follicle-stimulating hormone (FSH) in several rat lines, analyse the findings, and select the most optimal testing conditions.

Materials and methods. The biological activity was determined using *in vivo* methods. The comparative analysis used test results obtained over several years in inbred and outbred rats treated with FSH. In all cases, the authors used a three-dose randomised method based on the determination of the biological activity of test samples by comparison with that of the WHO international standard (IS) containing 183 IU of FSH bioactivity and 177 IU of LH bioactivity per ampoule (NIBSC code: 10/286). The study included immature female rats, inbred (Wistar-Kyoto or Sprague Dawley) and outbred. Testing conditions depended on the selected rat line, with the main variables being the test dose and the number of animals per group.

Results. The authors compared responses of inbred and outbred rats to various doses of the FSH IS and test samples. Given the narrow range of the analytical procedure, Wistar-Kyoto rats showed a relatively weak dose–response relationship. The study demonstrated that the doses and testing duration depended on the sensitivity of the animals. Test results were less variable in inbred rats than in outbred ones. The statistical analysis of the results of FSH bioactivity testing in inbred and outbred rats showed that, with inbred rats, the number of animals could be halved without compromising the validity of the test.

Conclusions. The approach proposed in this study provides for testing the biological activity of FSH with fewer experimental animals, improved cost-effectiveness, and the same reliability of results.

Keywords: urinary menopausal gonadotrophins; recombinant menopausal gonadotrophins; follicle-stimulating hormone; luteinising hormone; human chorionic gonadotrophin; reference standards; regression analysis; analysis of variance

For citation: Batuashvili T.A., Chechetova E.O., Shadrin P.V., Neugodova N.P. Determination of biological activity of gonadotrophins in inbred and outbred animals. Part 1: Determination of biological activity of follicle-stimulating hormone. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):549–559. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-549-559>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121021800098-4).

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

Введение

Для лечения заболеваний, связанных с гормональными нарушениями, и для проведения экстракорпорального оплодотворения, используют препараты, содержащие гормоны передней доли гипофиза: лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ), а также вырабатываемый плацентой гонадотропин хорионический (ХГ). Перечисленные гормоны являются димерными гликопротеинами, состоящими из двух субъединиц α и β [1], при соединении которых гормон способен проявлять биологическую активность (БА). Строение α -субъединицы одинаковое у трех гормонов, β -субъединицы различаются по строению, определяют взаимодействие с рецепторами и специфическое биологическое действие каждого из гормонов [1, 2].

Первые препараты гонадотропинов были получены в середине XX в. биологическим путем из мочи беременных (человеческий гонадотропин хорионический (чГХ)) и женщин, находящихся в менопаузе (человеческий менопаузальный гонадотропин (чМГ)) [1, 3]. Недостатком этих препаратов, как считают исследователи, является содержание большого количества примесей в виде мочевых белков (урокиназа, эпидермальный фактор роста, трансферрин и др.) и ЛГ. Эти примеси снижают активность гормона, от которой зависит эффективность проводимого лечения [1, 4, 5]. Как отмечает Н.П. Гончаров, важно знать функциональное состояние гормона и (или) его БА (гормональную), так как «молекула гормона может иметь антигенные детерминанты, но не обладать биологической активностью» [6]. Отсутствие биологической активности приводит к нарушению процесса созревания фолликулов и овариальной стимуляции.

В последнее время наряду с высокоочищенными препаратами, получаемыми биологическим путем, появились гонадотропины рекомбинантные, синтез которых основан на экспрессии человеческого гена ФСГ в клетках яичников китайского хомячка (chinese hamster ovary, CHO) [4]. Полученный опыт применения генно-инженерных гормонов в лечебной практике показал, что их активность отличается от мочевых препаратов. A.N. Andersen и соавт. (2017) установили различия фармакодинамики рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (р-ФСГ) и высокоочищенного чМГ, связанные с разной степенью воздействия на эн-

докринную систему, развитие фолликулов, а также на качество полученных ооцитов [7]. В другом исследовании обнаружены различия в фармакокинетике этих гормонов. Так, для достижения одинакового клинического эффекта требовалось значительно меньшее количество ФСГ, выделенного из мочи женщин, чем аналогичного рекомбинантного гормона [8].

На величину БА гонадотропинов влияет собственная биологическим препаратам микротерогенность. Часть исследователей считает, что основной причиной более низкой активности рекомбинантных гонадотропинов по сравнению с препаратами ФСГ природного происхождения являются отличия в характере и степени гликозилирования гормонов у грызунов в сравнении с человеком [1].

Поскольку посторонние примеси также могут оказывать влияние на величину активности, одной из задач производителей лекарственных средств является улучшение процесса очистки для получения препаратов природного происхождения с минимальным или нормированным содержанием примесей. Учитывая разнообразие выпускаемых гонадотропных препаратов и особенности их получения, определение БА гонадотропинов является обязательным, и только ее наличие способно гарантированно обеспечить эффективность препаратов.

В соответствии с фармакопейными требованиями определение активности лекарственных средств, содержащих ФСГ и ЛГ, возможно только биологическими методами с использованием лабораторных животных. Физико-химические методы позволяют получить информацию о структуре молекулы и определить количественное содержание гормонов в ЛП, но не позволяют оценить активность препарата. Появившиеся в последнее время на рынке наборы реактивов позволяют определять только количественное содержание ФСГ и ЛГ в крови человека, а не биологическую активность ЛП. Поэтому необходим поиск максимально надежных и экономически выгодных методов определения БА гонадотропинов.

Наиболее рациональным является применение иммунобиологических методов *in vitro*, что особенно актуально в связи с необходимостью сокращения количества лабораторных животных.

Например, в литературе описано использование иммуноферментного метода, основанного на взаимодействии ФСГ с рецепторами гранулезных клеток, отвечающих за выработку прогестерона в присутствии ФСГ¹. Метод является количественным, однако пока не используется для оценки качества лекарственных средств.

Испытания гонадотропинов на животных основаны на методе Steelman–Pohley [9], суть которого состоит в оценке влияния гормона на изменение размера половых органов. Для крыс-самок рассчитывают относительную массу яичников (ОМЯ) или матки, для самцов — комплекса добавочных половых желез. Определение активности ФСГ, в отличие от ЛГ, проводят только на крысах-самках и в качестве ответа рассчитывают ОМЯ. Для интерпретации результатов сравнивают полученные значения относительной массы органов животного, которому вводили испытуемый образец лекарственного средства (ИО), и животного, которому вводили соответствующий стандартный образец (СО) с точно установленной величиной БА.

Методики количественного определения БА для всех групп гонадотропинов представлены в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ)². В Европейской фармакопее 11.3 изд. определение БА гонадотропинов описано в частных монографиях на гонадотропин хорионический, фоллитропин и урофоллитропин³. Следует отметить, что согласно требованиям как ГФ РФ, так и Европейской фармакопеи определение проводят на аутбредных крысах. Однако для контроля качества гонадотропинов импортного производства нередко используют и инбредных крыс, как правило, двух линий: Wistar-Kyoto или Sprague Dawley.

Цель работы — анализ результатов определения биологической активности фолликулостимулирующего гормона на крысах различных линий для выбора оптимальных условий проведения испытания.

Материалы и методы

За рубежом в последние годы, учитывая принцип гуманного обращения с животными в эксперименте (принцип «3R»), активно осваивается использование инбредных крыс, что позволяет уменьшить не только количество используемых животных, но и вводимые дозы гормона. От выбора статуса животного зависят и другие параметры: курсовая доза, количество инъекций, длительность проведения испытания. При работе как по отечественной⁴, так и по зарубежной методикам, несмотря на их различия, используют трехдозовый рандомизированный метод, в основе которого лежит определение БА испытуемого образца в сравнении с активностью СО. В качестве СО использовали действующий стандарт ВОЗ⁵, содержащий 183 МЕ ФСГ и 177 МЕ ЛГ/амп. (кат. № 10/286).

Испытание проводили на неполовозрелых крысах-самках аутбредных⁶ и инбредных линий Sprague Dawley⁷ и Wistar-Kyoto⁸, массой (на начало опыта) 32–36 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Доступ к воде и пище был свободным. Все манипуляции на животных проводили в соответствии с требованиями нормативных документов⁹.

Животные были разделены на группы: инбредные по пять особей в группе, аутбредные — по десять. В качестве растворителя СО и ИО использовали альбумино-фосфатный буфер¹⁰, в который для получения оптимального ответа животного добавляли избыточное количество чХГ (70 МЕ/мл). Реакция на добавление чХГ является специфической при определении БА ФСГ за счет лютеинизирующей активности хорионического гонадотропина. В качестве ответа оценивали ОМЯ.

В каждом опыте в течение четырех дней трем группам животных подкожно вводили растворы СО в разных дозах (малая, средняя, большая), а трем другим — ИО соответственно. Величины курсовых доз, полученных каждым животным в течение опыта, зависели от выбранной

¹ Воробьев ИИ. Методы функциональной экспрессии генов, кодирующих фармацевтически значимые гликопротеины: дис. ... д-ра биол. наук. М.; 2019.

² ОФС.1.2.4.0014.18 Биологические испытания гонадотропинов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

³ Monograph 01/2020:0498 Gonadotrophin, Chorionic; Monograph 01/2020:0958 Urofollitropin; Monograph 01/2023:2285 Follitropin. European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg; 2023.

⁴ ОФС.1.2.4.0014.18 Биологические испытания гонадотропинов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁵ https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/blood-products/catalogue/alphabetical-list.pdf?sfvrsn=15455482_2

⁶ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Филиал «Андреевка».

⁷ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Филиал «Столбовая».

⁸ Питомник лабораторных животных «Пушино».

⁹ СП 2.2.1.3218-14 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). 2014.

ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными.

¹⁰ ОФС.1.2.4.0014.18 Биологические испытания гонадотропинов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

методики (табл. 1–3). На пятый день проводили эвтаназию и выделяли яичники. Очищенные и просушенные фильтровальной бумагой органы взвешивали и определяли ОМЯ. Результаты обрабатывали в соответствии с требованиями ГФ РФ¹¹. Величина БА во всех испытаниях соответствовала установленным требованиям.

Сначала был проведен сравнительный анализ реакции аутбредных и инбредных животных на введение СО с известной активностью. Сравнение проводили по следующим параметрам: степень дозозависимости, абсолютная величина ответов и интегральный показатель.

Степень дозозависимости определяется угловым коэффициентом линейной регрессии (b). Интегральный показатель представляет собой отношение s/b , где s – среднее квадратическое отклонение (корень квадратный из внутригруп-

повой дисперсии результатов испытания – s^2). Чем меньше дисперсия результатов в испытании и (или) чем больше угол наклона линии дозозависимости, тем более точны и воспроизводимы результаты. Регрессионный и дисперсионный анализ данных, а также вычисление БА гонадотропинов проводили с помощью электронных таблиц и программного обеспечения CombiStats.

Затем сравнили реакцию аутбредных и инбредных животных, полученную при испытаниях в целом, т.е. при учете данных как СО, так и ИО по интегральному показателю.

Результаты и обсуждение

Вначале были проанализированы данные, характеризующие реакции аутбредных и инбредных крыс (Sprague Dawley, Wistar-Kyoto) на введение растворов различных доз СО ФСГ. Величины

Таблица 1. Реакция аутбредных крыс-самок на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона (ФСГ)

Table 1. Responses of female outbred rats to the international standard for follicle-stimulating hormone (FSH)

Курсовая доза ФСГ, МЕ/животное <i>Accumulated FSH dose, IU/animal</i>	Среднее значение относительной массы яичников (ОМЯ) и полуширина доверительного интервала ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) при доверительной вероятности $P = 95\%$ <i>Average ovary-to-body weight ratio and confidence interval half-width ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) ($P = 95\%$)</i>
2,63	1,40±0,09
5,25	2,03±0,18
10,25	2,45±0,17

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 2. Реакция крыс-самок линии Sprague Dawley на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона (ФСГ)

Table 2. Responses of Sprague Dawley female rats to the international standard for follicle-stimulating hormone (FSH)

Курсовая доза ФСГ, МЕ/животное <i>Accumulated FSH dose, IU/animal</i>	Среднее значение относительной массы яичников (ОМЯ) и полуширина доверительного интервала ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) при доверительной вероятности $P = 95\%$ <i>Average ovary-to-body weight ratio and confidence interval half-width ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) ($P = 95\%$)</i>
1,00	1,26±0,12
2,00	1,73±0,22
4,25	2,12±0,25

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 3. Реакция крыс-самок линии Wistar-Kyoto на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона (ФСГ)

Table 3. Responses of Wistar-Kyoto female rats to the international standard for follicle-stimulating hormone (FSH)

Курсовая доза ФСГ, МЕ/животное <i>Accumulated FSH dose, IU/animal</i>	Среднее значение относительной массы яичников (ОМЯ) и полуширина доверительного интервала ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) при доверительной вероятности $P = 95\%$ <i>Average ovary-to-body weight ratio and confidence interval half-width ($\overline{\text{ОМЯ}} \pm \Delta\text{ОМЯ}$) ($P = 95\%$)</i>
2,05	1,91±0,18
2,90	2,05±0,17
4,12	2,14±0,16

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

¹¹ ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

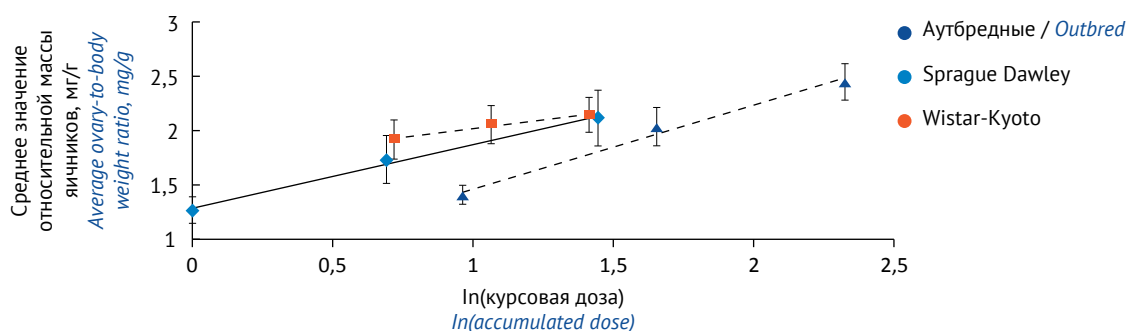


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Объединенная реакция самок аутбредных крыс, линии Sprague Dawley и линии Wistar-Kyoto на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона с линейной аппроксимацией

Fig. 1. Pooled responses of female outbred, Sprague Dawley, and Wistar-Kyoto rats to the international standard for follicle-stimulating hormone, with linear approximation

курсовых доз и соответствующие ответы животных, в которых значения ОМЯ различались статистически незначимо, объединили и усреднили. Результаты представлены в таблицах 1–3.

Представленные данные демонстрируют прямую зависимость ОМЯ от курсовых доз. Установлено, что ответы инбредных крыс на введение курсовых доз близки к ответам аутбредных крыс. Следует отметить, что курсовые дозы, вводимые инбредным животным, примерно в 2 раза меньше доз, вводимых аутбредным. Это свидетельствует о том, что чувствительность инбредных животных выше, чем аутбредных.

Так как модель параллельных линий подразумевает наличие статистически значимой

линейной дозозависимости и незначимой непараллельности, а также наличие статистически значимого коэффициента регрессии b , характеризующего дозозависимость, для проверки выполнения этих условий провели дисперсионный и регрессионный анализ [10–12] зависимости ОМЯ от логарифма курсовых доз (рис. 1). Результаты дисперсионного анализа (табл. 4–6) показали значимость и линейность реакции аутбредных (табл. 4) и инбредных животных линии Sprague Dawley (табл. 5). Об этом свидетельствуют:

- значимость коэффициента регрессии b (наблюдаемые значения критерия Фишера (F -критерия), представляющего собой соотношение дисперсий, превышают критические

Таблица 4. Результаты оценки объединенной реакции аутбредных крыс самок на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона методом дисперсионного анализа

Table 4. Analysis of variance of pooled responses of female outbred rats to the international standard for follicle-stimulating hormone

Определяемый показатель Source of variance	Число степеней свободы (f) Number of degrees of freedom (f)	Сумма квадратов Sum of squares	Средний квадрат Mean square	Значение критерия Фишера Fisher test value		Доверительная вероятность (P, %) Confidence probability (P, %)
				$F_{\text{набл}}$	$F_{\text{критич}}$	
Регрессия Regression	1	31,04	31,04	91,50	6,79	99
Отклонение от регрессии (нелинейность) Departure from regression (non-linearity)	1	0,34	0,34	1,01	3,90	95
Постановки (межгрупповая дисперсия) Treatments (intergroup variance)	2	31,39	15,69	46,26	3,05	95
Отклонение (дисперсия) Error (intragroup variance)	164	55,64	0,34			
Итого (Σ_{yy}) Total (Σ_{yy})	166	87,02	0,52			

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 5. Результаты оценки объединенной реакции самок крыс линии Sprague Dawley на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона методом дисперсионного анализа

Table 5. Analysis of variance of pooled responses of female Sprague Dawley rats to the international standard for follicle-stimulating hormone

Определяемый показатель <i>Source of variance</i>	Число степеней свободы (f) <i>Number of degrees of freedom (f)</i>	Сумма квадратов <i>Sum of squares</i>	Средний квадрат <i>Mean square</i>	Значение критерия Фишера <i>Fisher test value</i>		Доверительная вероятность (P, %) <i>Confidence probability (P, %)</i>
				$F_{\text{набл}}$	$F_{\text{критич}}$	
Регрессия <i>Regression</i>	1	14,14	14,14	32,39 > 6,88		99
Отклонение от регрессии (нелинейность) <i>Departure from regression (non-linearity)</i>	1	0,08	0,08	0,19 < 3,93		95
Постановки (межгрупповая дисперсия) <i>Treatments (intergroup variance)</i>	2	14,23	7,11	16,29 > 3,08		95
Отклонение (внутригрупповая дисперсия) <i>Error (intragroup variance)</i>	113	49,34	0,44			
Итого (Σ_{yy}) <i>Total (Σ_{yy})</i>	115	65,57	0,55			

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

для данного числа степеней свободы f при доверительной вероятности $P=99\%$;

- незначимость нелинейности (наблюдаемые значения F -критерия меньше критических для данного числа степеней свободы f при $P=95\%$).

Регрессионный анализ показал высокий коэффициент линейной регрессии: $b=0,76 \pm 0,16$, (аутбредные животные) и $b=0,59 \pm 0,20$ (инбредные животные) ($P=95\%$).

На основании данных дисперсионного и регрессионного анализа ответа животных линии Wistar-Kyoto на введение СО ФСГ было показано отсутствие значимой дозозависимости: наблюдаемое значение F -критерия меньше критического, а коэффициент линейной регрессии составил $b=0,33 \pm 0,34$ ($P=95\%$).

При исследовании объединенных реакций крыс-самок линии Wistar-Kyoto установлено, что диапазон вводимых доз был в два раза уже, чем при введении растворов СО ФСГ аутбредным крысам и крысам линии Sprague Dawley. Так, соотношение между дозами для животных линии Wistar-Kyoto составило 1:1,4, что значительно меньше, чем величина, указанная в методиках с применением других линий крыс (1:2)¹². В результате дозы, вводимые крысам линии Wistar-Kyoto, составляли в два раза меньший диапазон (рис. 1). На рисунке

показано, что три дозы, введенные крысам Wistar-Kyoto, расположены в интервале между средней и большой дозой для Sprague Dawley, а также малой и средней для аутбредных, что может свидетельствовать о высокой чувствительности животных линии Wistar-Kyoto к гормону. При этом реакция животных как линии Wistar-Kyoto, так и Sprague Dawley на сопоставимые дозы оказалась практически одинаковой.

На основании полученных результатов можно предположить, что вероятной причиной сравнительно низкой дозозависимости, полученной при исследовании реакции крыс линии Wistar-Kyoto на введение СО, является недостаточный охват диапазона эффективных доз. Вследствие сужения аналитического диапазона методики были получены результаты, неадекватно интерпретирующие реакцию животных. Так как испытания с иными дозами и с большей разницей между ними не проводили, линия Wistar-Kyoto была исключена из дальнейшего исследования.

Далее был проведен сравнительный анализ линий дозозависимости СО ФСГ аутбредных крыс и крыс линии Sprague Dawley. Различие между двумя линиями регрессии считают незначимым, если их угловые коэффициенты линейной регрессии b значимо не различаются. Это было проверено с помощью t -критерия (табл. 7), который можно применять, только если обе линии

¹² ОФС.1.2.4.0014.18 Биологические испытания гонадотропинов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Таблица 6. Результаты оценки объединенной реакции самок крыс линии Wistar-Kyoto на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона методом дисперсионного анализа

Table 6. Analysis of variance of pooled responses of female Wistar-Kyoto rats to the international standard for follicle-stimulating hormone

Определяемый показатель <i>Source of variance</i>	Число степеней свободы (f) <i>Number of degrees of freedom (f)</i>	Сумма квадратов <i>Sum of squares</i>	Средний квадрат <i>Mean square</i>	Значение критерия Фишера <i>Fisher test value</i>		Доверительная вероятность (P, %) <i>Confidence probability (P, %)</i>
				$F_{\text{набл}}$	$F_{\text{критич}}$	
Регрессия <i>Regression</i>	1	0,94	0,94	3,69<6,89		99
Отклонение от регрессии (нелинейность) <i>Departure from regression (non-linearity)</i>	1	0,02	0,02	0,08<3,94		95
Постановки (межгрупповая дисперсия) <i>Treatments (intergroup variance)</i>	2	0,96	0,48	1,88<3,09		95
Отклонение (внутригрупповая дисперсия) <i>Error (intragroup variance)</i>	103	26,23	0,25			
Итого (Σ_{yy}) <i>Total (Σ_{yy})</i>	105	27,18	0,26			

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Жирным шрифтом отмечены значения критерия Фишера, подтверждающие отсутствие значимой дозозависимости.
Note. Fisher test values given in bold indicate that there is no significant dose-response relationship.

характеризуются одной и той же дисперсией [11, 12]. Сравнение дисперсий проводили с помощью F -критерия. Различия дисперсий незначимы, так как $F_{\text{набл}} < F_{\text{критич}}$ ($P=95\%$), следовательно, можно сравнить линии на предмет параллельности и совпадения уровней (табл. 7).

Так как $t_{\text{набл}} < t_{\text{критич}}$ ($f=279$, $P=95\%$), линии дозозависимости СО ФСГ аутбредных крыс и крыс линии Sprague Dawley следует считать параллельными. Это позволило сравнить линии на предмет совпадения.

Установлено, что инбредные животные значительно сильнее реагируют на введение СО ФСГ (в среднем $d_{(\text{инбр})-(\text{аутбр})}=0,38$), несмотря на использование меньших доз. В то же время для аутбредных крыс величина интегрального показателя при исследовании реакции на СО оказалась меньше, чем для инбредных и составила соответственно 0,76 и 1,13 (табл. 8). Чем меньше данное значение, тем достовернее результаты, так как меньше разброс и выше дозозависимость. Однако в случаях определения БА ИО лекарственных средств разница интегральных показателей для аутбредных и инбредных животных практически нивелировалась ($0,44 \pm 0,23$ и $0,47 \pm 0,31$ соответственно). Это можно объяснить тем, что исследования проводили в течение двух лет. Проведение исследований в течение такого длительного периода приводит к возникновению дополнительных переменных, таких

как различия между партиями крыс, поставляемых из разных питомников, влияние времени года и т.п., увеличивающих разброс статистических параметров, полученных при учете результатов испытаний СО.

При анализе тех же параметров, значения которых были получены в исследовании БА ИО лекарственных средств в сравнении с СО, разброс данных был меньше, а разница в интегральном показателе практически отсутствовала. Следует отметить, что при этом количество использованных инбредных животных было меньше, а общее количество учтенных ответов при этом составило для аутбредных – 337 и инбредных – 209. Таким образом, следует признать, что чувствительность инбредных крыс выше.

Заключение

На основании проведенного анализа установлено следующее:

- у инбредных крыс чувствительность к ФСГ больше, чем у аутбредных. Это позволяет использовать меньшее количество животных для определения статистически значимой биологической активности;
- ввиду большей чувствительности инбредных крыс для получения оптимальных ответов животным достаточно вводить меньшие дозы гормонов. Соотношение между дозами должно быть не менее 1:2.

Таблица 7. Сравнительный анализ линий регрессии, характеризующих реакцию крыс-самок аутбредных и линии Sprague Dawley на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона**Table 7.** Comparative analysis of regression lines characterising responses of female outbred and Sprague Dawley rats to the international standard for follicle-stimulating hormone

Статус животных <i>Line</i>	Аутбредные <i>Outbred</i>	Sprague Dawley	
Угловой коэффициент линейной регрессии <i>b</i> <i>Slope, b</i>	0,76	0,59	
Дисперсия <i>s</i> ² <i>Variance, s²</i>	0,34	0,43	
Количество животных <i>N</i> <i>Number of animals, N</i>	167	116	
Среднее значение натурального логарифма курсовой дозы $\bar{x}$ <i>Mean ln (accumulated dose) $\bar{x}$</i>	1,72	0,76	
Средний ответ $\bar{y}$, мг/г <i>Mean response, $\bar{y}$, mg/g</i>	82,01	81,73	
Сравнение дисперсий <i>s</i> ² <i>Comparison of variances, s²</i>			
<i>F</i> _{набл} =1,28	<i>f</i> большей дисперсии <i>f, maximum variance</i>	<i>f</i> меньшей дисперсии <i>f, minimum variance</i>	Дисперсии статистически значимо не различаются <i>No significant difference between variances</i>
<i>F</i> _{критич} =1,32 (P=95%)	165	114	
Сравнение коэффициентов линейной регрессии <i>b</i> (оценка параллельности линий) <i>Comparison of slopes, b (parallelism estimation)</i>			
<i>t</i> _{набл} =1,39	<i>f</i> =279		
<i>t</i> _{критич} =1,97 (P=95%)	Линии параллельны <i>Lines are parallel</i>		
Сравнение линий на предмет совпадения <i>Comparison of lines for overlapping</i>			
<i>t</i> _{набл} =3,92	<i>f</i> =279		
<i>t</i> _{критич} =2,58 (P=99%)	Линии значимо не совпадают <i>No significant overlapping</i>		
<i>d</i> _{(инбл)–(аутбл)} =0,38 мг/г			

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. F – критерий Фишера; t – критерий Стьюдента; f – число степеней свободы; P – доверительная вероятность; $d_{(\text{инбр})-(\text{аутбр})}$ – среднее расстояние между линиями дозозависимости, характеризующее разность реакции инбредных и аутбредных животных (мг/г).

Note. F , Fisher's test; t , Student's test; f , number of degrees of freedom; P , confidence probability; $d_{(\text{инбр})-(\text{аутбр})}$ average distance between dose-response lines for inbred and outbred animals (mg/g).

Выбор инбредных крыс позволяет уменьшить вдвое количество животных, взятых в испытание. При этом статистические параметры свидетельствуют о достоверности и надежности результатов, что подтверждает предпочтительное использование инбредных животных для определения биологической активности ФСГ. Результаты исследования будут учтены при пересмотре ОФС «Биологические испытания

гонадотропинов» для следующего издания отечественной фармакопеи.

Предложенный подход к проведению исследований биологической активности позволяет сократить количество используемых животных при той же достоверности получаемых результатов, экономически выгоден и согласуется с концепцией гуманного использования животных в эксперименте (принцип «3R»).

Таблица 8. Сводные показатели, характеризующие реакцию крыс-самок аутбредных и линии Sprague Dawley на введение стандартного образца фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лекарственного препарата ФСГ

Table 8. Summary statistics characterising responses of female outbred and Sprague Dawley rats to the international standard and test samples of follicle-stimulating hormone

Статус животных <i>Line</i>	Аутбредные <i>Outbred</i>	Sprague Dawley
Объединенная реакция на СО в среднем по всем испытаниям <i>Pooled responses to the IS averaged across all assays</i>		
Количество животных (N) <i>Number of animals (N)</i>	167	116
Угловой коэффициент линейной регрессии (b) <i>Slope (b)</i>	0,76±0,16	0,59±0,20
Интегральный показатель (s/b) <i>Standard deviation/slope ratio (s/b)</i>	0,76	1,13
В среднем по отдельным испытаниям (реакция на СО и ИО) <i>Average for individual assays (responses to the IS and test samples)</i>		
Количество животных (N) <i>Number of animals</i>	337	209
Интегральный показатель (s/b) (среднее значение ± полуширина доверительного интервала $\overline{s/b} \pm \Delta s/b$, P=95%) <i>Standard deviation/slope ratio (s/b) (mean ± confidence interval half-width $\overline{s/b} \pm \Delta s/b$, P=95%)</i>	0,44±0,23	0,47±0,31

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. СО – стандартный образец; ИО – испытуемый образец; s – среднее квадратическое отклонение; P – доверительная вероятность.

Note. IS, international standard; s, standard deviation; P, confidence probability.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Боярский КЮ. Влияние гликозилирования молекулы ФСГ на фолликулярную динамику и овариальную стимуляцию в программах ЭКО/ИКСИ. *Проблемы репродукции*. 2012;(4):40–4. Boyarsky KYu. Influence of glycosylation of FSH on follicular dynamics and ovarian stimulation in IVF/ICSI programs. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2012;(4):40–4 (In Russ.). EDN: [PIVFTL](#)
- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama. Gonadotropin preparations: past, present, and future perspectives. *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):S13–20. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.031>
- Абляева ЭШ, Бендусов ИА. Применение Мерионала и Альтерпура в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *РМЖ. Мать и дитя*. 2016;24(5):312–6. Ablyayeva ESh, Bendusov IA. Merional and Alterpur in assisted reproductive technology programs. *RMJ. Mother and Child*. 2016;24(5):312–6 (In Russ.). EDN: [WBAPIH](#)
- Шпаков АО. Эндогенные и синтетические регуляторы периферических звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадной и -тиреоидной осей. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2020;106(6):696–719. Shpakov AO. The endogenous and synthetic regulators of the effector components of the hypothalamic-pituitary-gonadal and -thyroid axes. *Russian Journal of Physiology*. 2020;106(6):696–719 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0869813920060126>
- Giudice E, Crisci C, Eshkol A, Papoian R. Composition of commercial gonadotrophin preparations extracted from human post-menopausal urine: characterization of non-gonadotrophin proteins. *Hum Reprod*. 1994;9(12):2291–9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138440>
- Гончаров НП. Значение и роль методов определения гормонов в развитии эндокринологии как общепромышленной науки. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012;67(3):42–9. Goncharov NP. Significance and role of hormone detection methods in the development of endocrinology as a biological discipline. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012;67(3):42–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i3.184>
- Andersen AN, Devroey P, Arce JC. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3217–27. <https://doi.org/10.1093/humrep/del284>
- Mohamed MA, Sbracia M, Pacchiarotti A, Micara G, Linari A, Tranquilli D, et al. Urinary follicle-stimulating hormone (FSH) is more effective than recombinant FSH in older women in a controlled randomized study. *Fertil Steril*. 2006;85(5):1398–403. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.10.049>

9. Steelman SL, Pohley FM. Assay of the follicle-stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*. 1953;53(6):604–16.
<https://doi.org/10.1210/endo-53-6-604>
10. Burn JH, Finney DJ, Goodwin LG. *Biological standardization*. 2nd ed. London: Oxford University Press; 1952.
11. Glantz SA. *Primer of Biostatistics*. New York: McGraw-Hill; 1999.
12. Урбах ВЮ. *Биометрические методы. Статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине*. М.: Наука; 1964.
Urbakh VYu. *Biometric methods. Statistical processing of experimental data in biology, agriculture, and medicine*. Moscow: Nauka; 1964 (In Russ.).

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Т.А. Батуашвили — планирование исследования, выполнение эксперимента, проведение сравнительного анализа полученных результатов; сбор данных литературы; Е.О. Чечетова — выполнение эксперимента, анализ полученных данных, систематизация и оформление результатов исследования, редактирование текста рукописи; П.В. Шадрин — проведение вычислений, выполнение сравнительного анализа полученных результатов, работа с графическим материалом; Н.П. Неугодова — основная идея исследования, редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Соответствие принципам этики. Проведение исследования было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (протокол заседания № 3 от 16.11.2023).

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Tamara A. Batuashevili* planned the study, conducted experiments, performed the comparative analysis of the results obtained, and collected literature data. *Ekaterina O. Chechetova* conducted experiments, analysed the data obtained, collated and formatted the study results, and edited the manuscript. *Pavel V. Shadrin* carried out calculations, performed the comparative analysis of the results obtained, and worked with the graphical material. *Natalia P. Neugodova* elaborated the main idea of the study, edited the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. The study was approved at a meeting of the local ethics committee of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Minutes of Meeting No. 3 dated 16.11.2023).

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Батуашвили Тамара Ариеловна, канд. биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2656-8131>
batuashevili@expmed.ru

Чечетова Екатерина Олеговна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>
stepanuk@expmed.ru

Шадрин Павел Валерьевич
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7143-8227>
shadrin@expmed.ru

Неугодова Наталия Петровна, канд. биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>
neugodova@expmed.ru

Поступила 16.08.2023

После доработки 19.09.2023

Принята к публикации 23.11.2023

Tamara A. Batuashevili, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2656-8131>
batuashevili@expmed.ru

Ekaterina O. Chechetova
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>
stepanuk@expmed.ru

Pavel V. Shadrin
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7143-8227>
shadrin@expmed.ru

Natalia P. Neugodova, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>
neugodova@expmed.ru

Received 16 August 2023

Revised 19 September 2023

Accepted 23 November 2023



В.А. Евтеев¹
Н.Д. Бунятян^{1,2}
Е.Ю. Демченкова¹
А.Б. Прокофьев^{1,2}

Сравнительная оценка рекомендаций по доклиническим исследованиям межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров

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

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

✉ Евтеев Владимир Александрович; evteev@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Использование обоснованных рекомендаций по доклиническим исследованиям фармакокинетического взаимодействия лекарственных средств на уровне транспортеров позволит повысить вероятность определения потенциально нефро- и гепатотоксичных лекарственных препаратов на этапе разработки и регистрации. Однако избыточные требования к количеству проводимых исследований могут повлечь за собой существенное увеличение стоимости готового лекарственного средства.

Цель. Сравнительный анализ нормативной документации по исследованиям межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров.

Обсуждение. Изменения регуляторных требований по межлекарственным взаимодействиям проанализированы в хронологическом порядке с момента появления первых руководств в 1997 г. Приведены примеры, подтверждающие, что множественность транспортеров, а также недостаток их специфических ингибиторов являются актуальными проблемами при оценке роли конкретного транспортера в распределении лекарственного средства и влияния этого транспортера на межлекарственные взаимодействия. Показано, что экстраполяция исследований по ингибированию транспортеров *in vitro* на результаты фармакокинетики *in vivo* может ввести в заблуждение.

Выводы. Разработка единого подхода к исследованиям межлекарственных взаимодействий на уровне транспортеров позволит повысить вероятность выявления потенциально токсичных лекарственных средств на этапе скрининга новых молекул. При этом целесообразно ограничить количество исследований транспортеров *in vitro* и *in vivo* и рекомендовать их только для лекарственных средств с узким терапевтическим диапазоном.

Ключевые слова: доклинические исследования; межлекарственные взаимодействия; транспортеры лекарственных средств; фармакокинетические модели; регуляторные требования

Для цитирования: Евтеев В.А., Бунятян Н.Д., Демченкова Е.Ю., Прокофьев А.Б. Сравнительная оценка рекомендаций по доклиническим исследованиям межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):560–566. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-560-566>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400082-4).

Конфликт интересов. Н.Д. Бунятян, А.Б. Прокофьев — члены редакционной коллегии журнала «Вестник НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2011 и 2015 года соответственно. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Vladimir A. Evteev¹ 
Natalia D. Bunyatyan^{1,2} 
Elena Yu. Demchenkova¹ 
Alexey B. Prokofiev^{1,2} 

Comparative Evaluation of Recommendations for Preclinical Studies of Transporter-Mediated Drug–Drug Interactions

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

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

✉ Vladimir A. Evteev; evteev@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Sound recommendations for preclinical studies of transporter-mediated pharmacokinetic interactions of medicinal products can help increase the likelihood of identifying potentially nephrotoxic and hepatotoxic medicinal products at the development and authorisation stages. However, overly strict requirements for the number of studies to be performed may lead to a significant increase in the cost of finished medicinal products.

Aim. The aim was to compare regulatory documents on studying transporter-mediated drug–drug interactions (DDIs).

Discussion. This review examines changes in regulatory requirements for studying DDIs in chronological order from the first guidelines that appeared in 1997. As exemplified in this article, the multiplicity of transporters and the lack of specific inhibitors pose significant challenges in assessing the role of a particular transporter in drug distribution and drug–drug interactions. This comparative review shows that extrapolating from *in vitro* transporter inhibition studies to *in vivo* pharmacokinetics can be misleading.

Conclusions. A unified approach to studying transporter-mediated DDIs will increase the likelihood of identifying potentially toxic agents at the stage of new molecule screening. At the same time, it is advisable to limit the number of *in vitro* and *in vivo* transporter studies and recommend conducting these studies only for medicinal products with a narrow therapeutic index.

Keywords: preclinical studies; drug–drug interactions; transporters; pharmacokinetic models; regulatory requirements

For citation: Evteev V.A., Bunyatyan N.D., Demchenkova E.Yu., Prokofiev A.B. Comparative evaluation of recommendations for preclinical studies of transporter-mediated drug–drug interactions. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):560–566. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-560-566>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D registration No. 121022400082-4).

Disclosure. Natalia D. Bunyatyan and Alexey B. Prokofiev have been members of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2011 and 2015, respectively. The other authors declare having no interest requiring disclosure in this article.

Введение

Результатом межлекарственных взаимодействий (МЛВ) на уровне транспортеров лекарственных средств (ЛС) может быть как снижение терапевтической эффективности ЛС, так и повышение их токсичности. МЛВ не всегда

могут быть выявлены при скрининге разрабатываемых ЛС и являются одной из основных причин отзыва с рынка уже используемых препаратов [1]. Процессы и технологические инновации, которые могут улучшить предсказуемость результатов доклинических исследований при их

трансфере в клиническую практику, особенно для новых соединений, позволяют значительно повысить эффективность и безопасность разрабатываемых ЛС [2]. Однако если не будут применяться должным образом рекомендации и соответствующие критерии во время разработки ЛС, то количество ненужных исследований может увеличиться, что скажется на сроках разработки и увеличит стоимость готового лекарственного препарата [3]. Рассмотрение этих факторов вместе с увеличением частоты полипрагмазии побудило регуляторные органы (Food and Drug Administration, FDA; European Medicines Agency, EMA; Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, PMDA) разработать руководства, призванные помочь исследователям охарактеризовать и лучше понять потенциал МЛВ для ЛС, находящихся в стадии разработки. Следствием МЛВ может стать изменение как фармакокинетики, так и фармакодинамики ЛС, однако в настоящее время в центре внимания FDA и EMA находятся именно фармакокинетические взаимодействия.

Цель работы – сравнительный анализ нормативной документации по исследованиям межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров.

Первые руководства FDA¹ и EMA² по МЛВ были выпущены в 1997 г., с тех пор раз в 2–3 года выходили регулярные обновления и дополнения. Наибольшее внимание в первых версиях руководств уделялось семейству транспортеров ABC (ATP-binding cassette transporters, АТФ-связывающие транспортные белки), основным представителем которого является Р-гликопротеин (Pgp), который уже тогда был хорошо изучен. В это же время про поглощающие транспортеры SLC-семейства (solute carrier family, транспортеры растворенных веществ) было известно очень мало, поэтому первое упоминание МЛВ, связанных с поглощающими почечными и печеночными транспортерами, появилось в руководстве FDA в 2006 г., после того как были клонированы основные представители этого семейства, и было связано с началом активного исследования этих транспортеров.

Актуальные версии руководств FDA³ и EMA⁴ сходны по своей концепции и содержат следующие ключевые обновления:

- повышенное внимание к МЛВ на уровне транспортеров ЛС, в том числе рекомендации по проведению исследований как *in vitro*, так и *in vivo*;
- детальное руководство по использованию результатов исследований транспортеров ЛС *in vitro* в методологии дальнейших клинических исследований МЛВ;
- указания по работе с экспериментальными моделями, в частности физиологически обоснованными фармакокинетическими моделями (physiologically based pharmacokinetic models, PBPK), результаты использования которых в настоящее время признаются имеющими большее значение по сравнению с другими моделями;
- акцент на необходимости характеризовать и интерпретировать сложные МЛВ, взаимодействия метаболизирующих ферментов и транспортеров с ЛС в зависимости от генотипа пациента.

Изменения и дополнения в руководстве FDA

По сравнению с предыдущими версиями (2006 г. и ранее) наибольшее количество изменений относительно МЛВ на уровне транспортеров появилось в руководстве FDA⁵ в 2012 г. Существенно был изменен перечень исследуемых транспортеров. Помимо уже используемого Pgp (ABCB1) были рекомендованы еще 6 транспортеров: транспортеры органических анионов – OAT1 (SLC22A6), OAT3 (SLC22A8) и транспортер органических катионов – OCT2 (SLC22A2), являющиеся основными представителями поглощающих почечных транспортеров, ключевые печеночные транспортеры анионных полипептидов OATP1B1 (SLCO1B1) и OATP1B3 (SLCO1B3), а также белок устойчивости к раку молочной железы (breast cancer resistance protein, BCRP) из ABC-семейства (ABCG2).

В руководстве приведены схемы принятия решений о проведении *in vitro* и (или) *in vivo* исследования транспортеров в соответствии с рекомендациями, предложенными Международным консорциумом по транспортерам (International Transporter Consortium, ITC) [4], представлены списки рекомендуемых ингибиторов и субстратов транспортеров. Согласно требованиям FDA рекомендовано более точное пороговое

¹ Guidance for industry. Drug metabolism / Drug interaction studies in the drug development process: studies in vitro. FDA; 1997.

² CPMP/EWP/560/95 Note for guidance on the investigation on drug interactions. EMA; 1997.

³ <https://www.fda.gov/drugs/drug-interactions-labeling/drug-interactions-relevant-regulatory-guidance-and-policy-documents>

⁴ EMA/CHMP/ICH/652460/2022 Drug interaction studies. ICH M12 harmonised guideline. 2022.

⁵ FDA-2006-D-0036-0032 Drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. Guidance for industry. FDA; 2012.

значение почечной и печеночной элиминации – 25% исследуемого ЛС для возможности инициировать эксперимент с использованием данного ЛС в качестве субстрата транспортеров ОСТ/ОАТ/ОАТР – вместо рекомендованных ИТС пороговых значений 30 и 50% соответственно. Кроме того, FDA рекомендует для оценки концентрации ингибитора транспортеров BCRP и Pgp использовать общее значение максимальной концентрации ЛС в плазме крови (C_{max}) в отличие от рекомендованной ИТС концентрации ЛС, не связанного с белками плазмы.

Изменения и дополнения в руководстве ЕМА

В актуальной версии руководства ЕМА⁶, в отличие от руководства FDA, даны рекомендации по срокам проведения исследований. ЕМА, как и ИТС, рекомендует использовать для определения концентрации ингибитора транспортеров концентрацию ЛС, не связанного с белками плазмы. Подобные различия в рекомендациях регуляторных органов могут создавать проблемы для разработчиков ЛС, особенно если одни и те же экспериментальные данные приводят к различным прогнозам и интерпретациям потенциального МЛВ. Например, если исследуемое соединение характеризуется низким показателем связывания с белками плазмы, то считается, что оно обладает низким потенциалом для МЛВ. В этом случае, согласно руководству FDA, проведения клинических исследований не требуется, а согласно руководству ЕМА – требуется, и наоборот в противоположном случае. Другой пример: FDA дает конкретные рекомендации по использованию прогностических моделей, основанных на результатах исследований *in vitro*, для соединений со смешанным (как ингибирующим, так и индуцирующим) воздействием на транспортеры и метаболизирующие ферменты, а в руководстве ЕМА заявлено, что, учитывая ограниченный опыт прогнозирования МЛВ подобных веществ, для них необходимо провести исследования *in vivo*.

В список транспортеров ЛС в руководстве ЕМА был добавлен транспортер солей желчных кислот (bile salt export pump, BSEP), который необходимо изучить из-за возможного риска развития гепатотоксических нежелательных реакций при его ингибировании. Следует отметить, что руководство ЕМА более детализировано в части исследований транспортеров по сравнению с руководством FDA, где дан лишь предписывающий подход в виде дерева решений.

Проблемы, возникающие при изучении межлекарственного взаимодействия на уровне транспортеров

Результаты исследований МЛВ, опосредованных метаболизирующими ферментами, которые были получены за последние 20–30 лет, позволяют достаточно точно прогнозировать клиренс ЛС. При этом механизм МЛВ, возникающего в результате взаимодействия ЛС с транспортерами, все еще недостаточно изучен. Действительно, в руководстве ЕМА при подчеркнутой важности оценки МЛВ на уровне транспортеров даны только общие рекомендации по подходам к исследованиям и подтверждено, что экстраполяция взаимодействий транспортеров ЛС *in vitro* / *in vivo* в настоящее время требует дополнительного изучения. Существует несколько доводов, иллюстрирующих сложности, связанные с оценкой МЛВ на уровне транспортеров и с несовершенством нормативных указаний, регламентирующих эти исследования. Учитывая современный уровень знаний в области МЛВ, преждевременно давать и применять подробное руководство по исследованию транспортеров и однозначные критерии оценки результатов.

Разнообразие транспортеров. В настоящее время известно более 400 генов, кодирующих изоформы транспортеров семейств ABC и SLC [5], что создает одну из самых больших проблем для понимания роли конкретного транспортера в распределении ЛС и его влияния на МЛВ. Кроме того, многие транспортеры, как поглощающие, так и выбрасывающие, имеют перекрывающуюся субстратную специфичность, что вызывает дополнительные сложности при анализе, поскольку эти транспортеры могут функционировать как в одном направлении, так и в противоположных. В таком случае влияние отдельных транспортеров будет зависеть от их вклада в общий процесс. Кроме того, ингибирование одного транспортера может быть компенсировано активностью другого таким образом, что в итоге не будет наблюдаться заметного влияния на фармакокинетику ЛС. При этом экстраполяция исследований по ингибированию транспортеров *in vitro* на результаты фармакокинетики *in vivo* может ввести в заблуждение. Из-за перекрестной субстратной специфичности, когда ЛС взаимодействует с несколькими транспортерами, последствия этого взаимодействия часто могут быть непредсказуемыми, особенно в случаях, если транспортеры функционируют в противоположных направлениях. Эти сложности ограничивают прямую экстраполяцию

⁶ ЕМА/CHMP/ICH/652460/2022 Drug interaction studies. ICH M12 harmonised guideline. 2022.

результатов исследований *in vitro* на ожидаемые результаты *in vivo* только на основании данных о субстратах или ингибиторах представляющего интерес транспортера и подчеркивают необходимость целостного понимания транспортеров, участвующих в распределении ЛС.

В качестве примера следует привести результаты нескольких исследований *in vivo*. Так, в опытах на мышах, нокаутированных по транспортерам Oatp, было показано, что нокаут по Oatp1b2 оказывал меньшее влияние на фармакокинетику правастатина по сравнению с нокаутом по Oatp1a/1b, при котором было отмечено семикратное увеличение концентрации препарата [6]. Однако ингибирование активности нескольких транспортеров с противоположными функциями также может иметь и компенсаторный эффект. В другом исследовании было показано, что в случае перорального приема метотрексата нокаут отдельно по Mrp2, Mrp3 и Vcsp приводил к изменению системного распределения препарата в 1,4, 0,8 и 1,7 раза соответственно. Двойной нокаут по Mrp2 и Vcsp привел к трехкратному увеличению системного AUC метотрексата. Однако дополнительный нокаут Mrp3 снижал системное воздействие до уровня мышей дикого типа (AUC у мышей с тройным нокаутом составлял 90% от такового у мышей дикого типа) [7]. Прогнозы, основанные на ингибировании отдельных транспортеров, затруднительны из-за отсутствия полного понимания процесса элиминации.

Дополнительным препятствием на пути к целостному пониманию роли транспортеров в МЛВ является рост числа научных работ о транспортерах за последнее десятилетие. С каждым годом продолжает поступать новая информация. В частности, в работе [8] описаны результаты клонирования почечных транспортеров семейства SLC подсемейства MATE (multidrug and toxin extrusion, выводящие транспортеры лекарственных средств и токсинов) — MATE1 и MATE2-K. Эти транспортеры располагаются на апикальной мембране клеток почечных канальцев и печени и имеют сходную субстратную специфичность с OCT-транспортерами. В настоящее время считается, что MATE-транспортеры могут иметь более важное значение для выведения положительно заряженных ЛС через почки, чем OCT, поэтому эти транспортеры почти сразу же были включены в рекомендации и FDA, и EMA. В частности, циметидин, в настоящее время рекомендованный FDA в качестве ингибитора OCT2 *in vivo*, является более мощным ингибитором MATE1 и MATE2-K [9]. Точно так же метформин, рекомендуемый в качестве

маркерного субстрата OCT2 *in vivo*, обладает большим сродством к OCT1 и MATE1/MATE2-K, которые также принимают участие в его распределении [10]. Исследование циметидина ясно иллюстрирует, является ли транспортер ограничивающим фактором в общем распределении ЛС, которое, к сожалению, нельзя смоделировать *in vitro* в стандартных опытах по определению сродства субстрата к транспортеру. В соответствии с этим однократная доза широко применяемого в клинической практике мощного ингибитора OATP1B1 рифампина оказывает значительное влияние на фармакокинетику аторвастатина, но не варфарина, несмотря на полученные *in vitro* данные, что все три соединения являются субстратами OATP1B1 и восприимчивы к ингибированию рифампином [11].

Отсутствие специфических ингибиторов транспортеров. Еще одним важным препятствием к пониманию роли транспортеров в выведении ЛС и МЛВ является отсутствие специфических ингибиторов транспортеров, в том числе включенных в рекомендованный список руководств FDA и EMA. На это же указывают и данные ИТС: так, например, метотрексат является субстратом для пяти транспортеров, а циклоспорин указан как ингибитор для семи транспортеров [5]. Отсутствие специфических субстратов и ингибиторов в значительной степени является результатом разнообразия транспортеров, а также их широкой субстратной специфичности. Без специфических ингибиторов интерпретация данных в отношении роли транспортеров и их влияния на МЛВ может быть неоднозначной, и существуют серьезные ограничения в экстраполяции результатов от *in vitro* до *in vivo* и от одного исследования МЛВ с одним субстратом/ингибитором к другому. Эта проблема вызвала продолжающиеся дебаты о том, насколько важны МЛВ на уровне транспортеров для получения необходимой информации на основании рекомендованных клинических исследований МЛВ *in vivo* с использованием одного субстрата или ингибитора, как описано в действующей версии руководства FDA.

Многое из того, что сегодня известно об участии транспортеров в распределении ЛС, было получено по результатам исследований *in vitro* на моделях клеточных линий, экспрессирующих транспортеры (например, клетки Caco-2, HepG2), или клеток, трансфицированных генами транспортеров. Многие из этих клеточных линий также экспрессируют значительное количество других транспортеров, что требует использования специфических ингибиторов для правильной идентификации роли, которую может играть

конкретный исследуемый транспортер. Однако, учитывая дефицит специфических ингибиторов, интерпретация результатов транспорта *in vitro* в ряде случаев может быть неоднозначной и вводящей в заблуждение. Точно так же отсутствие селективных ингибиторов создает серьезную проблему для определения влияния конкретных транспортеров *in vivo* на распределение ЛС. Даже при наличии относительно специфических ингибиторов интерпретация исследований *in vivo*, направленных на определение влияния специфических транспортеров, не является однозначной. В ранних исследованиях было показано повышение концентрации иматиниба в плазме крови (в 3,8 раза) у мышей дикого типа при его введении с ингибитором Pgp валсподаром или двойным ингибитором Pgp/Vcsp элакридаром, на основании чего был сделан вывод, что Pgp/Vcsp принимают участие в распределении иматиниба [12]. Однако более поздние исследования показали, что назначение иматиниба совместно с элакридаром или пантопразолом вызывает трехкратное повышение AUC иматиниба и понижает его выведение как у нокаутированных по Mdr1a/1b, Vcsp мышей, так и у мышей дикого типа [13]. Эти результаты подчеркивают отсутствие специфичности даже у наиболее подробно характеризованных ингибиторов транспортеров. Очевидно, что подобные непредвиденные эффекты в фармакокинетике ЛС не добавляют ясности в понимание причинно-следственной связи, необходимой для корректной экстраполяции данных об ингибировании транспортеров *in vitro*.

Вклад отдельных транспортеров в межлекарственные взаимодействия. Еще одной проблемой, с которой сталкиваются исследователи при изучении фармакокинетики ЛС, является определение роли конкретного транспортера в транспорте данного ЛС. В экспериментах на животных, нокаутированных по генам изучаемых транспортеров, было показано, что потеря одного транспортера, как правило, приводит к компенсаторному увеличению (в среднем

в 2 раза) экспрессии других транспортеров, схожих по субстратной специфичности, а также метаболических ферментов [14]. Однако существуют и альтернативные примеры, в частности, результаты проведенного генетического профилирования в отношении Mrp2 [14] и Oatp1b2 [15] не показывают четкого паттерна по увеличению экспрессии генов, которые компенсировали бы нокаут транспортера.

Следует отметить, что количество зарегистрированных МЛВ, относящихся к транспортерам подсемейства OATP1B, более чем в три раза превышает количество МЛВ для почечных транспортеров семейств OCT и OAT [5].

Заключение

Результаты анализа нормативной документации FDA и EMA по межлекарственному взаимодействию свидетельствуют об увеличении интереса к исследованиям транспортеров лекарственных средств. Пересмотр и совершенствование регуляторных требований связаны с активным изучением SLC-транспортеров (OAT, OCT, MATE), которые были клонированы за последние два десятилетия. Тем не менее абсолютное количество известных межлекарственных взаимодействий, опосредованных транспортерами, по сравнению с опосредованными метаболизирующими ферментами, все еще относительно невелико. Таким образом, предстоит определить, оправданы ли проводимые согласно рекомендациям регуляторных органов рутинные исследования новых транспортеров, роль которых в метаболизме лекарственных средств в настоящее время менее изучена по сравнению с Pgp и OATP1B1.

Принимая во внимание относительно небольшое число выявленных межлекарственных взаимодействий, связанных с новыми почечными транспортерами (OCT, OAT, MATE), было бы разумным ограничить количество исследований транспортеров *in vitro* и *in vivo* и рекомендовать их только для лекарственных средств с узким терапевтическим диапазоном.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Huang SM, Strong JM, Zhang L, Reynolds KS, Nallani S, Temple R, et al. New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process. *J Clin Pharmacol*. 2008;48(6):662–70. <https://doi.org/10.1177/0091270007312153>
2. DiMasi JA, Feldman L, Seckler A, Wilson A. Trends in risks associated with new drug development: success rates for investigational drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(3):272–7. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.295>
3. Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR, et al. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(3):203–14. <https://doi.org/10.1038/nrd3078>
4. Zamek-Gliszczynski MJ, Sangha V, Shen H, Feng B, Wittmer MB, Varma MVS, et al. Transporters in drug

- development: International transporter consortium update on emerging transporters of clinical importance. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;112(3):485–500. <https://doi.org/10.1002/cpt.2644>
5. Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KL, Chu X, et al. Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(3):215–36. <https://doi.org/10.1038/nrd3028>
 6. Iusuf D, Sparidans RW, van Esch A, Hobbs M, Kenworthy KE, van de Steeg E, et al. Organic anion-transporting polypeptides 1a/1b control the hepatic uptake of pravastatin in mice. *Mol Pharm.* 2012;9(9):2497–504. <https://doi.org/10.1021/mp300108c>
 7. Vlamming ML, Pala Z, van Esch A, Wagenaar E, de Waart DR, van de Wetering K, et al. Functionally overlapping roles of Abcg2 (Bcrp1) and Abcc2 (Mrp2) in the elimination of methotrexate and its main toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate *in vivo*. *Clin Cancer Res.* 2009;15(9):3084–93. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-2940>
 8. Masuda S, Terada T, Yonezawa A, Tanihara Y, Kishimoto K, Katsura T, et al. Identification and functional characterization of a new human kidney-specific H⁺/organic cation antiporter, kidney-specific multidrug and toxin extrusion 2. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(8):2127–35. <https://doi.org/10.1681/asn.2006030205>
 9. Ito S, Kusuhara H, Yokochi M, Toyoshima J, Inoue K, Yuasa H, et al. Competitive inhibition of the luminal efflux by multidrug and toxin extrusions, but not basolateral uptake by organic cation transporter 2, is the likely mechanism underlying the pharmacokinetic drug–drug interactions caused by cimetidine in the kidney. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;340(2):393–403. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.184986>
 10. Tsuda M, Terada T, Ueba M, Sato T, Masuda S, Katsura T, et al. Involvement of human multidrug and toxin extrusion 1 in the drug interaction between cimetidine and metformin in renal epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;329(1):185–91. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.147918>
 11. Frymoyer A, Shugarts S, Browne M, Wu AHB, Frassetto L, Benet LZ. Effect of single-dose rifampin on the pharmacokinetics of warfarin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2010;88(4):540–7. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.142>
 12. Bihorel S, Camenisch G, Lemaire M, Scherrmann JM. Modulation of the brain distribution of imatinib and its metabolites in mice by valspodar, zosuquidar and elacridar. *Pharm Res.* 2007;24(9):1720–8. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9278-4>
 13. Oostendorp RL, Buckle T, Beijnen JH, van Tellingen O, Schellens JHM. The effect of Pgp (Mdr1a/1b), BCRP (Bcrp1) and Pgp/BCRP inhibitors on the *in vivo* absorption, distribution, metabolism and excretion of imatinib. *Invest New Drugs.* 2009;27(1):31–40. <https://doi.org/10.1007/s10637-008-9138-z>
 14. Chen C, Stock JL, Liu X, Shi J, Van Deusen JW, DiMattia DA, et al. Utility of a novel Oatp1b2 knockout mouse model for evaluating the role of Oatp1b2 in the hepatic uptake of model compounds. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(9):1840–5. <https://doi.org/10.1124/dmd.108.020594>
 15. Chu XY, Strauss JR, Mariano MA, Li J, Newton DJ, Cai X, et al. Characterization of mice lacking the multidrug resistance protein MRP2 (ABCC2). *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317(2):579–89. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.098665>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: В.А. Евтеев — сбор и анализ нормативных документов; Н.Д. Бунятян — критическая переработка текста рукописи; Е.Ю. Демченкова — написание текста рукописи; А.Б. Прокофьев — формулирование концепции работы и утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Vladimir A. Evteev collected and analysed of regulatory documents. Natalia D. Bunyatyan critically revised the material. Elena Yu. Demchenkova drafted the manuscript. Alexey B. Prokofiev devised the study idea and approved the final version of the manuscript for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Евтеев Владимир Александрович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>
evteev@expmed.ru

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, профессор
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
bunyatyan@expmed.ru

Демченкова Елена Юрьевна, канд. фарм. наук
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1972-4386>
demchenkova@expmed.ru

Прокофьев Алексей Борисович, д-р мед. наук, профессор
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7024-5546>
prokofiev@expmed.ru

Поступила 03.07.2023

После доработки 04.10.2023

Принята к публикации 23.11.2023

Vladimir A. Evteev

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>
evteev@expmed.ru

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Professor
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
bunyatyan@expmed.ru

Elena Yu. Demchenkova, Cand. Sci. (Pharm.)
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1972-4386>
demchenkova@expmed.ru

Alexey B. Prokofiev, Dr. Sci. (Med.), Professor
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7024-5546>
prokofiev@expmed.ru

Received 3 July 2023

Revised 4 October 2023

Accepted 23 November 2023



О.В. Евдокимова 
А.В. Бекетова  
О.А. Наумова 
И.В. Клинова 
Т.Б. Шемерянкина 
Л.А. Ладыгина 
К.С. Бущик 

Современные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов

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

✉ Бекетова Анастасия Викторовна; beketova@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Сердечные гликозиды более двух столетий находят применение в медицине. Данные современных исследований позволяют рассматривать перспективу применения биологически активных веществ этой группы не только в кардиологии, но и для лечения вирусных, онкологических и других заболеваний. Таким образом, актуальность выбора методов контроля качества сердечных гликозидов возрастает.

Цель. На основе анализа отечественных и зарубежных стандартов качества, а также современных научных данных выявить перспективные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и лекарственных препаратах и оценить возможность использования физико-химических методов взамен биологических.

Обсуждение. Используемые в настоящее время методы стандартизации сердечных гликозидов являются неселективными или предусматривают использование лабораторных животных (биологические тест-системы). При изучении фармакопейных методов идентификации сердечных гликозидов как в ЛРС, так и в составе лекарственных средств было показано, что актуальным остается использование химических методов (качественных реакций) и тонкослойной хроматографии. Установлено, что при количественной оценке ЛРС и экстракционных препаратов из него используются биологические или неселективные (спектрофотометрические) методы, хроматографические методы представлены только в фармакопейных статьях и монографиях на субстанции, содержащие индивидуальные сердечные гликозиды, и лекарственные препараты на их основе. Проведенный анализ стандартов качества и научных публикаций позволил выявить перспективные методы количественного определения сердечных гликозидов как в ЛРС, так и в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Такими методами могут быть хроматографические методы.

Выводы. Наиболее приемлемым методом для фармакопейного анализа является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием. Разработка ВЭЖХ-методики количественного определения сердечных гликозидов позволит перейти от использования биологических или неселективных методов при анализе сердечных гликозидов к современному селективному методу анализа.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье; сердечные гликозиды; стандартизация; качественные реакции; тонкослойная хроматография; высокоэффективная жидкостная хроматография; фармакопейные требования

Для цитирования: Евдокимова О.В., Бекетова А.В., Наумова О.А., Климова И.В., Шемерянкина Т.Б., Ладыгина Л.А., Бушчик К.С. Современные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):567–577. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

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

Olga V. Evdokimova 
Anastasia V. Beketova 
Olga A. Naumova 
Irina V. Klinkova 
Tatiana B. Shemeryankina 
Liana A. Ladygina 
Kristina S. Bushchik 

Modern Methods for Identification and Quantification of Cardiac Glycosides

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

✉ Anastasia V. Beketova; beketova@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Cardiac glycosides have been used in medicine for over two centuries. Current studies suggest that biologically active substances from this group can be used to treat not only heart conditions but also viral infections, cancers, and other diseases. Therefore, quality control methods for cardiac glycosides are becoming increasingly relevant.

Aim. Based on a review of Russian and international quality standards, as well as up-to-date scientific data, this study aimed to identify promising methods for the identification and quantification of cardiac glycosides in herbal drugs and herbal medicinal products, as well as to evaluate the possibility of substituting physicochemical methods for biological methods.

Discussion. The methods that are currently used to standardise cardiac glycosides are either not selective or require laboratory animals (biological test systems). According to a study of pharmacopoeial methods for the identification of cardiac glycosides in herbal drugs and herbal medicinal products, chemical identification tests and thin-layer chromatography continue to be relevant. Quantitative testing of herbal drugs and extracts uses biological and non-selective (spectrophotometry) methods, whereas chromatography is described only in general and individual monographs for herbal drug preparations containing individual cardiac glycosides and medicinal products containing these preparations. Upon analysing quality standards and scientific publications, the authors identified potentially promising methods for the quantification of cardiac glycosides in herbal drugs, herbal drug preparations, and herbal medicinal products, namely chromatographic methods.

Conclusions. Reverse-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) with spectrophotometric detection is the most suitable method for pharmacopoeial analysis. The development of an HPLC-based analytical procedure to determine the cardiac glycoside content will provide an opportunity to advance from biological or non-selective methods to more ethical and selective up-to-date techniques.

Keywords: herbal drugs; cardiac glycosides; standardisation; qualitative reactions; thin-layer chromatography; high-performance liquid chromatography; pharmacopoeia

For citation: Evdokimova O.V., Beketova A.V., Naumova O.A., Klinkova I.V., Shemeryankina T.B., Ladygina L.A., Bushchik K.S. Modern methods for identification and quantification of cardiac glycosides. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):567–577. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121021800098-4).

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

Введение

Применение лекарственных средств из лекарственного растительного сырья (ЛРС) обусловлено рядом преимуществ: эффективность, хорошая переносимость, низкая стоимость, биоразлагаемость и отсутствие экологического вреда. Кроме того, ЛРС является источником индивидуальных биологически активных веществ, образующихся в результате первичного и вторичного метаболизма, что дает возможность создавать новые лекарственные препараты на их основе [1]. Сердечные гликозиды (СГ) находят применение в медицинской практике более двухсот лет [2, 3]. Они представляют собой вторичные метаболиты, продуцируемые растениями, принадлежащими, в частности, к родам *Convallaria* (ландыш), *Adonis* (горичвет), *Digitalis* (наперстянка) и *Drimys* (морской лук), *Nerium* (олеандр), *Erysimum* (желтушник), *Strophanthus* (строфант). С химической точки зрения СГ относятся к стероидам, имеющим в структуре агликона ядро циклопентанпергидрофенантрена. От прочих стероидов они отличаются наличием в положении C₁₇ ненасыщенного лактонного кольца. По величине лактонного цикла разной степени насыщенности они классифицируются на карденолиды и буфадиенолиды [4].

В определенном диапазоне доз СГ имеют длительную историю использования в качестве лекарственных средств при лечении различных сердечно-сосудистых заболеваний [5–11]. На отечественном фармацевтическом рынке СГ представлены как однокомпонентными, так и комбинированными лекарственными препаратами, применяемыми при сердечно-сосудистых патологиях (табл. 1). Многие из этих препаратов не одно десятилетие используются при острой и хронической сердечной недостаточности и различных видах тахикардии (пароксизмальная форма фибрилляции предсердий, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия).

Согласно данным литературы, СГ представляют интерес не только для применения в кардиологии [12], но и в других областях медицины. Проведенные исследования показали, что СГ обладают ингибирующим действием на вирусы (герпеса, ВИЧ, аденовирусы) [13–16], нейропротекторной активностью при ишемическом

инсульте [17] и антиноцицептивным действием [18]. Выявлена повышенная восприимчивость опухолевых клеток к СГ при нейробластоме [19], раке легких [20–24], предстательной железы [25–27], молочной железы [28–30], кожи [31], крови [24, 30, 32–35] и почек [24, 30]. Эти данные свидетельствуют о перспективности разработки лекарственных препаратов на основе СГ не только для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель работы – на основе анализа отечественных и зарубежных стандартов качества, а также современных научных данных выявить перспективные методы идентификации и количественного определения сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных препаратах и оценить возможность использования физико-химических методов взамен биологических.

Сравнительный анализ фармакопейных методов контроля качества сердечных гликозидов

Фармакопейные статьи и монографии на ЛРС, содержащее СГ, представлены как в отечественной фармакопее, так и в зарубежных фармакопеях (табл. 2, опубликована на сайте журнала)¹, на некоторые виды ЛРС стандартов качества нет ни в одной из ведущих фармакопей мира. Это наперстянки шерстистой листья, строфанта приятного семени и строфанта Комбе семени. В Японской фармакопее² и фармакопее КНР³ отсутствуют монографии на ЛРС, содержащее СГ.

Сравнительный анализ показал, что для идентификации СГ в ЛРС согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) используют в основном химические методы (качественные реакции), а для количественного определения – биологические методы оценки активности⁴. Анализ монографий Европейской, Французской, Британской фармакопей, а также фармакопей США и республики Беларусь показал, что определение подлинности в основном проводится методом тонкослойной хроматографии и химическими методами (качественные реакции), а количественная оценка – методом спектрофотометрии.

Использование качественных реакций и тонкослойной хроматографии при сравнении

¹ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577-tabl2>

² Japanese Pharmacopoeia. 17th ed. Tokyo; 2016.

³ Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Vol. I. Beijing: China Medical Science and Technology Press; 2015.

⁴ ОФС.1.2.4.0009.15 Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Таблица 1. Лекарственные препараты на основе сердечных гликозидов, зарегистрированные в Российской Федерации⁵

Table 1. Medicinal products containing cardiac glycosides approved in the Russian Federation⁵

Лекарственное растительное сырье <i>Herbal drugs</i>	Международное непатентованное наименование или группировочное (химическое) наименование лекарственного препарата <i>International non-proprietary or grouping (chemical) names of herbal medicinal products</i>
Горицвета весеннего трава <i>Adonis vernalis herbae</i> <i>Adonis vernalis herb</i>	Горицвета весеннего травы экстракт сухой+калия бромид <i>Dry extract of Adonis vernalis herb + potassium bromide</i>
	Боярышника плодов экстракт жидкий+валерианы лекарственной корневищ с корнями свежих настойка+горицвета весеннего травы сумма сердечных гликозидов (адонизид)+желтушника раскидистого травы экстракт жидкий+камфора+натрия бромид <i>Hawthorn berry liquid extract + valerian rhizome and root tincture + Adonis vernalis herb total cardiac glycosides (adoniside) + diffuse erysimum herb liquid extract + camphor gum + sodium bromide</i>
Желтушника раскидистого трава <i>Erysimum diffusum Ehrh. herbae</i> <i>Diffuse erysimum herb</i>	Боярышника плодов экстракт жидкий+валерианы лекарственной корневищ с корнями свежих настойка+горицвета весеннего травы сумма сердечных гликозидов (адонизид)+желтушника раскидистого травы экстракт жидкий+камфора+натрия бромид <i>Hawthorn berry liquid extract + valerian rhizome and root tincture + Adonis vernalis herb total cardiac glycosides (adoniside) + diffuse erysimum herb liquid extract + camphor gum + sodium bromide</i>
Ландыша трава <i>Convallariae herba</i> <i>Lily of the valley herb</i>	Ландыша травы настойка <i>Lily of the valley herb tincture</i>
	Валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка <i>Valerian rhizome and root tincture + lily of the valley herb tincture</i>
	Ландыша травы настойка+пустырника травы настойка <i>Lily of the valley herb tincture + motherwort herb tincture</i>
	Валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка+левоментола раствор в ментилизованалерате+нитроглицерин <i>Valerian rhizome and root tincture + lily of the valley herb tincture + levomenthol solution in menthyl isovalerate + nitroglycerin</i>
	Белладонны настойка+валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка+ландыша травы настойка+левоментол <i>Belladonna tincture + valerian rhizome and root tincture + lily of the valley herb tincture + levomenthol</i>
	Боярышника плодов экстракт жидкий+крапивы двудомной листьев экстракт жидкий+ландыша травы настойка <i>Hawthorn berry liquid extract + nettle leaf liquid extract + lily of the valley herb tincture</i>
	Ландыша листьев сумма гликозидов <i>Lily of the valley leaf total glycosides</i>
Наперстянки шерстистой листья <i>Digitalis lanata Ehrh. folia</i> <i>Grecian foxglove leaf</i>	Ланатозид Ц <i>Lanatoside C</i>
	Дигоксин <i>Digoxin</i>
Строфанта приятного семена <i>Strophanthus gratus (Wall. & Hook.) Baill. semen</i> <i>Spiny-flowered strophanthus seed</i>	Убаин (строфантин Г) <i>Oubain (g-strophanthin)</i>
Строфанта Комбе семена <i>Strophanthus kombe Oliv. semen</i> <i>Kombe strophanthus seed</i>	Строфантин К <i>K-strophanthin</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

со стандартными образцами позволяет простыми, достоверными и доступными методами идентифицировать СГ. Основным недостатком количественного анализа СГ, основанного на образовании окрашенных продуктов с их последующим спектрофотометрическим определением,

является отсутствие специфичности. При анализе извлечений из ЛРС или лекарственных препаратов, полученных путем экстракции, т.е. суммы веществ, использование метода спектрофотометрии может приводить к завышенным результатам.

⁵ <https://grls.rosminzdrav.ru/>

Биологические методы количественной оценки СГ основаны на их способности в токсических дозах вызывать систолическую остановку сердца животных разных видов (лягушек⁶ и голубей⁷). Проведение испытаний на животных (использование биологических тест-систем) связано с возникновением ряда этических проблем и может считаться недостатком метода. Кроме того, биологические методы определения СГ не всегда обеспечивают желаемую воспроизводимость и точность результатов (ошибка анализа составляет от 10 до 25%), носят сезонный характер (для лягушек). Учитывая перечисленные недостатки биологических методов, а также положения Директивы № 2010/63/ЕС⁸, для реализации поиска возможных альтернативных путей проведения научных исследований без участия животных необходимо разработать специфические физико-химические методы анализа СГ.

Сравнительный анализ фармакопейных статей и монографий на фармацевтические субстанции и лекарственные препараты, полученные из ЛРС, содержащего СГ, показал, что идентификацию субстанций осуществляют методом ИК-спектроскопии, химическими методами (качественные реакции) и хроматографическими методами (тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная хроматография (ВЭЖХ)), а лекарственных препаратов – химическими методами (качественные реакции) и методами ТСХ и ВЭЖХ (табл. 3, опубликована на сайте журнала)⁹.

Качественные реакции для идентификации СГ, представленные во всех ведущих мировых фармакопеях, позволяют подтвердить присутствие той или иной функциональной группы: стероидного ядра, лактонного кольца, углеводной части молекулы (табл. 4). Реакция Келлера – Килиани включена во все фармакопеи для идентификации СГ наперстянок пурпурной и шерстистой; реакция Балье используется для определения подлинности ЛРС и препаратов ландыша, а также ЛРС желтушника раскидистого согласно требованиям ГФ РФ; реакция Пезеца используется при анализе ЛРС наперстянки пурпурной по фармакопее Республики Беларусь; реакция Легала – при оценке ЛРС горицвета весеннего и желтушника раскидистого согласно ГФ РФ; реакция Раймонда – для убаина по требованиям

Европейской и Британской фармакопей и для препаратов наперстянки шерстистой согласно требованиям фармакопей Японии, США и Китая (табл. 2, 3, опубликованы на сайте журнала)¹⁰.

Количественная оценка проводится в основном методом ВЭЖХ, очень редко биологическими методами. Использование метода спектрофотометрии оправданно и проводится только в случае анализа фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, содержащих индивидуальные СГ (табл. 3).

Сравнительный анализ методов контроля качества сердечных гликозидов, описанных в научной литературе

Результаты анализа научной литературы свидетельствуют о том, что для обнаружения СГ в различных объектах (растительное сырье, биологические жидкости) является актуальным проводить идентификацию с помощью качественных реакций, различных видов тонкослойной хроматографии (двумерная, высокоэффективная), а также другими хроматографическими методами (табл. 5).

Количественную оценку проводят методом ВЭЖХ с постколоночной дериватизацией; методами жидкостной и газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (табл. 5). Преимуществами этих методов являются хорошая специфичность, линейность, точность и расширенная неопределенность измерений, возможность проводить одновременный анализ смеси веществ, что находит свое применение в исследовательской работе, при анализе биологических материалов (тканей, сыворотки крови, мочи) в токсикологии, в том числе для подтверждения профиля и структуры СГ при отравлениях животных, в том числе домашнего скота, и людей. Эти методы разработаны недавно и для природных объектов не нашли пока широкого распространения, они требуют высокотехнологичного оборудования, анализ занимает много времени и имеет высокую стоимость.

Иммунохимические методы (иммуоферментный флуоресцентный поляризационный анализ, иммуоферментный анализ, радиоиммунологический анализ) обладают высокой чувствительностью и селективностью, занимают первое

⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

⁷ United States Pharmacopeia. USP–NF. Rockville, MD; 2023.

⁸ Директива № 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского союза «О защите животных, использующихся в научных целях». Страсбург; 2010.

⁹ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577-tabl3>

¹⁰ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577-tabl2>

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577-tabl3>

Таблица 4. Основные качественные реакции на сердечные гликозиды

Table 4. Main identification tests for cardiac glycosides

Функциональные группы <i>Functional groups</i>	Качественные реакции <i>Identification tests</i>
Стероидное кольцо <i>Steroid ring</i>	Реакция Либермана – Бурхарда со смесью уксусного ангидрида и кислоты серной концентрированной (50:1) – сине-зеленое окрашивание; с реактивом Чугаева с хлоридом цинка и ацетилхлоридом в кислоте уксусной – розовое окрашивание; реакция Розенгейма с трихлоруксусной кислотой – розовое окрашивание, переходящее в розово-фиолетовое или синее <i>The Lieberman–Burchard test with a mixture of acetic anhydride and concentrated sulphuric acid (50:1) produces a blue-green colour. The test with Chugaev's reagent using zinc chloride and acetyl chloride in acetic acid produces a pink colour. The Rosenheim test with trichloroacetic acid produces a pink colour turning into pink-violet or blue</i>
Лактонное кольцо* <i>Lactone ring*</i>	Реакция Кедде с кислотой 3,5-динитробензойной – фиолетово-красное окрашивание (специфическая реакция на γ -лактонное кольцо карденолидов); реакция Легала с натрия нитропруссидом – красное окрашивание; реакция Раймонда с м-динитробензолом в бензоле – фиолетовое окрашивание; реакция Балье с кислотой пикриновой в щелочной среде – оранжевое окрашивание <i>The Kedde test with 3,5-dinitrobenzoic acid produces a violet-red colour (specific for the γ-lactone ring of cardenolides). The Legal test with sodium nitroprusside produces a red colour. The Raymond test with m-dinitrobenzene in benzene produces a violet colour. The Baljet test with picric acid in an alkaline medium produces an orange colour</i>
Углеводный остаток <i>Carbohydrate residue</i>	Реакция Келлера – Килиани со смесью ледяной кислоты уксусной, содержащей следы железа (III) сульфата, и серной кислоты концентрированной со следами железа (III) хлорида – серовато-синее окрашивание; ди- и тригликозиды (К-строфантин и строфантозид) не вступают в реакцию Келлера – Килиани, поэтому сначала проводят гидролиз гликозида кислотой трихлоруксусной, а свободный 2-дезоксисахар обнаруживают по голубому окрашиванию после реакции с п-нитрофенилгидразином в щелочной среде; реакция Пезеца с ксантгидролом в присутствии уксусной кислоты с последующим добавлением нескольких капель H_2SO_4 (или H_3PO_4) – красное окрашивание <i>The Keller–Kiliani test with a mixture of glacial acetic acid containing traces of iron (III) sulphate and concentrated sulphuric acid with traces of iron (III) chloride produces a grayish-blue colour. Di- and triglycosides (K-strophanthin and strophanthoside) do not react in the Keller–Kiliani test, therefore, a glycoside is first hydrolysed with trichloroacetic acid, and free 2-deoxysugar is detected by its blue colour after the reaction with n-nitrophenylhydrazine in an alkaline medium. The Pessez test with xanthidrol in the presence of acetic acid, with subsequent addition of a few drops of H_2SO_4 (or H_3PO_4), produces a red colour</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

* Специфические реакции на шестичленное дважды ненасыщенное лактонное кольцо не найдены. Подлинность буфадиенолидов определяют по наличию характерной полосы поглощения в ультрафиолетовой области спектра при длине волны 300 нм, в отличие от карденолидов, которые в этих условиях поглощают при 215–220 нм.

* Specific tests for the six-membered doubly unsaturated lactone ring have not been found. Bufadienolides are identified by the characteristic ultraviolet absorption band at 300 nm, in contrast to cardenolides with the absorption at 215–220 nm under the same conditions.

место по частоте использования для анализа СГ в биологических жидкостях (моче, плазме крови) (табл. 5).

В фармацевтическом анализе чаще всего используют высокоэффективную жидкостную хроматографию и фотометрию. Однако фотометрические методики, основанные на химических реакциях с 2,2',4,4'-тетранитродифенилом, пикриновой кислотой и т.п. [36, 37], не позволяют их использовать при анализе многокомпонентных комплексных лекарственных препаратов с СГ из-за низкой селективности.

Наиболее перспективным методом для анализа лекарственных средств, содержащих СГ, является метод ВЭЖХ, который позволяет проводить анализ смеси веществ, метод высокоселективный и экспрессивный, дает правильные и достоверные результаты анализа, обладает низким

пределом обнаружения и широким диапазоном линейности, оборудование доступно и позволяет полностью автоматизировать анализ (табл. 5). Есть данные о том, что результаты, полученные методом ВЭЖХ, коррелируют с результатами анализа СГ иммунохимическими методами, в частности с результатами, полученными иммуноферментным методом [62].

Хроматографическое разделение СГ проводят на прямой и обращенной фазах, используя изократический и градиентный режимы элюирования. В настоящее время чаще всего применяют колонки с обращенной фазой (C_{18}) и градиентный режим элюирования. В качестве подвижной фазы, как правило, берут воду, ацетонитрил, метанол иногда с добавлением аммония ацетата, аммония гидрокарбоната, трифторуксусной или ортофосфорной кислот в различных соотношениях. Используют селективные

Таблица 5. Методы анализа сердечных гликозидов, описанные в научной литературе

Table 5. Testing methods for cardiac glycosides described in the scientific literature

Показатель качества <i>Quality parameter</i>		Источник литературы <i>Reference</i>
Идентификация <i>Identification</i>	Количественное определение <i>Assay</i>	
Качественные реакции <i>Identification tests</i>		[38]
Двумерная ТСХ <i>2D TLC</i>		[39]
	ВЭЖХ с постколоночной дериватизацией <i>HPLC with post-column derivatisation</i>	[40]
ВЭТСХ <i>HPTLC</i>		[41]
ВЭЖХ-МС <i>HPLC-MS</i>	ВЭЖХ-МС <i>HPLC-MS</i>	[42–59]
	Иммуноферментный флуоресцентный поляризационный анализ <i>Fluorescence polarisation immunoassay</i>	[60, 61]
	Иммуноферментный анализ <i>Enzyme immunoassay</i>	[61–63]
ОФ-ВЭЖХ <i>RP-HPLC</i>	ОФ-ВЭЖХ <i>RP-HPLC</i>	[62, 64–70]
	Радиоиммунологический анализ <i>Radioimmunoassay</i>	[69]
ГХ-МС <i>GC-MS</i>	ГХ-МС <i>GC-MS</i>	[71, 72]
	Фотометрия <i>Photometry</i>	[36, 37]

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Примечание. ТСХ — тонкослойная хроматография; ГХ-МС — газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; ВЭЖХ-МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; ОФ-ВЭЖХ — обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография; ВЭТСХ — высокоэффективная тонкослойная хроматография.

Note. TLC, thin-layer chromatography; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry; HPLC-MS, high-performance liquid chromatography-mass spectrometry; RP-HPLC, reversed-phase high-performance liquid chromatography; HPTLC, high-performance thin-layer chromatography.

детекторы диодно-матричные или спектрофотометрические при длине волны 220 нм (иногда 218 или 222 нм).

В настоящее время в стандартах качества на ЛРС, содержащее СГ, как в России, так и за рубежом ВЭЖХ-методики отсутствуют, однако в зарубежных фармакопеях (кроме Французской фармакопеи) представлены отдельные монографии (табл. 3, опубликована на сайте журнала)¹¹, согласно которым качество фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов индивидуальных СГ оценивается методом ВЭЖХ. Кроме того, в научной литературе уже встречаются результаты разработки и использования метода ВЭЖХ для анализа ЛРС, содержащего СГ [62, 64–66, 70].

Проведенный анализ научных исследований показал перспективность использования хроматографических методов для идентификации и количественного определения СГ с последующим включением разработанных методик в стандарты качества [73, 74].

Заключение

В результате сравнительного анализа фармакопейных методов идентификации сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье и в лекарственных средствах было показано, что актуальным остается использование химических методов (качественных реакций) и хроматографических методов (ТСХ). Установлено, что при количественной оценке лекарственного растительного сырья и экстракционных

¹¹ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-567-577-tabl3>

препаратов из него используют биологические или неселективные методы, при этом хроматографические методы представлены только в фармакопейных статьях и монографиях на субстанции, содержащие индивидуальные сердечные гликозиды, и лекарственные препараты на их основе.

Проведенный анализ стандартов качества и данных научной литературы позволил выявить наиболее перспективные методы количественного определения сердечных гликозидов как в лекарственном растительном сырье, так

и в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Такими методами могут быть хроматографические методы (ВЭЖХ-МС, ГХ-МС, ОФ-ВЭЖХ и др.).

Наиболее приемлемым для фармакопейного анализа является обращенно-фазовая высокоэффективная хроматография с УФ-детектированием. Разработка ВЭЖХ-методики количественного определения сердечных гликозидов позволит перейти от использования биологических или неселективных методов к современному физико-химическому методу анализа.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ribeiro WLC, Macedo ITF, Santos JML, Oliveira EF, Camurça-Vasconcelos ALF, Paula HCB, et al. Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. *Exp Parasitol*. 2013;135(1):24–9. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.014>
2. Rietbrock N, Woodcock B. Two hundred years of foxglove therapy *Digitalis purpurea* 1785–1985. *Trends Pharmacol Sci*. 1985;6:267–9. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(85\)90123-3](https://doi.org/10.1016/0165-6147(85)90123-3)
3. Wade OL. Digoxin 1785–1985. I. Two hundred years of digitalis. *J Clin Hosp Pharm*. 1986;11(1):3–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.1986.tb00822.x>
4. El-Seedi HR, Khalifa SAM, Taher EA, Farag MA, Saeed A, Gamal M, et al. Cardenolides: Insights from chemical structure and pharmacological utility. *Pharmacol Res*. 2019;141:123–75. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.12.01>
5. Дукельская НК, Гармашова ИВ, Давыдова МВ. Сравнительный анализ препаратов сердечных гликозидов, используемых в современной фармакотерапии. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020;39(S3–4):82–5. Dukelskaya NK, Garmashova IV, Davydova MV. Comparative analysis of the products of cardiac glycosides used in modern pharmacotherapy. *Russian Military Medical Academy Report*. 2020;39(S3–4):82–5 (In Russ.). EDN: [SNCYHH](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.12.01)
6. Kanji S, MacLean RD. Cardiac glycoside toxicity: more than 200 years and counting. *Crit Care Clin*. 2012;28(4):527–35. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2012.07.005>
7. Morsy N. Cardiac glycosides in medicinal plants. In: El-Shemy HA, ed. *Aromatic and Medicinal Plants – Back to Nature*. London: InTechOpen; 2017. <https://doi.org/10.5772/65963>
8. Botelho AFM, Pierezan F, Soto-Blanco B, Melo MM. A review of cardiac glycosides: Structure, toxicokinetics, clinical signs, diagnosis and antineoplastic potential. *Toxicon*. 2019;158:63–8. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.429>
9. Pongrakhananon V. Anticancer properties of cardiac glycosides. In: Rangel L, ed. *Cancer Treatment – Conventional and Innovative Approaches*. London: Intechopen; 2013. <https://doi.org/10.5772/55381>
10. Гуревич МА, Гаврилин АА. Сердечные гликозиды в современной клинической практике. *Альманах клинической медицины*. 2014;(35):101–5. Gurevich MA, Gavrilin AA. Cardiac glycosides in up-to-date clinical practice. *Almanac of Clinical Medicine*. 2014;(35):101–5 (In Russ.). <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2014-35-101-105>
11. Мареев ВЮ, Агеев ФТ, Арутюнов ГП, Коротеев АВ, Мареев ЮВ, Овчинников АГ и др. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Сердечная недостаточность*. 2013;14(7):372–9. Mareev VYu, Ageev FT, Arutyunov GP, Koroteev AV, Mareev YuV, Ovchinnikov AG, et al. SEHF, RSC AND RSMSIM National guidelines on CHF diagnostics and treatment (fourth revision). *Heart Failure*. 2013;14(7):372–9 (In Russ.). EDN: [VHDBDT](https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.022)
12. Philippe G, Angenot L. Recent developments in the field of arrow and dart poisons. *J. Ethnopharmacol*. 2005;100(1–2):85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.022>
13. Bertol W, Rigotto C, Maia de Pádua R, Kreis W, Monte Barardi CR, Braga FC, Simões CMO. Antiherpes activity of glucoevatromonoside, a cardenolide isolated from a Brazilian cultivar of *Digitalis lanata*. *Antiviral Res*. 2011;92(1):73–80. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.06.015>
14. Zhyvoloup A, Melamed A, Anderson I, Planas D, Lee C-H, Kriston-Vizi J, et al. Digoxin reveals a functional connection between HIV-1 integration preference and T-cell activation. *PLoS Pathog*. 2017;13(7):e1006460. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006460>
15. Wong RW, Balachandran A, Ostrowski MA, Cochrane A. Digoxin suppresses HIV-1 replication by altering viral RNA processing. *PLoS Pathog*. 2013;9(3):e1003241. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003241>
16. Grosso F, Stoilov P, Lingwood C, Brown M, Cochrane A. Suppression of adenovirus replication by cardiotonic steroids. *J Virol*. 2017;91(3):e01623–16. <https://doi.org/10.1128/jvi.01623-16>
17. Wang JKT, Portbury S, Thomas MB, Barney S, Ricca DJ, Morris DL, et al. Cardiac glycosides provide neuroprotection against ischemic stroke: Discovery by a brain slice-based compound screening platform. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(27):10461–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600930103>
18. Пеннийянен ВА, Плахова ВБ, Подзорова СА, Терехин СГ, Крылов БВ. Возможная физиологическая функция эндогенного убаина. *Интегративная физиология*. 2021;2(1):96–101. Penniainen VA, Plakhova VB, Podzorova SA, Terexhin SG, Krylov BV. Possible physiological func-

- tion of endogenous ouabain. *Integrative Physiology*. 2021;2(1):96–101 (In Russ.).
<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-96-101>
19. Kulikov A, Eva A, Kirch U, Boldyrev A, Scheiner-Bobis G. Ouabain activates signaling pathways associated with cell death in human neuroblastoma. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1768(7):1691–702.
<https://doi.org/10.1016/j.bbame.2007.04.012>
20. Lin SY, Chang HH, Lai YH, Lin CH, Chen MH, Chang GC, et al. Digoxin suppresses tumor malignancy through inhibiting multiple Src-related signaling pathways in non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2015;10(5):e0123305.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123305>
21. Mijatovic T, Mathieu V, Gaussin JF, De Neve N, Ribaucour F, Van Quaquebeke, et al. Cardenolide-induced lysosomal membrane permeabilization demonstrates therapeutic benefits in experimental human non-small cell lung cancers. *Neoplasia*. 2006;8(5):402–12.
<https://doi.org/10.1593/neo.05850>
22. Mijatovic T, De Beeck AO, Van Quaquebeke EV, Dewelle J, Darro F, de Launoit Y, Kiss R. The cardenolide UNBS1450 is able to deactivate nuclear factor κ B-mediated cytoprotective effects in human non-small cell lung cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2006;5(2):391–9.
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-05-0367>
23. Frese S, Frese-Schaper M, Andres AC, Miescher D, Zumkehr B, Schmid RA. Cardiac glycosides initiate Apo2L/TRAIL-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells by up-regulation of death receptors 4 and 5. *Cancer Res*. 2006;66(11):5867–74.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-3544>
24. Johansson S, Lindholm P, Gullbo J, Larsson R, Bohlin L, Claeson P, et al. Cytotoxicity of digitoxin and related cardiac glycosides in human tumor cells. *Anticancer Drugs*. 2001;12(5):475–83.
<https://doi.org/10.1097/00001813-200106000-00009>
25. McConkey DJ, Lin Y, Nutt LK, Ozel HZ, Newman RA. Cardiac glycosides stimulate Ca^{2+} increases and apoptosis in androgen-independent, metastatic human prostate adenocarcinoma cells. *Cancer Res*. 2000;60(14):3807–12. PMID: 10919654
26. Huang YT, Chueh SC, Teng CM, Guh JH. Investigation of ouabain-induced anticancer effect in human androgen-independent prostate cancer PC-3 cells. *Biochem Pharmacol*. 2004;67(4):727–33.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.10.013>
27. Yeh JY, Huang WJ, Kan SF, Wang PS. Effects of bufalin and cinobufagin on the proliferation of androgen dependent and independent prostate cancer cells. *Prostat*. 2003;54(2):112–24.
<https://doi.org/10.1002/pros.10172>
28. Chen JQ, Contreras RG, Wang R, Fernandez SV, Shoshani L, Russo IH, et al. Sodium/potassium ATPase (Na⁺, K⁺-ATPase) and ouabain/related cardiac glycosides: A new paradigm for development of anti-breast cancer drugs. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;96(1):1–15.
<https://doi.org/10.1007/s10549-005-9053-3>
29. Bielawski K, Winnicka K, Bielawska A. Inhibition of DNA topoisomerases I and II, and growth inhibition of breast cancer MCF-7 cells by ouabain, digoxin and proscillaridin. *Biol Pharm Bull*. 2006;29(7):1493–7.
<https://doi.org/10.1248/bpb.29.1493>
30. Lopez-Lazaro M, Pastor N, Azrak SS, Ayuso MJ, Austin CA, Cortes F. Digitoxin inhibits the growth of cancer cell lines at concentrations commonly found in cardiac patients. *J Nat Prod*. 2005;68(11):1642–5.
<https://doi.org/10.1021/np050226l>
31. Newman RA, Yang P, Hittelman WN, Lu T, Ho DH, Ni D, et al. Oleandrin-mediated oxidative stress in human melanoma cells. *J Exp Ther Oncol*. 2006;5(3):167–81. PMID: 16528968
32. Masuda Y, Kawazoe N, Nakajo S, Yoshida T, Kuroiwa Y, Nakaya K. Bufalin induces apoptosis and influences the expression of apoptosis-related genes in human leukemia cells. *Leuk Res*. 1995;19(8):549–56.
[https://doi.org/10.1016/0145-2126\(95\)00031-i](https://doi.org/10.1016/0145-2126(95)00031-i)
33. Jing Y, Ohizumi H, Kawazoe N, Hashimoto S, Masuda Y, Nakajo S, et al. Selective inhibitory effect of bufalin on growth of human tumor cells in vitro: association with the induction of apoptosis in leukemia HL-60 cells. *Jpn J Cancer Res*. 1994;85(6):645–51.
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.1994.tb02408.x>
34. Kawazoe N, Watabe M, Masuda Y, Nakajo S, Nakaya K. Tiam1 is involved in the regulation of bufalin-induced apoptosis in human leukemia cells. *Oncogene* 1999;18(15):2413–21.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202555>
35. Watabe M, Kawazoe N, Masuda Y, Nakajo S, Nakaya K. Bcl-2 protein inhibits bufalin-induced apoptosis through inhibition of mitogen-activated protein kinase activation in human leukemia U937 cells. *Cancer Res*. 1997;57(15):3097–100. PMID: 9242431
36. Круглов ДС, Кошкарёва КЕ. Количественное определение конваллятоксина в растительном сырье, содержащем кардиостероиды, методом фотометрии. *Сибирский медицинский вестник*. 2019;(4):34–7. Kruglov DS, Koshkareva KE. Quantitative estimation of convallatoxin in plant raw material containing cardioteroids by photometry. *Sibirskij Medicinskij Vestnik*. 2019;(4):34–7 (In Russ.). EDN: LHXXYU
37. Власенко ЛМ. Определение гликозидов дигиталиса в трупном материале фотометрическим методом на основе реакции взаимодействия с 2,2',4,4'-тетранитродифенилом. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1976;(4):23–7. Vlasenko LM. Determination of digitalis glycosides in cadaveric material by a photometric method based on the reaction of interaction with 2,2',4,4'-tetranitrophenyl. *Forensic Medical Examination*. 1976;(4):23–7 (In Russ.).
38. Hassan MHA, Ismail MA, Moharram AM, Shoreit AAM. Photochemical and antimicrobial of latex serum of *Calotropis procera* and its silver nanoparticles against some reference pathogenic strains. *J Ecol Health Environ*. 2017;5(3):65–75.
<https://doi.org/10.18576/jeh/050301>
39. Galey FD, Holstege DM, Plumlee KH, Tor E, Johnson B, Anderson ML, et al. Diagnosis of oleander poisoning in livestock. *J Vet Diagn Invest*. 1996;8(3):358–64.
<https://doi.org/10.1177/104063879600800314>
40. Hamada K, Iwamoto A, Miyazaki S, Yamanaka N, Gurge KS. Determination of bovine blood oleandrin by high-performance liquid chromatography and postcolumn derivatization. *J Chromatogr Sci*. 2002;40(9):515–8.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/40.9.555>
41. Praveen US, Gowtham MD, Yogaraje-Gowda CV, Nayak VG, Mohan BM. Detection of residues of cardenolides of *Nerium oleander* by high-performance thin-layer chromatography in autopsy samples. *Int J Med Toxicol Forensic Med*. 2012;2(4):135–42.
[https://doi.org/10.22037/ijmtfm.v2i4\(Autumn\).3758](https://doi.org/10.22037/ijmtfm.v2i4(Autumn).3758)
42. Tymiak AA, Norman JA, Bolgar M, DiDonato GC, Lee H, Parker WL, et al. Physicochemical characterization of

- a ouabain isomer isolated from bovine hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(17):8189–93.
<https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.8189>
43. Baecher S, Kroiss M, Fassnacht M, Vogeser M. No endogenous ouabain is detectable in human plasma by ultra-sensitive UPLC-MS/MS. *Clin Chim Acta*. 2014;431:87–92.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.038>
 44. Bylda C, Thiele R, Kobold U, Volmer DA. Simultaneous quantification of digoxin, digitoxin, and their metabolites in serum using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2015;7(10):937–46.
<https://doi.org/10.1002/dta.1781>
 45. Frommherz L, Köhler H, Brinkmann B, Lehr M, Beike J. LC-MS assay for quantitative determination of cardio glycoside in human blood samples. *Int J Legal Med*. 2008;122(2):109–14.
<https://doi.org/10.1007/s00414-007-0175-5>
 46. Gopal Ravi B, Grace Guardian ME, Dickman R, Wang ZQ. Profiling and structural analysis of cardenolides in two species of *Digitalis* using liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2020;1618:460903.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460903>
 47. Gosetti F, Nebbia C, Ceci L, Carelli G, Marengo E. UHPLC-MS/MS determination of oleandrin in blood and tissues of dairy cattle poisoned by oleander (*Nerium oleander*). *Anal Methods*. 2019;11:5562–7.
<https://doi.org/10.1039/C9AY01800J>
 48. Gozalpour E, Greupink R, Bilos A, Verweij V, van den Heuvel J, Masereeuw R, et al. Convallatoxin: A new P-glycoprotein substrate. *Eur J Pharmacol*. 2014;744:18–27.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.09.031>
 49. Gozalpour E, Greupink R, Wortelboer HM, Bilos A, Schreurs M, Russel FGM, Koenderink JB. Interaction of digitalis-like compounds with liver uptake transporters NTCP, OATP1B1, and OATP1B3. *Mol Pharm*. 2014;11(6):1844–55.
<https://doi.org/10.1021/mp400699p>
 50. Grabowski T, Swierczewska A, Borucka B, Sawicka R, Sasiniowska-Motyl M, Gumutka SW, et al. A rapid chromatographic/mass spectrometric method for digoxin quantification in human plasma. *Pharm Chem J*. 2009;43:710–5.
<https://doi.org/10.1007/s11094-010-0384-y>
 51. Guan F, Ishii A, Seno H, Watanabe-Suzuki K, Kumazawa T, Suzuki O. Identification and quantification of cardiac glycosides in blood and urine samples by HPLC/MS/MS. *Anal Chem*. 1999;71(18):4034–43.
<https://doi.org/10.1021/ac990268c>
 52. Josephs RD, Daireaux A, Westwood S, Wielgosz RI. Simultaneous determination of various cardiac glycosides by liquid chromatography-hybrid mass spectrometry for the purity assessment of the therapeutic monitored drug digoxin. *J Chromatogr A*. 2010;1217(27):4535–43.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.04.060>
 53. Kohls S, Scholz-Bottcher B, Rullkotter J, Teske J. Method validation of a survey of thevetia cardiac glycosides in serum samples. *Forensic Sci Int*. 2012;215(1–3):146–51.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.02.013>
 54. Liang X, Christensen JH, Nielsen JN. Enhancing the power of liquid chromatography – Mass spectrometry for chemical fingerprinting of phytotoxins in the environment. *J Chromatogr A*. 2021;1642:462027.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462027>
 55. Malysheva SV, Mulder PPI, Masquelier J. Development and validation of a UHPLC-ESI-MS/MS method for quantification of oleandrin and other cardiac glycosides and evaluation of their levels in herbs and spices from the Belgian market. *Toxins (Basel)*. 2020;12(4):243.
<https://doi.org/10.3390/toxins12040243>
 56. Mitamura K, Horikawa A, Yamane Y, Ikeda Y, Fujii Y, Shimada K. Determination of digoxin in human serum using stable isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Biol Pharm Bull*. 2007;30(9):1653–6.
<https://doi.org/10.1248/bpb.30.1653>
 57. Rubini S, Rossi SS, Mestria S, Odoardi S, Chendi S, Poli A, et al. A probable fatal case of oleander (*Nerium oleander*) poisoning on a cattle farm: a new method of detection and quantification of the oleandrin toxin in rumen. *Toxins (Basel)*. 2019;11(8):442.
<https://doi.org/10.3390/toxins11080442>
 58. Yadav PB, Lekhak UM, Ghane SG, Lekhak MM. Phytochemicals, antioxidants, estimation of cardiac glycoside (Scillaren A) and detection of major metabolites using LC-MS from *Drimys* species. *S Afr J Bot*. 2021;140:259–68.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.05.002>
 59. Zhai JX, Yan H, Shen M, Shen BH, Liu W. Determination of oleandrin in blood and liver samples by LC-MS/MS. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2018;34(6):585–9.
<https://doi.org/10.12116/j.issn.1004-5619.2018.06.002>
 60. Amitava D, Pradip D. Rapid detection of oleander poisoning using digoxin immunoassays comparison of five assays. *Ther Drug Monit*. 2004;26(6):658–63.
<https://doi.org/10.1097/00007691-200412000-00012>
 61. Solnica B. Comparison of serum digoxin concentration monitoring by fluorescence polarization immunoassay on the TDxFLx and dry chemistry enzyme immunoassay on the Vitros 950. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(8):958–64.
<https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.156>
 62. Züst T, Petschenka G, Hastings AP, Agrawal AA. Toxicity of milkweed leaves and latex: chromatographic quantification versus biological activity of cardenolides in 16 *Asclepias* species. *J Chem Ecol*. 2019;45(1):50–60.
<https://doi.org/10.1007/s10886-018-1040-3>
 63. Dasgupta A, Bourgeois L. Convallatoxin, the active cardiac glycoside of lily of the valley, minimally affects the ADVIA Centaur digoxin assay. *J Clin Lab Anal*. 2018;32(8):e22583.
<https://doi.org/10.1002/jcla.22583>
 64. Pellati F, Bruni R, Bellardi MG, Bertaccini A, Benvenuti S. Optimization and validation of a high-performance liquid chromatography method for the analysis of cardiac glycosides in *Digitalis lanata*. *J Chromatogr A*. 2009;1216(15):3260–9.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.02.042>
 65. Agrawal P, Akhade M, Laddha K, Narkhede S, Mirgal A, Salunke C. Quantification of convallatoxin in *Antiaris toxicaria* Leusch seeds by RP-HPLC. *Anal Chem Lett*. 2014;4(3):172–7.
<https://doi.org/10.1080/22297928.2014.925821>
 66. Agrawal AA, Ali A, Johnson MD, Hastings AP, Burge D, Weber MG. Toxicity of the spiny thick-foot *Pachypodium*. *Am J Bot*. 2018;105(4):677–86.
<https://doi.org/10.1002/ajb2.1057>
 67. Butt AN, Tennant BP, Gillingwater SD, Shepherd PS, Swaminathan R. Binding of ouabain and human ouabainlike substance to different Na⁺, K⁺-ATPase isoforms. *Hypertens Res*. 2000;23 Suppl:S45–50.
https://doi.org/10.1291/hypres.23.supplement_s45
 68. Namera A, Yashiki M, Okada K, Iwasaki Y, Kojima T. Rapid quantitative analysis of oleandrin in human blood by high-performance liquid chromatography. *Ni-*

- hon Hoizaku Zasshi. 1997;51(4):315–8.
PMID: 9366138
69. Desta B. HPLC analysis of digoxin and digitoxin: development of methods for dosage form assay and separation of potential impurities and metabolites. University of British Columbia; 1982.
<https://doi.org/10.14288/1.0095102>
70. Pérez-Alonso N, Martín R, Capote A, Pérez A, Hernández-Díaz EK, Rojas L, et al. Efficient direct shoot organogenesis, genetic stability and secondary metabolite production of micropropagated *Digitalis purpurea* L. *Ind Crops Prod.* 2018;116:259–66.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.067>
71. Hensel A, Kreis W. GLC-MS investigations on cardenolide genins. *Pharm Acta Helv.* 1997;72(4):243–6.
[https://doi.org/10.1016/S0031-6865\(97\)00020-4](https://doi.org/10.1016/S0031-6865(97)00020-4)
72. Платонов ВВ, Волочаева МВ, Хадарцев АА, Мелякова ДА, Сухих ГТ, Дунаева ИВ. Химический состав этанольного экстракта ландыша майского (*Convallaria majalis* L., семейство лилейных). *Вестник новых медицинских технологий.* 2019;(2):53–60.
Platonov VV, Volochaeva MV, Khadartsev AA, Melyakova DA, Sukhikh GT, Dunaeva IV. The chemical composition of ethanol extract of lily of the valley (*Convallaria majalis* L., Lily family). *Journal of New Medical Technologies.* 2019;(2):53–60 (In Russ.).
<https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16356>
73. Быков ЕВ, Вихарева ЕВ. Фармакопейные методы анализа сердечных гликозидов в растительном сырье и лекарственных препаратах (обзор). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2023;26(7):5–11.
Bykov EV, Vikhareva EV. Pharmacopoeial methods for the analysis of cardiac glycosides in plant raw materials and medicines (review). *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2023;26(7):5–11 (In Russ.).
<https://doi.org/10.29296/25877313-2023-07-01>
74. Орынбекова СО, Келеке АС, Сакипова ЗБ, Ибрагимова ЛН, Сермухамедова ОВ, Нургожин ТС. Сравнительная оценка методик идентификации сердечных гликозидов в лекарственном растительном сырье. *Вестник Казахского Национального медицинского университета.* 2019;(2):396–9.
Orynbekova SO, Keleke AS, Sakipova ZB, Ibragimova LN, Sermukhamedova OV, Nurgozhin TS. Comparative evaluation of the identification methods of cardiac glycosides in herbal drugs. *Vestnik KazNMU.* 2019;(2):396–9 (In Russ.).

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: О.В. Евдокимова — обобщение данных литературы и постановка задач исследования; А.В. Бекетова — написание и оформление рукописи; О.А. Наумова — редактирование и переработка рукописи, составление таблиц; И.В. Климова, Т.Б. Шемерянкина, Л.А. Ладыгина, К.С. Бущик — подбор и анализ источников литературы.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Olga V. Evdokimova summarised literature data and formulated research objectives. Anastasia V. Beketova drafted and formatted the manuscript. Olga A. Naumova edited and revised the manuscript and compiled tables. Irina V. Klinkova, Tatiana B. Shemeryankina, Liana A. Ladygina, Kristina S. Bushchik selected and analysed literature.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Евдокимова Ольга Владимировна, доктор фарм. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2191-1033>
evdokimovaov@expmed.ru

Бекетова Анастасия Викторовна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6975-516X>
beketova@expmed.ru

Наумова Ольга Анатольевна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>
naumovaoa@expmed.ru

Климова Ирина Васильевна
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9627-1395>
klinkovaiv@expmed.ru

Шемерянкина Татьяна Борисовна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3720-9687>
shemeryankina@expmed.ru

Ладыгина Лиана Александровна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4551-8252>
Ladygina@expmed.ru

Бущик Кристина Сергеевна
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2928-9858>
bushchikks@expmed.ru

Поступила 27.07.2023

После доработки 06.10.2023

Принята к публикации 23.11.2023

Olga V. Evdokimova, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2191-1033>
evdokimovaov@expmed.ru

Anastasia V. Beketova, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6975-516X>
beketova@expmed.ru

Olga A. Naumova, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1289-4307>
naumovaoa@expmed.ru

Irina V. Klinkova
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9627-1395>
klinkovaiv@expmed.ru

Tatiana B. Shemeryankina, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3720-9687>
shemeryankina@expmed.ru

Liana A. Ladygina
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4551-8252>
Ladygina@expmed.ru

Kristina S. Bushchik
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2928-9858>
bushchikks@expmed.ru

Received 27 July 2023

Revised 6 October 2023

Accepted 23 November 2023



Н.Е. Кузьмина 
С.В. Моисеев  
Е.Ю. Северинова 
В.А. Евтеев 
В.В. Косенко 

Изучение методами спектроскопии ЯМР строения гипромеллозы фталата — компонента кишечнорастворимых оболочек лекарственных препаратов

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

✉ Моисеев Сергей Владимирович; MoiseevSV@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Гипромеллозы фталат, входящий в состав кишечнорастворимых оболочек лекарственных препаратов, обеспечивает регулируемое высвобождение действующего вещества перорально принимаемых препаратов в тонком кишечнике. Скорость высвобождения действующего вещества находится в прямой зависимости от нестехиометрического состава полимера, в первую очередь от доли фталатных групп в макромолекуле. Таким образом, для оценки скорости растворения лекарственного препарата, содержащего гипромеллозы фталат, необходимо наличие надежных методик определения строения этого полимера.

Цель. Разработка методики определения методом ЯМР-спектроскопии доли фталатных групп в образцах гипромеллозы фталата с последующим установлением зависимости скорости растворения полимера в водных буферных растворах от его строения (степени молярного замещения фталатными группами и молекулярной массы).

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали гипромеллозы фталат, выделенный из кишечнорастворимых оболочек препаратов группы ингибиторов протонной помпы, и его стандартный образец. Нестехиометрический состав полимера определяли методом ^{13}C ЯМР.

Результаты. Определены условия отделения гипромеллозы фталата от других компонентов кишечнорастворимых оболочек препаратов ингибиторов протонной помпы. Выявлены характеристические сигналы в спектре ^{13}C ЯМР всех структурных фрагментов гипромеллозы фталата. Доказана связь между скоростью его растворения и особенностями строения. Обнаружено, что образцам гипромеллозы фталата разных коммерческих марок отвечает разный состав полимера, что приводит к изменению кинетики растворения (в частности, изменению порогового значения pH начала растворения образцов (5,0–5,5), а также различным скоростям растворения при одном pH).

Выводы. Разработаны ЯМР-методики определения доли фталатных групп как весового содержания в навеске гипромеллозы фталата и доли фталатных групп как молярного замещения полимера. Показано, что данные методики могут быть использованы при охарактеризовании состава образцов в исследовании скорости растворения полимера. Заявлена принципиальная возможность вывода уравнения множественной линейной регрессии скорости растворения гипромеллозы фталата как функции от молекулярной массы и молярного замещения фталатными группами. Установлено, что для улучшения регрессионной модели и признания ее статистически значимой необходимо проведение дополнительных экспериментальных исследований с использованием большей выборки образцов полимера различного состава. Сделан вывод о необходимости при проведении фармакопейного анализа гипромеллозы фталата контролировать не только долю фталатных групп, но и молекулярную массу полимера.

Ключевые слова: гипромеллозы фталат; доля фталатных групп; молярное замещение; средняя молекулярная масса; скорость растворения; ЯМР; ^{13}C ЯМР

Для цитирования: Кузьмина Н.Е., Моисеев С.В., Северинова Е.Ю., Евтеев В.А., Косенко В.В. Изучение методами спектроскопии ЯМР строения гипромеллозы фталата — компонента кишечнорастворимых оболочек лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):578–585. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-548>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

Конфликт интересов. В.В. Косенко — главный редактор с 2021 г., Н.Е. Кузьмина — член редакционной коллегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2021 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Natalia E. Kuz'mina 
Sergey V. Moiseev 
Elena Yu. Severinova 
Vladimir A. Evteev 
Valentina V. Kosenko 

NMR Spectroscopy Study of the Structure of Hypromellose Phthalate, a Component of Enteric Coatings of Medicinal Products

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

✉ **Sergey V. Moiseev;** MoiseevSV@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. Hypromellose phthalate is a component of enteric coatings used to modify active substance release from oral medicinal products in the small intestine. The release rate directly depends on the non-stoichiometric composition of the polymer, first of all, on the proportion of phthalate groups in the macromolecule. It is therefore necessary to develop reliable analytical procedures for determining the structure of hypromellose phthalate to evaluate the dissolution rate of medicinal products containing the polymer.

Aim. The study aimed to develop an analytical procedure for quantifying the proportion of phthalate groups in hypromellose phthalate samples using NMR spectroscopy and to determine the relationship between the polymer dissolution rate in aqueous buffer solutions and its structural features (degree of molar substitution and molecular mass).

Materials and methods. The study examined hypromellose phthalate samples isolated from enteric coatings of proton-pump inhibitors and used the reference standard for hypromellose phthalate. The non-stoichiometric composition of the polymer was determined by ^{13}C NMR spectroscopy.

Results. The authors established the conditions required to separate hypromellose phthalate from the other coating components and identified the characteristic ^{13}C NMR signals that may be used to differentiate between the structural fragments of hypromellose phthalate. The study demonstrated the relationship between the dissolution rate and the structure of the polymer. Commercial grades of hypromellose phthalate were shown to differ in composition and, as a result, in their dissolution kinetics (in particular, the threshold pH for the onset of dissolution (5.0–5.5), as well as the dissolution rates at the same pH).

Conclusions. The authors developed NMR-based procedures to determine the proportion of phthalate groups on the basis of their mass fraction in a weighted hypromellose phthalate sample and the degree of molar substitution of the polymer. The results support the applicability of these analytical procedures to the characterisation of sample composition in polymer dissolution rate studies. In principle, it is possible to derive a multiple linear regression equation that describes the dissolution rate of hypromellose phthalate as a function of the molecular mass and the molar substitution with phthalate groups. Further investigation of a larger number of polymer samples with different compositions is needed to improve the regression model and demonstrate its statistical significance. In addition to the proportion of phthalate groups, the pharmacopoeial analysis of hypromellose phthalate should also control the molecular mass of the polymer.

Keywords: hypromellose phthalate; proportion of phthalate groups; molar substitution; average molecular mass; dissolution rate; NMR; ^{13}C NMR

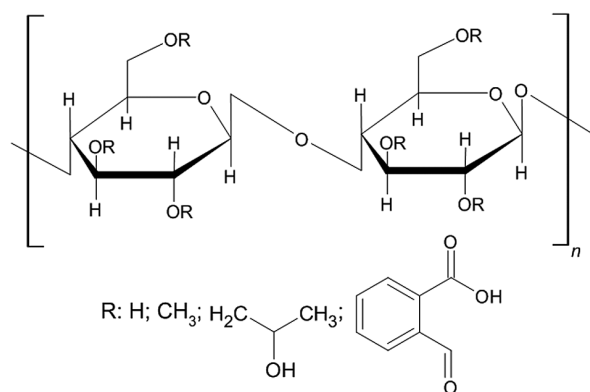
For citation: Kuz'mina N.E., Moiseev S.V., Severinova E.Yu., Evteev V.A., Kosenko V.V. NMR spectroscopy study of the structure of hypromellose phthalate, a component of enteric coatings of medicinal products. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):578–585. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-548>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121022400083-1).

Disclosure. Valentina V. Kosenko has been the Editor-in-Chief of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2021. Natalia E. Kuz'mina has been a member of the Editorial Board of the journal since 2021. The other authors declare having no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Гипромеллозы фталат представляет собой сложный эфир монофталевой кислоты и гидрокси-пропилметилцеллюлозы и широко используется при производстве материала для покрытия перорально применяемых фармацевтических препаратов, обеспечивающего контролируемое высвобождение активного вещества в тонком кишечнике [1–3]:



Ранее мы на примере гипромеллозы фталата, выделенного из кишечнорастворимых оболочек препаратов протонной помпы, показали, что профиль растворения полимера в водном буферном растворе в течение первого часа можно описать линейной функцией, при этом угол наклона прямой, характеризующий скорость растворения, зависит от молекулярной массы гипромеллозы фталата [4]. Структура полимера, в частности доля фталатных групп (ДФГ), также влияет на кинетику его растворения, например на пороговое значение pH, при котором гипромеллозы фталат начинает растворяться в водных буферных растворах. Так, гипромеллозы фталат коммерческой марки HP-50 (ДФГ 21–27%)

растворяется при pH 5,0, а коммерческих марок HP-55 и HP-55S (ДФГ 27–35%) – при pH 5,5¹.

В фармакопейном анализе ДФГ определяют как абсолютное весовое содержание данного заместителя в образце полимера, основываясь на числе карбоксильных групп монофталевого эфира (определяется титрованием), молекулярной массе фталевой кислоты и массе навески образца. На наш взгляд, более информативно оценивать величину ДФГ по степени молярного замещения (МЗ) гипромеллозы фталатными группами, то есть по числу фталатных фрагментов на один глюкопиранозный цикл в полимере. Такой подход (отношение числа замещающих фрагментов к общему числу глюкопиранозных циклов либо отношение числа модифицированных глюкопиранозных циклов к их общему числу) принят при определении нестехиометрического состава модифицированных полисахаридов (например, гидроксипропилкрахмалов хитозанов, β -глюканов, гидроксипропилбетадексов² [5]). Переход от абсолютного содержания фталатных групп в навеске образца полимера к величине МЗ позволяет исключить из величины показателя ДФГ фактор наличия метильных (Me) и 2-гидроксипропильных (2-OH-Pr) групп, входящих в состав макромолекулы гипромеллозы фталата.

Оценку МЗ в гипромеллозы фталате целесообразно проводить методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса, который является абсолютным и прямым методом измерения мольного соотношения структурных компонентов макромолекул. Интенсивность сигналов является истинной мерой количества ядер, принадлежащих различным структурным фрагментам молекулы³, поэтому отношение

¹ Shin-Etsu Chemical Co., Ltd. USP Hypromellose Phthalate. <http://www.metolose.ru/files/hpmcp.pdf>

² Hydroxypropyl potato starch; Hydroxypropyl pea starch; Hydroxypropyl corn starch; Pregelatinized hydroxypropyl potato starch; Pregelatinized hydroxypropyl pea starch; Pregelatinized hydroxypropyl corn starch; Chitosan; Beta glucan; Hydroxypropyl beta-dex. United States Pharmacopeia. 43rd ed. USP43–NF38. Rockville, MD; 2020.

Monograph 01/2017:1804 Hydroxypropylbetadex. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

³ General Monograph 2.2.33 Nuclear magnetic resonance spectrometry. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg; 2020.

приведенных интенсивностей сигналов структурных фрагментов в спектре равно отношению их количества (в молях).

Цель работы — разработка методики определения методом ЯМР-спектроскопии доли фталатных групп в образцах гипромеллозы фталата с последующим установлением зависимости скорости растворения полимера в водных буферных растворах от его строения (степени молярного замещения фталатными группами и молекулярной массы).

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали стандартный образец гипромеллозы фталата Европейской фармакопеи (I) и образцы гипромеллозы фталата, выделенные из кишечнорастворимых оболочек препаратов группы ингибиторов протонной помпы различных производителей: таблеток рабепразола (образцы (II–IV)) и капсул омепразола (образец V) различных производителей.

В ходе исследования были использованы следующие реактивы: соляная кислота 37% (ч.д.а., PanReas AppliChem, кат. № 131020.1611), хлороформ-D (99,8%, Cambridge Isotope Laboratories, кат. № DLM-7-PK), метанол-D (99,8%, Acros Organics, кат. № A0318541), хлороформ 99,3% (ч.д.а., ЭКОС-1), вода деионизованная, очищенная на установке Milli-Q Integral 3 (Millipore, Франция).

Пробоподготовку при определении нестехиометрического состава гипромеллозы фталата проводили следующим способом. К отделенной от активного вещества оболочке двух таблеток (капсул) добавляли 20 мл 0,1 М HCl. Смесь перемешивали на мешалке Vortex 1 S000 (IKA® Werke GmbH & Co.KG, Германия) в течение 1 мин и оставляли на 1 ч. Надосадочный слой, представляющий собой взвесь с другими компонентами оболочки, осторожно декантировали, осадок, содержащий гипромеллозы фталат, дважды промывали 15 мл 0,1 М HCl, затем высушивали в сушильном шкафу (BD115, Binder GmbH, Германия) при 37 °C до постоянной массы. Навеску осадка в количестве 10 мг (точная навеска необязательна) растворяли в 0,5 мл смеси CDCl₃ и CD₃OD в соотношении 1:1 (об./об.). При пробоподготовке образца II предварительно удаляли входящий в состав оболочки воск, растворяя его в хлороформе.

Регистрацию спектров ЯМР проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600 (США) с 5-мм мультаядерным датчиком, используя программное обеспечение VNMRJ, версия 4.2.

Величины T1 ядер ¹³C гипромеллозы фталата были измерены с помощью импульсной последовательности «инверсия — восстановление спинного эха» с применением стандартных параметров.

Параметры ¹³C ЯМР экспериментов: температура — 27 °C, ширина спектра — 37878,8 Гц, угол поворота намагниченности — 45°, время задержки между импульсными последовательностями — 3 с, количество накоплений спада свободной индукции — 10000, число точек аналого-цифрового преобразования — 64К, экспоненциальный коэффициент аподизации по Лоренцу — 7 Гц, дополнение нулями 128К, ручная настройка фазы и ручное интегрирование, калибровка шкалы химических сдвигов (δ) под сигнал дейтерированного метанола (δ = 49,0 м.д.). Спектры ¹³C регистрировали без использования эффекта Оверхаузера. Регистрацию двумерных спектров ¹H-¹³C gHSQC, ¹H-¹³C gHMBC проводили с применением стандартных параметров.

Величину ДФГ как весовую долю в образце полимера определяли по формуле (1).

$$\text{ДФГ} = \frac{[149n_{\text{Ft}} + (149n_{\text{Ft}} + 15n_{\text{Me}} + 59n_{2\text{-OH-Pr}} + 159n_{\text{GPyr}})] \times 100\%}{n_{\text{Ft}} + n_{\text{Me}} + n_{2\text{-OH-Pr}} + n_{\text{GPyr}}}, \quad (1)$$

где 149, 15, 59, 159 — молекулярные массы структурных фрагментов гипромеллозы фталата (фталатной (Ft), метильной (Me), 2-гидроксипропильной групп (2-OH-Pr) и глюкопиранозного остатка (GPyr) соответственно); n_{Ft} , n_{Me} , $n_{2\text{-OH-Pr}}$, n_{GPyr} — мольные доли структурного фрагмента в молекуле полимера.

Мольные доли фталатной, метильной, 2-гидроксипропильной групп определяли как приведенные интегральные интенсивности сигналов этих заместителей в спектре ¹³C ЯМР относительно интегральной интенсивности сигнала аномерного углеродного атома α-D-глюкопиранозного цикла, который принимали за 100. Интегральные интенсивности измеряли в пяти повторностях. Результаты измерений усредняли.

Значение МЗ определяли по формуле (2).

$$\text{МЗ} = I_{\text{Ft}} / I_{\text{GPyr}}, \quad (2)$$

где I_{Ft} — интегральная интенсивность сигнала ароматического углеродного атома фталатного заместителя; I_{GPyr} — интегральная интенсивность сигнала аномерного углеродного атома α-D-глюкопиранозного цикла.

При статистической обработке результатов использовали программное обеспечение MS Excel 2007.

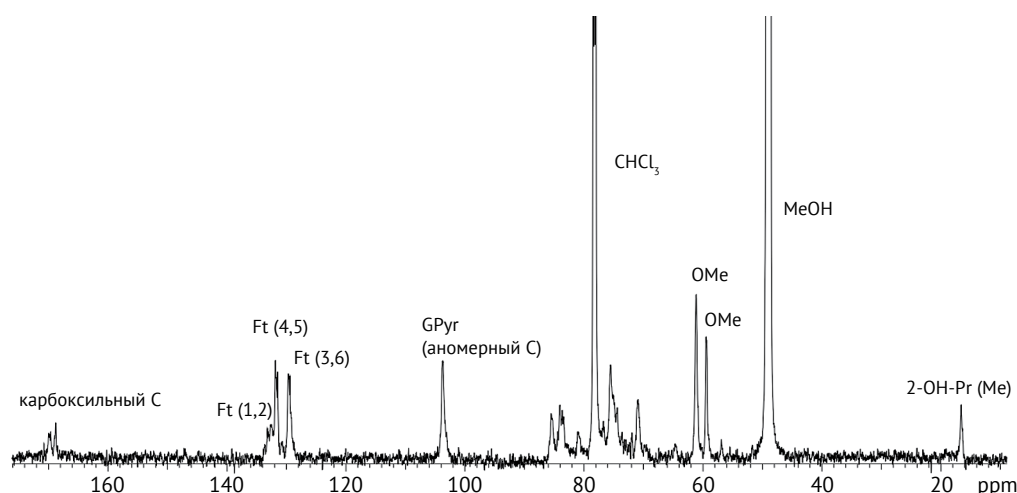


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Характеристические сигналы гипромеллозы фталата в спектре ^{13}C ЯМР. Ft – фталатная группа, Me – метильная группа, 2-OH-Pr – 2-гидроксипропильная группа.

Fig. 1. Characteristic signals of hypromellose phthalate in the ^{13}C NMR spectrum. Ft, phthalate; Me, methyl, 2-OH-Pr, 2-hydroxypropyl groups.

Результаты и обсуждение

В состав кишечнорастворимых оболочек препаратов – ингибиторов протонной помпы помимо гипромеллозы фталата входят и другие компоненты, включая незамещенную гипромеллозу. Отделение ее имеет принципиальное значение, так как сигналы аномерной СН-группы α -D-глюкопиранозного цикла этих двух полимеров совпадают в спектрах ^1H и ^{13}C ЯМР. Поэтому на первом этапе исследования мы выделяли гипромеллозы фталат из образцов, используя 0,1 М HCl.

Нестехиометрический состав полимера определяли, анализируя спектры ^{13}C ЯМР, в которых, в отличие от спектров ^1H ЯМР, наблюдаются характеристические сигналы структурных фрагментов макромолекулы гипромеллозы фталата, не пересекающиеся друг с другом, а также с сигналами растворителя и вспомогательных веществ.

Характеристические сигналы выявляли, проводя структурную интерпретацию спектров ^{13}C ЯМР с помощью спектральных данных 2D экспериментов (^1H - ^{13}C gHSQC, ^1H - ^{13}C gHMBC). Это сигналы углеродных ядер в положениях 3 и 6 ароматического цикла (130,4–127,3 м.д.), аномерного углеродного ядра α -D-глюкопиранозного цикла (105,8–101,7 м.д.), заместителей атомов H α -D-глюкопиранозного цикла: метильного (63,0–58,0 м.д.) и 2-гидроксипропильного (17,5–15,9 м.д.) (рис. 1).

Следует отметить, что в область 130,4–127,3 м.д. попадают сигналы углеродных ядер в положениях 3 и 6 ароматического цикла, поэтому при определении значений n_{Ft} и МЗ интегральную интенсивность сигнала делили на 2.

Известно, что интенсивности сигналов в спектрах ^{13}C ЯМР существенно зависят от времени продольной спин-решеточной релаксации ядер

Таблица 1. Нестехиометрический состав образцов гипромеллозы фталата различных производителей

Table 1. Non-stoichiometric composition of hypromellose phthalate samples obtained from different manufacturers

Образец	n_{Ft} (RSD, %)	n_{Me} (RSD, %)	$n_{2\text{-OH-Pr}}$ (RSD, %)	ДФГ, % (RSD, %)
I	44,9±0,2 (0,2)	203,4±0,1 (0,1)	34,2±0,3 (0,8)	24,3±0,1 (0,4)
II	75,3±1,6 (1,7)	201±2 (0,7)	25,0±1,3 (4,2)	35,6±0,5 (0,2)
III	81,4±0,7 (0,7)	192±2 (0,9)	19,1±0,3 (1,2)	38,0±0,2 (0,3)
IV	82,2±0,7 (0,7)	188±1 (0,5)	28,7±0,2 (0,5)	37,6±0,2 (0,4)
V	48,1±0,5 (0,8)	229±4 (1,5)	19,6±0,5 (2,1)	25,5±0,2 (0,5)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. n – молярная доля структурного фрагмента в молекуле, ДФГ – доля фталатных групп как относительное весовое содержание в навеске полимера. Ft – фталатная группа, Me – метильная группа, 2-OH-Pr – 2-гидроксипропильная группа, RSD – относительное стандартное отклонение.

(T1), которое может варьировать в широком диапазоне⁴ (1–100 с). Поэтому на следующем этапе были определены значения T1 для ядер, образующих характеристические сигналы: 0,45 (Ft), 0,47 (GPyr), 1,54 (Me), 0,84 (2-OH-Pr) с. Исходя из значений T1 было установлено время задержки между импульсными последовательностями, обеспечивающее корректность количественных измерений значений интегральных интенсивностей сигналов в спектре ¹³C ЯМР (3 с). Нестехиометрический состав анализируемых образцов гипромеллозы фталата представлен в таблице 1.

Следует отметить, что значения ДФГ как весовые доли в навеске образца носят оценочный характер, так как все 2-гидроксипропильные группы рассматривались как концевые, в то время как в макромолекуле гипромеллозы фталата они могут выступать в качестве мостика, соединяющего α-D-глюкопиранозный и фталатный фрагменты. Кроме того, не учитывалась доля незамещенных атомов Н в целлюлозном остове. Несмотря на предварительный характер оценки, можно сделать вывод, что гипромеллозы фталат, выделенный из оболочек препаратов ингибиторов протонной помпы различных производителей, принадлежит к различным коммерческим маркам. Например, фармакопейный стандартный образец гипромеллозы фталата (I) и гипромеллозы фталат из оболочки воспроизведенного препарата (V) содержат в своем составе НР-50, в то время как оболочки оригинального препарата (II) и воспроизведенных препаратов (III) и (IV) — НР-55. Следовательно, начало растворения кишечнорастворимых оболочек препаратов ингибиторов протонной помпы различных производителей будет соответствовать разным пороговым значениям рН (5,0 и 5,5 для НР-50 и НР-55 соответственно). Кроме того, скорость

растворения НР-50 и НР-55 при рН > 5,5 существенно различается.

На следующем этапе оценивали зависимость скорости растворения гипромеллозы фталата от двух переменных — ММ и МЗ (табл. 2). Скорость растворения характеризовали углом наклона прямой (L°), описывающей профиль растворения данного полимера в течение первого часа в водных буферных растворах при значениях рН, близких к пороговому (5,5) [4]. Переход от содержания фталатных групп в навеске гипромеллозы фталата к степени молярного замещения полимера позволяет конкретизировать число фталатных групп в одном мономерном звене гипромеллозы фталата различных коммерческих марок. Так, в НР-50 на одно мономерное звено (два α-D-глюкопиранозных цикла) приходится ориентировочно одна фталатная группа, а в НР-55 — три фталатных группы на два мономерных звена.

Известно, что при моделировании процесса с двумя независимыми переменными, а также при небольшом количестве данных целесообразно использовать множественную линейную регрессию. Основанием для создания таких моделей служит тот факт, что любую непрерывную зависимость в достаточно малой области можно представить в виде линейной функции [6]. Так, зависимость скорости растворения гипромеллозы фталата от строения полимера описывается уравнением множественной линейной регрессии (3).

$$L = -1,85MM - 0,19M3 + 66,49. \quad (3)$$

Коэффициент детерминации данной модели (0,78) свидетельствует о ее приемлемости. Для улучшения регрессионной модели и признания ее статистически значимой необходимо проведение дополнительных

Таблица 2. Влияние строения гипромеллозы фталата на скорость его растворения в водных буферных растворах (рН 5,59)

Table 2. Influence of the structure of hypromellose phthalate on its dissolution rate in aqueous buffer solutions (pH 5.59)

Образец	Марка	Степень молярного замещения, МЗ	Молекулярная масса, кДа [4]	L° [4]
I	НР-50	0,449	20,05	16
II	НР-55	0,753	19,56	16
III	НР-55	0,814	17,06	15
IV	НР-55	0,822	24,23	10
V	НР-50	0,481	14,41	36

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. L° — величина угла наклона прямой, описывающей профиль растворения гипромеллозы фталата.

⁴ Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР. М.: Мир; 1984. С. 412.

экспериментальных исследований с использованием большей выборки образцов полимера различного состава.

Заключение

Разработаны методики определения доли фталатных групп как весового содержания в навеске гипромеллозы фталата и доли фталатных групп как степени молярного замещения полимера. С их помощью установлено, что в состав кишечнорастворимых оболочек препаратов ингибиторов протонной помпы различных производителей входит гипромеллозы фталат разных коммерческих марок, которые начинают растворяться при различных значениях pH. В гипромеллозы фталате коммерческой

марки HP-50 на одно мономерное звено полимера ориентировочно приходится одна фталатная группа, а в полимере коммерческой марки HP-55 — 1,5 фталатной группы. Число фталатных заместителей в мономерном звене полисахарида и молекулярная масса полимера влияют на кинетику растворения гипромеллозы фталата. Показано, что зависимость скорости растворения гипромеллозы фталата от молекулярной массы и степени молярного замещения фталатными группами полимера описывается моделью множественной линейной регрессии, поэтому рекомендуется при проведении фармакопейного анализа гипромеллозы фталата контролировать не только долю фталатных групп, но и молекулярную массу полимера.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kalmer RR, Haddadan MM, Azizi M, Ghanbari M, Samandarian B, Sadjadinia A, et al. Industrial manufacture of enteric hard capsules using novel formulations based on hypromellose phthalate/gelatin and investigation of pantoprazole release. *ACS Omega*. 2023;8(12):11293–303.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08290>
2. Chung JH, Lee SJ, Chung JO, Oh YJ, Hwang JA, Kim YK, et al. Effect of hydroxypropyl methyl cellulose phthalate coating on digestive stability and intestinal transport of green tea catechins. *Integr Med Res*. 2014;3(1):34–7.
<https://doi.org/10.1016/j.imr.2013.11.001>
3. Fu M, Blechar JA, Sauer A, Al-Gousous J, Langguth P. In vitro evaluation of enteric-coated HPMC capsules—effect of formulation factors on product performance. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):696–712.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080696>
4. Моисеев СВ, Кузьмина НЕ, Северинова ЕЮ, Бунытян НД, Евтеев ВА. Изучение методами спектроскопии ЯМР влияния молекулярной массы гипромеллозы фталата на его растворимость. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):385–93.
Moiseev SV, Kuz'mina NE, Severinova EYu, Bunyatyanyan ND, Evteev VA. NMR spectroscopy study of the effect of the molecular mass of hypromellose phthalate on its solubility. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):385–93 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-541>
5. Моисеев СВ, Кузьмина НЕ, Лутцева АИ. Метод ЯМР в отечественной и зарубежных фармакопеях для оценки качества лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(1):8–24.
Moiseev SV, Kuz'mina NE, Luttseva AI. NMR as used in the Russian and foreign pharmacopoeias for quality control of medicinal products. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(1):8–24 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-8-23>
6. Родионова ОЕ, Померанцев АЛ. Хемометрия: достижения и перспективы. *Успехи химии*. 2006;75(4):302–21.
Rodionova OY, Pomerantsev AL. Chemometrics: achievements and prospects. *Russian Chemical Reviews*. 2006;75(4):302–21 (In Russ.).
<https://doi.org/10.1070/RC2006v075n04ABEH003599>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Н.Е. Кузьмина — идея, планирование исследования, анализ, систематизация и обобщение экспериментальных данных, интерпретация результатов исследования, подготовка и оформление рукописи; С.В. Моисеев — идея, подбор и анализ литературы, проведение экспериментальных исследований методом ЯМР, анализ, систематизация и обобщение экспериментальных данных, интерпретация результатов исследования, редактирование текста; Е.Ю. Северинова и В.А. Евтеев — пробоподготовка образцов, поиск литературы; В.В. Косенко — ответственность за все аспекты работы, включая надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Natalia E. Kuz'mina* elaborated the study idea; planned the study; analysed, collated, and consolidated the experimental data; interpreted the study results; drafted and formatted the manuscript. *Sergey V. Moiseev* elaborated the study idea; selected and analysed literature; conducted NMR experiments; analysed, collated, and consolidated the experimental data; interpreted the study results; and edited the manuscript. *Elena Yu. Severinova* and *Vladimir A. Evteev* prepared samples and searched for literature. *Valentina V. Kosenko* agreed to be accountable for all aspects of the work, including ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any of its parts are appropriately investigated and resolved; and approved the final version of the article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кузьмина Наталия Евгеньевна, д-р хим. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Моисеев Сергей Владимирович, канд. хим. наук, доцент
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>
MoiseevSV@expmed.ru

Северинова Елена Юрьевна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5695-8048>
Severinova@expmed.ru

Евтеев Владимир Александрович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>
Evteev@expmed.ru

Косенко Валентина Владимировна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
kosenko@expmed.ru

Поступила 02.05.2023

После доработки 14.06.2023

Принята к публикации 06.09.2023

Online first 09.10.2023

Natalia E. Kuz'mina, Dr. Sci. (Chem.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>
KuzminaN@expmed.ru

Sergey V. Moiseev, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>
MoiseevSV@expmed.ru

Elena Yu. Severinova
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5695-8048>
Severinova@expmed.ru

Vladimir A. Evteev
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>
Evteev@expmed.ru

Valentina V. Kosenko, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
kosenko@expmed.ru

Received 2 May 2023

Revised 14 June 2023

Accepted 6 September 2023

Online first 9 October 2023



А.Г. Заремба 
Е.М. Рычихина  

Соотнесение норм национального права и права ЕАЭС в сфере регулирования обращения лекарственных средств до и после 1 января 2026 года

*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*

✉ **Рычихина Екатерина Михайловна**; richikhina@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. До конца 2025 года запланирован полный поэтапный переход к единому рынку лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС), что сопровождается формированием новой нормативной базы, как национальной, так и наднациональной. Основные изменения национально-го права направлены в первую очередь на гармонизацию с правом ЕАЭС, но ряд областей регулирования обращения лекарственных средств остается в сфере регулирующего воздействия российского законодательства.

Цель. Сравнительный анализ правовых систем российского права и права ЕАЭС, устанавливающих отношения в сфере обращения лекарственных средств до и после января 2026 года, а также оценка рисков возникновения коллизий правовых систем.

Обсуждение. В рамках анализа причин риска возникновения юридических коллизий между российским правом и правом ЕАЭС рассмотрены методы их разрешения, предусмотренные правовой системой Российской Федерации, а также их применимость в конкретных ситуациях при регулировании обращения лекарственных средств как на национальном, так и на наднациональном уровне. Проанализированы этапы жизненного цикла лекарственных средств с наибольшим риском возникновения юридических коллизий, такие как: клинические исследования, разработка фармакопейных требований, процедура установления орфанности. Проанализирована взаимосвязь регистрационных процедур в рамках переходного периода при одновременном действии обеих правовых систем. Выделены отношения, регулирование которых будет осуществляться на национальном уровне и после окончания переходного периода: включение фармацевтических субстанций в государственный реестр лекарственных средств, регистрация лекарственных средств в условиях военных действий и чрезвычайных ситуаций, взаимозаменяемость лекарственных препаратов. Приведены предложения по совершенствованию нормативной правовой базы, а также рекомендации заявителям в условиях меняющихся требований нормативного правового поля.

Выводы. Полный переход к единому рынку лекарственных средств на территории ЕАЭС не означает, что требования Федерального закона от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» прекратят свое действие на территории Российской Федерации в полном объеме, поэтому планирование регуляторной стратегии заявителей регистрации лекарственных средств в рамках переходного периода должно учитывать факт частичного продолжения национальной регуляции и с 2026 года.

Ключевые слова: правовые коллизии; юридические коллизии; регистрация лекарственных средств; гармонизация; взаимозаменяемость; фармакопея; орфанный препарат; ЕАЭС; единый рынок лекарственных средств

Для цитирования: Заремба А.Г., Рычихина Е.М. Соотнесение норм национального права и права ЕАЭС в сфере регулирования обращения лекарственных средств до и после 1 января 2026 года. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(4):586–600. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-586-600>

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

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

Aleksey G. Zaremba 
Ekaterina M. Rychikhina  

Analysis of the Provisions of National and EAEU Legislation Regulating Pharmaceuticals before and after 1 January 2026

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

 Ekaterina M. Rychikhina; richikhina@expmed.ru

ABSTRACT

Scientific relevance. The gradual transition to the common pharmaceutical market within the Eurasian Economic Union (EAEU) is expected to be completed by the end of 2025, and a new regulatory framework is currently being developed at both the national and supranational levels. The main changes in Russian national legislation are aimed to harmonise it with EAEU legislation. However, Russian national legislation will continue regulating a range of issues related to the life cycle of medicines.

Aim. This study aimed to compare the Russian and EAEU legal frameworks regulating medicines before and after January 2026, as well as to analyse the risks of conflicts of laws between these legal systems.

Discussion. Analysing the causes of potential conflicts of laws between Russian and EAEU legislation, the authors consider solutions for such conflicts outlined in the legal system of the Russian Federation, as well as the applicability of these solutions to specific situations in the national and supranational regulation of medicines. This study analyses the stages in the life cycle of medicines associated with the highest risk of conflicts of laws, including clinical trials, the development of pharmacopoeial requirements, and the designation of orphan medicines. The authors examine the relationships between authorisation procedures during the transition period with both legal systems in effect. The analysis highlights the issues that will continue to be regulated under Russian national legislation after the completion of the transition period, such as the inclusion of active substances in the Russian State Register of Medicines, the authorisation of medicines during armed conflicts or other emergencies, and the interchangeability of medicines. Given the evolving requirements of the regulatory environment, this study provides suggestions for enhancing the regulatory framework and recommendations for applicants.

Conclusions. After the complete transition to the common market in the EAEU, certain requirements of Russian Federal Law No. 61-FZ "On Circulation of Medicines" of 12 April 2010 will remain effective in the Russian Federation. Therefore, during the transition period, applicants for authorisation should consider the partial continuation of national regulation after 2026 when developing their regulatory affairs strategies.

Keywords: conflict of laws; authorisation of medicines; harmonisation; interchangeability; pharmacopoeia; orphan medicinal product; EAEU; common pharmaceutical market

For citation: Zaremba A.G., Rychikhina E.M. Analysis of the provisions of national and EAEU legislation regulating pharmaceuticals before and after 1 January 2026. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(4):586–600. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-586-600>

Funding. The study was performed without external funding.

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

Введение

До конца 2025 года запланирован полный поэтапный переход к единому рынку лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС), что сопровождается формированием новой нормативной базы, как национальной, так и наднациональной. Основные изменения национального права направлены в первую очередь на гармонизацию с правом ЕАЭС, но ряд областей регулирования обращения лекарственных средств остается в сфере регулирующего воздействия российского законодательства. Часть норм Федерального закона Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее Закон 61-ФЗ), действующих в настоящее время, должны будут претерпеть изменения при гармонизации с наднациональным законодательством ЕАЭС, а некоторые будут продолжать действовать и после 31.12.2025.

Цель работы – сравнительный анализ правовых систем российского права и права ЕАЭС, устанавливающих отношения в сфере обращения лекарственных средств до и после января 2026 года, а также оценка рисков возникновения коллизий правовых систем.

Правовые коллизии норм национального права

Прежде чем говорить о нормах национального законодательства, которое регулирует правовые отношения, возникающие в связи с обращением лекарственных средств до и после 31.12.2025, необходимо в целом рассмотреть документы, входящие в правовые системы Российской Федерации (РФ) и ЕАЭС.

Любая правовая система в силу естественных причин, связанных с динамикой развития того или иного рынка, неизбежно сталкивается с таким негативным явлением, как конфликты (коллизии) различных входящих в нее норм и предписаний. Юридические коллизии создают препятствия для нормального функционирования правовой системы, поскольку порождают ситуацию неопределенности, предполагая сразу несколько вариантов решения одного и того же правового вопроса, тем самым затрудняя правоприменительную деятельность.

Организациям, работающим в условиях сильно зарегулированного рынка товаров, каковым является фармацевтический рынок, важно

понимать, какую норму применит в том или ином случае уполномоченный орган (экспертная организация). Следует также учесть, что обращение к регулятору за разъяснениями¹ занимает достаточно длительное время (на рассмотрение отводится 30 рабочих дней).

Для преодоления подобных коллизий норм права в юридической практике предусмотрено несколько общепринятых правил, принцип которых был заложен еще римскими юристами (*рис. 1, опубликован на сайте журнала*)².

- Если противоречат друг другу акты одного и того же органа, изданные в разное время по одному и тому же вопросу, то применяется последний по времени акт, исходя из принципа, согласно которому «закон последующий отменяет закон предыдущий», например приказы Минздрава России по вводу в действие общих фармакопейных статей и фармакопейных статей. Однако необходимо учитывать, что очень часто законодатель в тексте отменяющего нормативно-правового акта указывает, в какой именно части отменяется предыдущий.
- Если нормативно-правовые акты изданы одновременно, но разными органами, то применяется акт, обладающий большей юридической силой по принципу иерархии. При конфликте между законом и подзаконным нормативным актом (указом, постановлением правительства, приказом министерства) приоритет имеет первый. Так, например, требования к документам регистрационного досье в Законе 61-ФЗ имеют характер прямой нормы, поэтому если бы в соответствующий приказ Минздрава России были заложены избыточные требования в отношении документов досье, они стали бы рассматриваться как противоречащие ст. 18 Закона 61-ФЗ.
- Если расходятся общий и специальный акты одного уровня, то преимущество имеет специальный акт. Так, например, ч. 2 ст. 3 Закона 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» устанавливает, что действие этого федерального закона распространяется на обращение наркотических лекарственных средств и психотропных лекарственных средств с учетом особенностей, установленных законодательством РФ о наркотических средствах, психотропных веществах и об их прекурсорах (Федеральный закон от 08.01.1998 № 3-ФЗ

¹ В соответствии с п. 6.6. Положения о Министерстве здравоохранения Российской Федерации Минздрав России уполномочен давать юридическим и физическим лицам разъяснения по вопросам, отнесенным к установленной сфере деятельности министерства в части оказания государственных услуг, в том числе по государственной регистрации лекарственных средств.

² <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-586-600-fig1>

«О наркотических средствах и психотропных веществах» (Закон 3-ФЗ)). Упомянутые федеральные законы — это законодательные акты одного уровня, но в контексте указанной нормы Закон 61-ФЗ — общий акт, Закон 3-ФЗ — специальный акт, и преимущества имеют нормы Закона 3-ФЗ.

Также следует учесть, что в РФ существует система судебного толкования нормативных актов. В этом случае может разрешаться каждая отдельная коллизия, однако объем настоящей публикации не позволяет останавливаться на каждом частном случае.

Коллизии нормативных правовых актов Российской Федерации и Евразийского экономического союза

Описанные выше приемы могут с успехом применяться для решения правовых коллизий внутри какой-либо одной регуляторной системы. Однако если возникает коллизия между национальными (внутригосударственными) и международными нормами, то в соответствии с ч. 4. ст. 15 Конституции Российской Федерации приоритетом обладают нормы международного права «Если международным договором Российской Федерации установлены иные правила, чем предусмотренные законом, то применяются правила международного договора». Аналогичная норма закреплена и ч. 4 ст. 3 Закона 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

Рассмотрим схему иерархии нормативных правовых актов двух правовых регуляторных систем по обращению лекарственных средств, устанавливающих их относительный приоритет на случай коллизий. В РФ эта иерархия в части федеральных нормативных правовых актов выглядит так: Конституция → федеральные конституционные законы → федеральные законы → акты Президента → акты Правительства → акты федеральных органов исполнительной власти. В ЕАЭС согласно ст. 6 Договора о Евразийском экономическом союзе, подписанного 29.05.2014 (далее — Договор), существует следующая иерархия: Договор → международные договоры в рамках ЕАЭС → международные договоры ЕАЭС с третьей стороной → решения и распоряжения Высшего Евразийского экономического совета, Евразийского межправительственного совета и Евразийской экономической комиссии (ЕЭК).

В случае возникновения противоречий между решениями Высшего Евразийского экономического совета, Евразийского межправитель-

ственного совета и ЕЭК действует следующая иерархия: Высший Евразийский экономический совет → Евразийский межправительственный совет → ЕЭК.

Законодательство РФ об обращении лекарственных средств состоит из Закона 61-ФЗ, других федеральных законов и иных нормативных правовых актов РФ (рис. 2, опубликован на сайте журнала)³.

Правовое регулирование обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС, как и в РФ, также предполагает построение иерархической системы, в основе которой лежит договор о создании Евразийского экономического союза (рис. 2). В соответствии с Договором государствами-членами 23.12.2014 было подписано Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС (далее — Соглашение), имеющее статус международного договора. Для реализации Соглашения приняты нормативные правовые акты ЕЭК по вопросам обращения лекарственных средств, среди которых:

- Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78);
- Правила надлежащей производственной практики (GMP) (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 77);
- Правила надлежащей лабораторной практики (GLP) (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 81);
- Правила надлежащей клинической практики (GCP) (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 79);
- Правила надлежащей практики фармаконадзора (GVP) (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 87);
- Правила надлежащей дистрибьюторской практики (GDP) (Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 80) и т.д.

В отличие от Закона 61-ФЗ, который содержит нормы прямого действия, Соглашение устанавливает единые принципы обращения лекарственных средств в ЕАЭС и предусматривает разработку и принятие единых правил и требований, регулирующих обращение лекарственных средств, которые являются нормативно-правовыми актами, что, с одной стороны, облегчило его принятие, а с другой — создало предпосылки для формирования правовой неопределенности (коллизий). Учитывая, что в Соглашении отсутствует исчерпывающий перечень актов

³ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-4-586-600-fig2>

наднационального уровня, которые следует принять в сфере обращения лекарственных средств, на национальном уровне сохраняется возможность применения тех правил и требований, которые в Соглашении не обозначены.

Юридическая специфика актов ЕЭК (Решения Совета ЕЭК и Решения Коллегии ЕЭК) состоит в том, что они являются документами прямого действия и дополнительно принимать акты с аналогичным наименованием и содержанием на национальном уровне не требуется. Если это правило будет проигнорировано, то возникнут многочисленные коллизии и/или дублирование между нормативными актами наднационального и национального уровней. Также возможен на национальном уровне отход от полного восприятия содержания норм наднационального права и появление различных вариаций, что фактически будет означать раскоординированность правового регулирования и нерешенность задачи унификации правового поля в сфере обращения лекарственных средств.

Сфера применения российского права и права ЕАЭС при регулировании обращения лекарственных средств

В ст. 30 Договора и ст. 4 Соглашения отмечено, что государства-члены проводят скоординированную политику в сфере обращения лекарственных средств посредством:

- принятия мер, необходимых для гармонизации и унификации законодательств государств-членов в сфере обращения лекарственных средств;
- обеспечения единства обязательных требований к качеству, эффективности и безопасности лекарственных средств, находящихся в обращении на территории ЕАЭС;
- принятия единых правил в сфере обращения лекарственных средств, разработки и применения одинаковых или сопоставимых методов исследования и контроля при оценке качества, эффективности и безопасности лекарственных средств;
- гармонизации законодательства государств-членов в области контроля (надзора) в сфере обращения лекарственных средств;
- реализации разрешительных и контрольно-надзорных функций в сфере обращения лекарственных средств соответствующими уполномоченными органами государств-членов.

Договором, Соглашением и Правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств

для медицинского применения, утвержденными Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 (далее — Правила), установлено, что национальное законодательство государств — членов ЕАЭС в отношении допуска лекарственных препаратов на рынок действовало до 01.01.2021 (для Российской Федерации) и до 01.07.2021 (для остальных государств — членов ЕАЭС), а для регистрации новых лекарственных препаратов начиная с указанного периода используется наднациональная система регистрации и экспертизы лекарственных средств на уровне ЕАЭС. Досье на препараты, зарегистрированные до вступления в силу Соглашения, должны быть приведены в соответствие с требованиями ЕАЭС до 31.12.2025.

Закрепление правила, допускающего регистрацию лекарственных препаратов в соответствии с национальными правилами и нормами, привело к установлению фактически разделенного рынка лекарственных средств, созданию двойных стандартов и возникновению дополнительных сложностей в правоприменительной практике, связанных с различиями в нормативно-правовом регулировании на уровне ЕАЭС и государств — членов ЕАЭС. Насколько обоснована такая мера, покажет время.

Переходный период установлен ст. 20 Соглашения и распространяется только в отношении лекарственных средств, зарегистрированных в государствах-членах до вступления в силу Соглашения, регистрационные досье которых должны быть приведены в соответствие с требованиями и правилами ЕАЭС до 31.12.2025. Таким образом, юридические основания для установления «переходного периода» в отношении регистрации лекарственных препаратов по национальной процедуре или параллельного функционирования нормативного правового регулирования обращения лекарственных средств на наднациональном и национальном уровнях, а также для применения внутреннего законодательства без учета требований актов ЕЭК не предусмотрены Соглашением и Договором.

Введение изъятия о возможности осуществления регистрации лекарственных препаратов после 1 января 2020 г. для РФ и после 1 июля 2021 г. для остальных государств — членов ЕАЭС в соответствии с национальными требованиями противоречит положениям Соглашения и Договора, устанавливающим отсрочку в отношении приведения в соответствие регистрационных досье лекарственных средств, уже зарегистрированных в национальных юрисдикциях до 1 января / 1 июля 2021 года. Кроме того, в самих Правилах

заложено внутреннее противоречие, поскольку их целью является определение процедур, связанных с осуществлением регистрации лекарственных препаратов, а не определение или перенос сроков национальной регистрации лекарственных препаратов.

Следует подчеркнуть, что суть Договора и Соглашения состоит в выработке мер по единому регулированию рынка лекарственных средств, а не в сохранении различных национальных правил на какой-либо период, что соответствует целям формирования общего рынка лекарственных средств в рамках ЕАЭС.

Перечень нормативных правовых актов ЕАЭС в сфере обращения лекарственных средств был сформирован на основе предложений государств-членов, которые выступили в качестве разработчиков. При подготовке документов стороны, несмотря на декларируемую приверженность к внедрению лучших международных норм, опирались в первую очередь на собственную правоприменительную практику, что привело к неоднозначности изложения и появлению внутренних противоречий в принятых документах.

Сферы применения Закона ФЗ-61 и Соглашения различны. Закон 61-ФЗ применяется к отношениям, возникающим при обращении лекарственных средств на территории РФ. Соглашение ограничивает обращение лекарственных средств на предназначенные для обращения только на территории отдельного государства-члена и предназначенные для обращения на общем рынке лекарственных средств ЕАЭС.

Закон 61-ФЗ регулирует отношения, возникающие в связи с обращением лекарственных средств: разработкой, доклиническими исследованиями (ДКИ), клиническими исследованиями (КИ), экспертизой, государственной регистрацией, стандартизацией и контролем качества, производством, изготовлением, хранением, перевозкой, ввозом в РФ, вывозом из РФ, рекламой, отпуск, реализацией, передачей, применением, уничтожением. Под регулирующее действие Соглашения подпадают не все этапы «жизненного цикла» лекарственных средств (табл. 1). В данном контексте под «жизненным циклом» лекарственных средств понимаются этапы обращения лекарственных средств на территории ЕАЭС и на территории РФ, так как действие Соглашения распространяется на правоотношения, возникающие в сфере обращения лекарственных средств, находящихся в обращении в рамках ЕАЭС. Именно по этой причине в Соглашении установлено понятие «обращение

лекарственных средств» как «деятельность, включающая процессы разработки, доклинических исследований, клинических исследований (испытаний), экспертизы, регистрации, фармаконадзора, контроля качества, производства, изготовления, хранения, транспортирования, ввоза на таможенную территорию ЕАЭС и вывоза с таможенной территории ЕАЭС, перемещения с территории одного государства-члена на территории других государств-членов, отпуска, реализации, передачи, применения, уничтожения лекарственных средств».

Кроме того, Соглашением определены сферы, регулирование которых осуществляется частично на национальном уровне. Это отношения, связанные с обращением лекарственных средств в рамках национального права РФ; со стандартизацией и с контролем качества; с обращением фармацевтических субстанций; с регистрацией лекарственных препаратов; с производством; с мониторингом эффективности и безопасности лекарственных препаратов; с государственным контролем (надзором) за обращением лекарственных средств. Таким образом, по-прежнему в сфере национального законодательства остаются такие механизмы регулирования фармацевтического рынка, как организация и проведение КИ, лицензирование производства лекарственных средств и фармацевтической деятельности, реклама лекарственных препаратов, формирование перечней лекарственных препаратов и регулирование цен на лекарственные препараты.

Следует подчеркнуть, что риск возникновения коллизий между правом ЕАЭС и правом РФ в действительности реально существует, так как их сферы регулирования частично совпадают. Кроме того, следует учесть и тот факт, что страны ЕАЭС имеют международные договоры, заключенные с третьей стороной до вступления в ЕАЭС. Соответственно, международные обязательства государств, взятые на себя в рамках национального законодательства и в рамках ЕАЭС, могут не совпадать.

Сферы обращения лекарственных средств с риском возникновения юридических коллизий в рамках правоприменения

Остановимся на нормах, сферы регулирования которых частично совпадают, в связи с чем существует риск возникновения правовых коллизий между правом ЕАЭС и правом Российской Федерации.

Таблица 1. Сфера распространения регулирующего воздействия Соглашения о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС)

Table 1. Scope of the regulatory impact of the Agreement on Common Principles and Rules of Circulation of Medicinal Products within the Eurasian Economic Union (EAEU)

Статья Соглашения <i>Article No.</i>	Наименование статьи Соглашения <i>Article title</i>	Положения, установленные статьей Соглашения <i>Provisions of the article of the Agreement</i>
Статья 5 <i>Article 5</i>	Гармонизация государственных фармакопей государств-членов <i>Harmonisation of the State Pharmacopoeias of the Member States</i>	Государства-члены принимают меры для установления фармакопейных требований ЕАЭС посредством последовательной гармонизации фармакопейных статей (общих и частных) государственных фармакопей государств-членов <i>Member States shall take measures to establish the pharmacopoeial requirements of the EAEU through the consistent harmonisation of pharmacopoeial monographs (general and specific) of the Pharmacopoeias of the Member States</i>
Статья 6 <i>Article 6</i>	Доклинические и клинические исследования (испытания) в государствах-членах <i>Pre-clinical and clinical studies (trials) in the Member States</i>	В целях обеспечения функционирования общего рынка лекарственных средств в рамках ЕАЭС доклинические и клинические исследования (испытания) лекарственных средств в государствах-членах проводятся в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, правилами надлежащей клинической практики и требованиями к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств, утверждаемыми ЕЭК <i>In order to ensure the functioning of the common market of medicinal products within the EAEU, pre-clinical and clinical studies (trials) of medicinal products in the Member States are carried out in accordance with the rules of Good Laboratory Practice, the rules of Good Clinical Practice and the requirements for studies (trials) of medicinal products approved by the EEC</i>
Статья 7 <i>Article 7</i>	Регистрация и экспертиза лекарственных средств <i>Registration and assessment of medicinal products</i>	Государства-члены осуществляют регистрацию и экспертизу лекарственных средств, предназначенных для обращения на общем рынке лекарственных средств в рамках ЕАЭС, в соответствии с правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств, утверждаемыми ЕЭК <i>Member States shall carry out the registration and the assessment of medicinal products intended for the circulation on the common market of medicinal products within the EAEU in accordance with the rules of registration and assessment of medicinal products approved by the EEC</i>
Статья 9 <i>Article 9</i>	Производство лекарственных средств <i>Manufacturing of medicinal products</i>	Производство лекарственных средств в рамках ЕАЭС осуществляется в соответствии с правилами надлежащей производственной практики, утверждаемыми ЕЭК, на основании разрешения (лицензии) на производство лекарственных средств, выданного в соответствии с законодательством государств-членов <i>Manufacturing of medicinal products within the EAEU is performed in accordance with the rules of Good Manufacturing Practice, approved by the EEC, based on a permit (license) for the manufacture of medicinal products granted in accordance with the laws of the Member States</i>
Статья 11 <i>Article 11</i>	Оптовая реализация, транспортирование и хранение лекарственных средств <i>Wholesale distribution, transportation and storage of medicinal products</i>	Оптовая реализация, транспортирование и хранение лекарственных средств на территориях государств-членов осуществляются в соответствии с правилами надлежащей дистрибьюторской практики, утверждаемыми ЕЭК <i>Wholesale distribution, transportation and storage of medicinal products in the territories of the Member States are carried out in accordance with the rules of Good Distribution Practice approved by the EEC</i>
Статья 12 <i>Article 12</i>	Фармаконадзор <i>Pharmacovigilance</i>	Государства-члены обеспечивают эффективное функционирование национальной системы фармаконадзора в соответствии с надлежащей практикой фармаконадзора, утверждаемой ЕЭК и законодательством государств-членов. <i>Member States shall ensure the effective functioning of the national pharmacovigilance system in accordance with the Good Pharmacovigilance Practice approved by the EEC and the legislation of the Member States.</i>
Статья 13 <i>Article 13</i>	Государственный контроль (надзор) за обращением лекарственных средств <i>State control (supervision) of circulation of medicinal products</i>	Государства-члены осуществляют государственный контроль (надзор) за обращением лекарственных средств в порядке, установленном законодательством государств-членов. Уполномоченные органы государств-членов осуществляют взаимодействие по выявлению фальсифицированных и (или) контрафактных лекарственных средств в порядке, утверждаемом ЕЭК <i>Member States shall perform the state control (supervision) of circulation of medicinal products in accordance with the legislation of the Member States. The competent authorities of the Member States shall cooperate to identify falsified and (or) counterfeit medicinal products in accordance with the procedure approved by the EEC</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Примечание. ЕЭК — Евразийская экономическая комиссия.

Note. EEC, Eurasian Economic Commission.

Клинические исследования. Статьей 6 Соглашения установлено, что КИ проводятся в соответствии с правилами надлежащей клинической практики и требованиями к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств, утверждаемыми ЕЭК. Правила надлежащей клинической практики утверждены Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 79 (далее – Правила GCP ЕАЭС), они представляют собой международный этический и научный стандарт планирования и проведения исследований с участием человека в качестве субъекта исследований, а также документального оформления и представления результатов таких исследований, подготовлены на основе Руководства по надлежащей клинической практике ICH⁴.

Целью Правил GCP ЕАЭС является установление единого порядка проведения КИ лекарственных средств, что должно способствовать обеспечению функционирования общего рынка лекарственных средств в рамках ЕАЭС, взаимному признанию КИ уполномоченными органами государств – членов ЕАЭС, а также признанию КИ, выполненных на территории ЕАЭС и за его пределами.

В то же время документом одного уровня с Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 79, а именно Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78, установлены правила регистрации и экспертизы лекарственных средств (далее – Правила). В отношении иерархии этих нормативных правовых актов нужно отметить, что Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 – общий акт, Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 79 – специальный.

Пункт 34 Правил дублирует норму Соглашения, что КИ лекарственных препаратов проводятся в соответствии с требованиями правил надлежащей клинической практики ЕАЭС, утверждаемыми Комиссией.

Порядок получения разрешения на проведение КИ не установлен ни в одном акте ЕАЭС, за исключением двух косвенных моментов, из которых следует, что процедура получения разрешения отнесена на национальный уровень. Так, в п. 36 Правил внесено положение, что в предусмотренных случаях до подачи заявления на регистрацию лекарственного препарата заявитель проводит КИ (как минимум одно исследование

по усмотрению заявителя и по согласованию с уполномоченным органом) полностью или частично на территории ЕАЭС, или при проведении экспертизы регистрационного досье по решению уполномоченного органа назначается внеплановая инспекция одного из клинических центров, в которых проводилось КИ. Также разрешение на проведение КИ упоминается в Приложении 1, Раздел 1.8.2. Модуля 1 регистрационного досье (подраздел 1.8.2.1).

Для права РФ такой механизм регулирования фармацевтического рынка, как организация и проведение КИ лекарственных препаратов, является нормой прямого действия (глава 7 Закона ФЗ-61). КИ лекарственных препаратов для медицинского применения, в том числе международные многоцентровые, многоцентровые, пострегистрационные исследования, проводятся в одной или нескольких медицинских организациях в соответствии с правилами надлежащей клинической практики, утвержденными приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики»⁵ (далее – Правила GCP РФ). Соблюдение требований Правил GCP РФ контролируется уполномоченным органом (Росздравнадзором) не только на этапе выдачи разрешений на проведение КИ, но также в ходе самих исследований.

Приложение № 9 к приказу Росздравнадзора от 16.09.2022 № 8700 содержит форму проверочного листа (список контрольных вопросов), применяемую Росздравнадзором и его территориальными органами при проведении плановых проверок соблюдения субъектами обращения лекарственных средств установленных требований к проведению КИ лекарственных препаратов. В данной форме указан перечень вопросов, отражающих содержание обязательных требований, ответ на которые однозначно свидетельствует о соблюдении или несоблюдении юридическим лицом, индивидуальным предпринимателем обязательных требований, составляющих предмет проверки.

Для целей Правил GCP РФ применяются термины и определения, используемые в Законе 61-ФЗ, который имеет определенные различия в терминах и определениях с правом ЕАЭС

⁴ CPM/ICH/135/95. Note for Guidance on good clinical practice. EMA; 2002.

⁵ Данный документ включен в перечень нормативных правовых актов, на которые не распространяется требование об отмене с 01.01.2021, установленное Федеральным законом № 247-ФЗ «Об обязательных требованиях в Российской Федерации». Соблюдение обязательных требований, содержащихся в данном документе, оценивается при осуществлении государственного контроля (надзора), их несоблюдение может являться основанием для привлечения к административной ответственности (постановление Правительства Российской Федерации от 31.12.2020 № 2467).

(в том числе, например, понятия референтный препарат, биоэквивалентность и т.д.). Например, согласно ч. 2 ст. 38 Закона ФЗ-61 в отношении воспроизведенных лекарственных препаратов для медицинского применения проводятся исследования биоэквивалентности и (или) терапевтической эквивалентности в порядке, также установленном уполномоченным федеральным органом исполнительной власти.

Нельзя не упомянуть и механизм взаимного признания результатов КИ. Положениями ч. 5 ст. 3 Закона ФЗ-61 установлено, что в РФ в соответствии с международными договорами РФ и (или) на основе принципа взаимности признаются результаты КИ лекарственных препаратов для медицинского применения, проведенных за пределами территории РФ. В этой связи следует отметить, что на практике все еще применимо Соглашение между Правительством РФ и Правительством Республики Беларусь от 14.12.2007 «О развитии сотрудничества в области производства и взаимных поставок лекарственных средств», согласно ст. 6 которого каждая сторона признает результаты ДКИ и КИ лекарственных средств, в том числе исследований биоэквивалентности, проведенных в государстве другой стороны, при условии, что они проведены в соответствии с требованиями, установленными уполномоченными органами сторон. Стороны оставляют за собой право при необходимости назначать проведение дополнительных исследований лекарственных средств.

На уровне ЕАЭС в настоящее время не предполагается взаимного признания результатов КИ, проведенных за пределами ЕАЭС. Согласно п. 7 ст. 7 Соглашения государства – члены ЕАЭС взаимно признают результаты КИ, выполненных в рамках ЕАЭС, а также создают условия для проведения исследований (испытаний) лекарственных средств в соответствии с международными стандартами и обеспечивают сопоставимость их результатов. При этом прямого указания на обязанность по взаимному признанию в глобальном масштабе право ЕАЭС не предусматривает, в отличие от, например, европейских правовых норм, согласно которым КИ, осуществленные за пределами Европейского союза (ЕС), признаются, если они проведены на основе принципов, эквивалентных правилам ЕС. То, что в Правилах

установлена возможность признания результатов исследований при выполнении одного из условий, указанного в п. 36 Правил⁶, является примером коллизий норм ЕАЭС и при желании может быть оспорено, так как применим принцип иерархии к разноуровневым нормативным актам (Соглашение и Решение 78).

Среди прочих Правила содержат норму о возможности проведения фармацевтической инспекции.

Согласно п. 35 Правил ДКИ безопасности лекарственных средств, проведенные в государствах, не являющихся членами ЕАЭС, рассматриваются в процессе экспертизы лекарственных препаратов при условии, что они спланированы, проведены и описаны в отчете о ДКИ в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики, эквивалентными требованиям ЕАЭС (или не ниже). КИ лекарственных препаратов, проведенные в государствах, не являющихся членами ЕАЭС, рассматриваются в процессе экспертизы лекарственных препаратов при условии, что они спланированы, проведены и описаны в отчете о КИ в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики, эквивалентными требованиям ЕАЭС (или не ниже), а также принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования».

Эквивалентность правил надлежащей лабораторной практики и требований надлежащей клинической практики РФ требованиям ЕАЭС не установлена. Таким образом, если препарат разработан по национальным требованиям (ДКИ и КИ), а заявлен на процедуру регистрации по Правилам ЕАЭС, досье должно содержать обоснование взаимосвязи между применяемыми нормами и нормами ЕАЭС.

Решение о необходимости проведения внеплановой инспекции КИ на соответствие требованиям надлежащей клинической практики ЕАЭС (или на соответствие требованиям надлежащей лабораторной практики ЕАЭС в отношении применимых пунктов) выносится уполномоченным органом на основании комплексной оценки в том числе следующих факторов, которые

⁶ Согласно п. 36 Правил при регистрации лекарственного препарата отчеты о проведенных клинических исследованиях, включенные в состав модуля 5 его регистрационного досье, рассматриваются в процессе экспертизы при соблюдении одного из следующих условий: клинические исследования проведены частично или полностью на территориях стран региона Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения (ICH) до 1 января 2016 г. (по дате последнего визита последнего пациента), на основании которых лекарственный препарат зарегистрирован на территориях стран региона Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для медицинского применения (ICH).

вытекают из различающихся административных подходов:

- наличие вопросов, связанных с административной структурой КИ (отсутствие или неясность информации) (Правила GCP РФ и GCP ЕАЭС имеют несколько отличную структуру протоколов и отчетов клинических исследований);
- наличие существенных поправок, не отраженных в протоколе в ходе исследования в соответствии с правилами надлежащей клинической практики, утверждаемыми ЕЭК (в соответствии с положениями ч. 4 ст. 40 Закона ФЗ-61 организации, осуществляющие проведение КИ лекарственного препарата для медицинского применения и указанные в ч. 3 ст. 38 Закона ФЗ-61, в случае необходимости внесения изменений в протокол КИ лекарственного препарата для медицинского применения сообщают об этом в уполномоченный федеральный орган исполнительной власти, выдавший разрешение на проведение такого исследования, по установленной им форме);
- отсутствие или недостаточность в протоколе и отчете о КИ сведений, описывающих определение показателей эффективности и (или) безопасности (относительно отбора, идентификации, обработки клинических образцов, условий количественного определения) (Правила GCP РФ и GCP ЕАЭС имеют несколько отличную структуру протоколов и отчетов КИ);
- проведение КИ в клиническом центре географического региона, где уровень требований к проведению КИ ниже установленных в рамках ЕАЭС (следует отметить, что соотношение уровней РФ и ЕАЭС не определено).

Таким образом, различающиеся подходы государств – членов ЕАЭС к проведению на своей территории КИ лекарственных препаратов, заявляемых на государственную регистрацию (необходимое условие в Российской Федерации и возможность представления заявителем в Республике Беларусь, Республике Казахстан, Кыргызской Республике, Республике Армения результатов КИ лекарственного препарата, полученных в третьих странах), не были должным образом урегулированы, что нашло свое отражение в Правилах. В качестве компромисса заявитель обязан провести КИ (как минимум одно исследование по усмотрению заявителя и по согласованию с уполномоченным органом)

полностью или частично на территории ЕАЭС либо предоставить уполномоченному органу при проведении экспертизы лекарственного препарата возможность назначать инспекцию одного из клинических центров третьих стран, в которых проводилось КИ, без обязательства проведения таких исследований в государствах-членах.

На наш взгляд, внесение изменений в Закон 61-ФЗ в части отмены нормы о том, что КИ лекарственных препаратов для медицинского применения, в том числе международные многоцентровые, многоцентровые, пострегистрационные, проводятся в соответствии с правилами надлежащей клинической практики, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, преждевременно.

Предотвращение споров о правомочности решений о разрешении на проведение КИ уполномоченного органа в связи с тем, что разрешения выданы с применением норм главы 7 Закона ФЗ-61, включая требования к структуре и содержанию документов по КИ (Правила GCP РФ), а сами исследования проводятся по требованиям другой правовой системы, необходимо дать уточнение, в каких случаях применимы те или другие Правила GCP.

Рассмотрим другой вариант, когда разрешение получено с применением норм главы 7 Закона ФЗ-61, а отчет в составе регистрационного досье подается по форме Правил GCP ЕАЭС. В данном случае мотивация заявителей объяснима – экономия времени и ресурсов, задел на будущее (приведение досье в соответствие с Правилами), но такие решения могут быть оспорены из-за коллизий нормативных актов.

Нельзя забывать, что КИ в ЕС проводятся не только с целью регистрации, но и для расширения показаний к применению или в рамках пострегистрационных исследований уже зарегистрированных в Российской Федерации препаратов (например, с целью оценки взаимозаменяемости).

С 01.03.2020 взаимозаменяемость лекарственных препаратов в Российской Федерации определяется в рамках одного международного непатентованного (химического или группировочного) наименования⁷. Определение взаимозаменяемости разных видов лекарственных препаратов осуществляется с учетом их особенностей. Для референтных препаратов

⁷ Федеральный закон Российской Федерации от 27.12.2019 № 475-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств»».

исключения не предусмотрены. Данное положение относится к лекарственным препаратам, поданным на регистрацию после 01.03.2020, в том числе по процедуре ЕАЭС.

В случае отсутствия в регистрационных досье на воспроизведенные лекарственные препараты, взаимозаменяемость которых не установлена, результатов исследований биоэквивалентности, терапевтической эквивалентности по отношению к референтному лекарственному препарату экспертное учреждение в целях определения взаимозаменяемости лекарственного препарата направляет соответствующие сведения в Минздрав России для уведомления держателя регистрационного удостоверения с установлением срока, достаточного для проведения таких КИ, но не более чем три года. Такие исследования для препаратов, зарегистрированных по процедуре Закона ФЗ-61, должны проводиться с применением требований законодательства РФ.

Фармакопея. Учитывая, что в Соглашении отсутствует исчерпывающий перечень нормативных актов наднационального уровня, которые следует принять в сфере обращения лекарственных средств, на национальном уровне сохраняется возможность принятия тех правил и требований, которые в Соглашении не обозначены.

Нельзя не отметить, что проектируемые положения в сфере обращения лекарственных средств не в полной мере представляют собой унифицированный свод правил, основанный на консолидации требований законодательств. Так, в ст. 5 Соглашения предусмотрено, что помимо Фармакопеи ЕАЭС должны существовать и государственные фармакопеи государств – членов ЕАЭС, что создает опасность противоречий в случае недостаточной гармонизации и/или дублирования (двойного регулирования) в случае полной гармонизации.

У заявителей возникают вопросы по поводу приведения регистрационных досье лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций в соответствие с требованиями Фармакопеи ЕАЭС. Решением Коллегии от 11.08.2020 № 100 «О Фармакопее Евразийского экономического союза» (далее – Решение № 100) утверждена Фармакопея ЕАЭС, которая введена в действие с 01.03.2021. Отметим, что к настоящему времени утверждены только 2 тома, поэтому привести досье на лекарственные препараты целиком к требованиям Фармакопеи ЕАЭС в ближайшее время не удастся.

Решением № 100 установлено, что до 1 января 2026 г. регистрационные досье лекарственных средств для медицинского применения должны быть приведены в соответствие с требованиями Фармакопеи ЕАЭС. Однако в Соглашении предусмотрено, что если лекарственное средство предназначено для обращения только на территории отдельного государства-члена, для целей регистрации и контроля качества лекарственных средств применяются требования государственной фармакопеи этого государства-члена. Таким образом, если препарат подан на регистрацию по процедуре взаимного признания / приведения досье в соответствие с требованиями ЕАЭС, референтная страна – РФ и не планируется дальнейшая регистрация / приведение досье в соответствие с требованиями ЕАЭС в других странах ЕАЭС, то применима норма Соглашения, а не Решения № 100.

Обязательность гармонизации государственных фармакопей государств-членов установлена ст. 5 Соглашения. Это обязывает РФ гармонизировать национальную фармакопею с Фармакопеей ЕАЭС.

Рассмотрим примеры разрешения коллизий национальных фармакопей и Фармакопеи ЕАЭС.

Пример № 1. Препарат подан на регистрацию в ЕАЭС по процедуре взаимного признания или заявлен на процедуру приведения досье в соответствие с требованиями ЕАЭС только в РФ и предназначен для обращения только на территории РФ.

Фармакопейные требования (Соглашение): для целей регистрации и контроля качества лекарственных средств применяются требования Государственной фармакопеи РФ.

Обязанности держателя регистрационного удостоверения: приведение нормативной документации лекарственных средств в соответствие с требованиями Государственной фармакопеи РФ осуществляется в соответствии с положениями приказа Минздрава России от 31.10.2018 № 749, а именно: после 01.11.2023 нормативная документация на лекарственные средства, требующая приведения в соответствие с общими фармакопейными статьями и фармакопейными статьями, утвержденными указанным приказом, подлежит приведению в соответствие с ними в рамках первого представления после указанной даты в Минздрав России в установленном порядке заявления о внесении изменений в документы, содержащиеся

в регистрационном досье на зарегистрированный лекарственный препарат для медицинского применения, или заявления о внесении изменений в документы на фармацевтическую субстанцию, произведенную для реализации и включенную в государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС), если такие изменения требуют проведения экспертизы предложенных методов контроля качества лекарственного средства и качества представленных образцов лекарственного средства с использованием этих методов и (или) экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственного препарата.

Пример № 2. Препарат подан на регистрацию в ЕАЭС по процедуре взаимного признания / децентрализованной процедуре или заявлен на процедуру приведения досье в соответствие с требованиями ЕАЭС в двух и более странах. Препарат предназначен для обращения только на территории ЕАЭС.

Фармакопейные требования (Соглашение): для целей регистрации и контроля качества лекарственных средств применяются требования Фармакопеи ЕАЭС.

Обязанности держателя регистрационного удостоверения: приведение регистрационных досье лекарственных средств в соответствие с требованиями Фармакопеи ЕАЭС до 01.01.2026⁸.

Процедура установления орфанности. Определение орфанного препарата содержится как в национальном, так и в наднациональном законодательстве. Согласно праву ЕАЭС орфанный (редкий) лекарственный препарат — лекарственный препарат, предназначенный для диагностики, этиопатогенетического или патогенетического лечения (лечения, направленного на механизм развития заболевания) редких (орфанных) заболеваний, частота которых не превышает официально определенного уровня в государстве-члене⁹. Согласно российскому праву (Закон ФЗ-61) орфанные лекарственные препараты — лекарственные препараты, предназначенные исключительно для диагностики или патогенетического лечения (лечения, направленного на механизм развития заболевания) редких (орфанных) заболеваний.

На данный момент в РФ отсутствует процедура и возможность подать отдельное заявление на рассмотрение препарата в качестве орфанного (орфанный статус), так как в ст. 14, 18, 19, 20 и 21 Закона 61-ФЗ установлено, что рассматривать лекарственный препарат для медицинского применения в качестве орфанного можно только в рамках государственной регистрации препарата. Установление орфанности осуществляется на 1 этапе государственной регистрации препарата.

Таким образом, для предотвращения правовых коллизий необходимо:

1) внесение изменений в указанные статьи Закона 61-ФЗ с целью:

- разграничения процедуры присвоения орфанного статуса и процедуры государственной регистрации,
- выделения отдельного комплекта документов для представления из документов регистрационного досье,
- определения новой государственной пошлины;

2) внесение изменений в подзаконные акты, в частности приказ Минздрава России по экспертизе и форму заключения комиссии экспертов;

3) внесение изменений в Налоговый кодекс РФ в части введения новой государственной пошлины и отмены существующей¹⁰.

Вместе с тем необходимо отметить, что 28.03.2022 вступила в силу поправка к Правилам ЕАЭС, позволяющая в целях регистрации для обращения только в референтном государстве устанавливать орфанный статус и применять специальные меры. Согласно абз. 3 п. 6 Правил, в случае если лекарственный препарат предназначен для лечения орфанного заболевания, включенного в перечни, которые ведутся в соответствии с законодательством отдельного государства-члена, регистрация такого лекарственного препарата в референтном государстве в соответствии с настоящими Правилами с целью обращения лекарственного препарата на рынке только этого государства (национальная процедура регистрации) осуществляется в соответствии с разделами V и VII настоящих Правил, а также в соответствии с положениями раздела 16 ч. III приложения № 1 к настоящим Правилам.

⁸ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.08.2020 № 100 «О Фармакопее Евразийского экономического союза».

⁹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 «Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

¹⁰ Пп. 2 п. 1 ст. 333.32.1 ч. 2 Налогового кодекса РФ «за проведение экспертизы документов, представленных для определения возможности рассматривать лекарственный препарат для медицинского применения при государственной регистрации в качестве орфанного лекарственного препарата, — 25 000 рублей».

Таким образом, в настоящее время с применением специальных мер, установленных Правилами ЕАЭС, на рынке РФ зарегистрировать орфанный препарат можно только в рамках процедуры взаимного признания для целей обращения только на рынке референтного государства.

Взаимосвязь регистрационных процедур

Соглашение в отношении допуска препаратов в обращение и связанных с этим регистрационных процедур имеет характер отсылочных норм. На *рисунке 3* представлены процедуры, определенные в Законе 61-ФЗ, во взаимосвязи с нормами Соглашения и процедурами Правил. Действующий статус означает, что в законодательстве ЕАЭС норма отнесена на национальный уровень и ограничения по сроку ее действия нет либо в законодательстве ЕАЭС определены переходные положения, действуют параллельные процедуры и для национальной нормы определены сроки действия. Желтым отмечены нормы переходного периода, которые либо еще действуют до завершения заявленных процедур, но заявление новой процедуры с использованием этих норм невозможно (например, государственная регистрация по законодательству РФ), либо норма действует, но нет предмета для ее применения (подтверждение регистрации по Правилам). Недействующий характер нормы означает, что норма либо утратила свое действие с 01.01.2021, либо невозможно ее применение для целей регистрации в ЕАЭС (КИ, орфанность, государственная регистрация).

Ситуация «**светофора**» характерна для параллельных процедур государственной регистрации препаратов в РФ по Закону 61-ФЗ и регистрации препаратов в РФ по Правилам.

В настоящее время Минздрав России принимает заявления на национальные процедуры «Подтверждение регистрации» и «Внесение изменений в регистрационные досье зарегистрированных лекарственных препаратов», заявления можно подавать до 31.12.2025.

Таким образом, рассмотренные процедуры уровня национального законодательства, получение разрешения на проведение клинических исследований и получение решения о возможности рассматривать препарат в рамках его государственной регистрации в качестве орфанного для целей ЕАЭС не могут действовать в текущей редакции Закона 61-ФЗ по описанным выше причинам.

Процедура включения в государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС) фармацевтической субстанции остается действующей нормой национального уровня регулирования (ст. 34 Закона 61-ФЗ), по крайней мере до тех пор, пока действуют нормы Закона 61-ФЗ во взаимосвязи, такие как:

- при производстве лекарственных средств используются фармацевтические субстанции, сведения о которых содержатся в ГРЛС, за исключением фармацевтических субстанций, производимых для проведения КИ и для экспорта (ч. 4 ст. 45);
- ввозимые в РФ лекарственные средства должны содержаться в ГРЛС (ч. 2 ст. 47). Следует отметить, что в ГРЛС должна быть включена реестровая запись о фармацевтической субстанции. Эта норма относится к юридическим коллизиям, поскольку сведения о фармацевтических субстанциях, входящих в состав зарегистрированных лекарственных препаратов, могут быть не включены в ГРЛС отдельной записью, а содержаться внутри реестровой записи на лекарственный препарат, причем как в государственном реестре Российской Федерации, так и в едином реестре ЕАЭС, поэтому необходимо смотреть на правоприменительную практику Федеральной таможенной службы России при трактовке положений указанной статьи Закона 61-ФЗ, особенно в случаях, когда сведения содержатся уже не в ГРЛС, а в едином реестре ЕАЭС;
- фармацевтическая субстанция, произведенная для реализации, может быть включена в ГРЛС на основании заявления при условии проведения в отношении такой фармацевтической субстанции экспертизы качества в порядке, установленном ст. 34 Закона 61-ФЗ. Большинство фармацевтических субстанций производители реализуют для целей производства лекарственных препаратов, поэтому такие субстанции включаются в ГРЛС;
- производство лекарственных средств должно соответствовать требованиям правил надлежащей производственной практики, утвержденным уполномоченным федеральным органом исполнительной власти (ч. 1 ст. 45 Закона 61-ФЗ). Следует обратить внимание, что норма о необходимости предоставления заключения о GMP РФ при включении фармацевтических субстанций зарубежного производства в ГРЛС остается (ст. 34 Закона 61-ФЗ).

Процедуры с 01.01.2021	ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН ОТ 12.04.2010 № 61-ФЗ (ред. от 22.12.2020) с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2021)	РЕШЕНИЕ СОВЕТА ЕЭК ОТ 03.11.2016 № 78 (ред. от 23.12.2020). Начало действия редакции - 10.01.2021; окончание действия редакции - 26.05.2021	Уровень законодательства
ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ   	НОРМА НЕ ДЕЙСТВУЕТ ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ, ВНОВЬ ПОДАВАЕМЫХ НА РЕГИСТРАЦИЮ с 01.01.2021  НОРМА ОСТАЛАСЬ ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ, ЗАЯВЛЕННЫХ НА ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ до 01.01.2021 	с 01.01.2021 НОРМА НОСИТ ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ ХАРАКТЕР ДЛЯ РФ 	До завершения процедуры гос. рег. последнего ЛП, поданного до 01.01.2021, параллельно два уровня: - НАДНАЦИОНАЛЬНЫЙ - НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РЕГИСТРАЦИИ 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ ДЛЯ ЛП, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ ПО НАЦИОНАЛЬНОЙ ПРОЦЕДУРЕ ФЗ-61 до 31.12.2025 	НОРМА НАЧНЕТ ДЕЙСТВОВАТЬ для препаратов, зарегистрированных в ЕАЭС или приведенных в соответствие зарегистрированных менее чем в 3-х странах, после окончания срока действия их РУ (5 лет), дата первого РУ в РФ 06.11.2019 	- НАДНАЦИОНАЛЬНЫЙ - НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ВНЕСЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ ДЛЯ ЛП, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ ПО НАЦИОНАЛЬНОЙ ПРОЦЕДУРЕ ФЗ-61 до 31.12.2025 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ для препаратов, зарегистрированных или приведенных в соответствие в ЕАЭС 	- НАДНАЦИОНАЛЬНЫЙ - НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УСТАНОВЛЕНИЕ ОРФАННОГО СТАТУСА  	НОРМА ФАКТИЧЕСКИ НЕ ДЕЙСТВУЕТ с 01.01.2021, т.к. не действует норма по государственной регистрации 	РЕГУЛИРОВАНИЕ ОТНЕСЕНО НА НАЦИОНАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ, есть изъятие для регистрации на рынок только референтного государства с 28.03.2022 года  	НАЦИОНАЛЬНЫЙ (необходимы правки в 61-ФЗ) НАДНАЦИОНАЛЬНЫЙ (необходимы правки в 61-ФЗ)
ПОЛУЧЕНИЕ РАЗРЕШЕНИЯ НА ПРОВЕДЕНИЕ КИ  	НОРМА действует для ЛП, зарегистрированных по национальной процедуре ФЗ-61, в отношении которых планируются КИ в соответствии с требованиями правил надлежащей клинической практики РФ.  НОРМА ФАКТИЧЕСКИ НЕ ДЕЙСТВУЕТ , т.к. в ФЗ-61 указана ссылка на применимость только правил надлежащей клинической практики РФ 	ОТСУТСТВУЕТ	- НАДНАЦИОНАЛЬНЫЙ - НАЦИОНАЛЬНЫЙ НЕОБХОДИМЫ ИЗМЕНЕНИЯ в главу 7 ч. 1 ст.38 ФЗ-61
ВКЛЮЧЕНИЕ в ГРЛС ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ для ФС, производимых для реализации без изменений, и ФС, ввозимых в РФ 	ОТСУТСТВУЕТ	НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЗАИМОЗАМЕЯЕМОСТИ ЛП 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ как для препаратов, зарегистрированных по ФЗ-61, так и препаратов, зарегистрированных по Правилам ЕАЭС 	РЕГУЛИРОВАНИЕ ОТНЕСЕНО НА НАЦИОНАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ	НАЦИОНАЛЬНЫЙ
РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ для ПРИМЕНЕНИЯ в ВДЧС 	НОРМА ДЕЙСТВУЕТ до 31.12.2022 для препаратов, порядок регистрации которых установлен Постановлением Правительства 441 	РЕГУЛИРОВАНИЕ ОТНЕСЕНО НА НАЦИОНАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ	НАЦИОНАЛЬНЫЙ

Рисунок подготовлен авторами / The figure is prepared by the authors

Рис. 3. Сфера применения Федерального закона Российской Федерации № 61-ФЗ от 12.04.2010 «Об обращении лекарственных средств» и Правил регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденных Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 в развитие норм Соглашения о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках ЕАЭС. Зеленый цвет – действующий статус, красный цвет – недействующий статус, желтый цвет – переходный период. ЛП – лекарственные препараты, РУ – регистрационное удостоверение, КИ – клинические исследования, ГРЛС – государственный реестр лекарственных средств, ВДЧС – военные действия и чрезвычайные ситуации.

Fig. 3. Scope of the Russian Federal Law No. 61-FZ "On Circulation of Medicines" of 12 April 2010 and the Rules of Marketing Authorisation and Assessment of Medicinal Products for Human Use enacted by Resolution No. 78 of the Eurasian Economic Commission Council of 3 November 2016 in development of the Agreement on Common Principles and Rules of Circulation of Medicinal Products within the Eurasian Economic Union. The green font shows that the provision is in force, the red font shows that it is not in force, and the yellow one marks the transition period.

Определение взаимозаменяемости лекарственных препаратов остается действующей нормой национального уровня регулирования как для препаратов, зарегистрированных по Закону 61-ФЗ, так и для препаратов, зарегистрированных по Правилам ЕАЭС.

Норма о регистрации препаратов, которые предназначены для применения в условиях военных действий, чрезвычайных ситуаций, предупреждения чрезвычайных ситуаций, профилактики и лечения заболеваний, представляющих опасность для окружающих,

заболеваний и поражений, полученных в результате воздействия неблагоприятных химических, биологических, радиационных факторов, и которые разработаны, в том числе, по заданию федеральных органов исполнительной власти, уполномоченных в области обороны страны и безопасности государства, в Законе 61-ФЗ является нормой отсылочного характера. Такие препараты должны регистрироваться в порядке, установленном Правительством РФ, равно как и препараты, регистрируемые во избежание риска возникновения дефектуры лекарственных препаратов в условиях применения специальных экономических мер.

Постановления Правительства РФ от 03.04.2020 № 441, от 23.03.2022 № 440 и от 05.04.2022 № 593 имеют ограниченный срок действия.

В отношении лекарственных препаратов, зарегистрированных на основании указанных постановлений, не применяются Правила, их обращение регулируется законодательством государств-членов¹¹.

Заключение

Подводя итоги, отметим, что с 1 января 2026 года ряд процедур, отнесенных на уровень национального законодательства, продолжит регулироваться Законом 61-ФЗ и другими нормативными правовыми актами. Заявителям необходимо помнить, что в случае обращения препаратов только на территории нашей страны следует в полной мере выполнять, где это применимо, требования законодательства РФ об обращении лекарственных средств.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Е.М. Рычихина* — концепция работы; *А.Г. Заремба* — утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Ekaterina M. Rychikhina* conceptualised the work. *Aleksey G. Zaremba* approved the final version of the manuscript for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Заремба Алексей Григорьевич

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9922-7477>
zaremba@expmed.ru

Рычихина Екатерина Михайловна, канд. биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-2538>
richikhina@expmed.ru

Поступила 22.09.2023

После доработки 02.11.2023

Принята к публикации 23.11.2023

Aleksey G. Zaremba

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9922-7477>
zaremba@expmed.ru

Ekaterina M. Rychikhina, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-2538>
richikhina@expmed.ru

Received 22 September 2023

Revised 2 November 2023

Accepted 23 November 2023

¹¹ Пп. 2 п. 3 Правил и Решение Совета ЕЭК от 10.06.2022 № 96 «О временных мерах по установлению особенностей обращения лекарственных средств для медицинского применения».

БЛАГОДАРНОСТИ РЕЦЕНЗЕНТАМ
THANK YOU TO ALL OUR REVIEWERS

Выражаем искреннюю признательность рецензентам, которые оказали неоценимую помощь при подготовке выпусков журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств». В 2023 г. объективную оценку и рекомендации авторам поступивших в редакцию рукописей дали:

Антонова Н.П. (Москва)	Пахомова Д.К. (Караганда, Казахстан)
Безбородова О.А. (Москва)	Петров П.С. (Саранск)
Белоусов М.В. (Томск)	Пономарева А.В. (Волгоград)
Бельдиев С.Н. (Тверь)	Потанина О.Г. (Москва)
Бунятян Н.Д. (Москва)	Прунтова О.В. (Владимир)
Васильев В.Г. (Москва)	Рабцевич Е.С. (Томск)
Гармонов С.Ю. (Казань)	Ремезова И.П. (Пятигорск)
Глембоцкая Г.Т. (Москва)	Рождественский Д.А. (Москва)
Годовиков И.А. (Москва)	Руженцова Т.А. (Москва)
Горячев Д.В. (Москва)	Рыжков И.А. (Москва)
Гравель И.В. (Москва)	Рычихина Е.М. (Москва)
Джупарова И.А. (Новосибирск)	Сайбель О.Л. (Москва)
Дмитриев В.А. (Москва)	Саканян Е.И. (Москва)
Дмитриева М.В. (Москва)	Самылина И.А. (Москва)
Дул В.Н. (Москва)	Ситенкова А.В. (Казань)
Дурнев А.Д. (Москва)	Смехова И.Е. (Санкт-Петербург)
Дьякова Н.А. (Воронеж)	Смирнов В.В. (Москва)
Егорова С.Н. (Казань)	Солдатов В.О. (Белгород)
Енгальчева Г.Н. (Москва)	Старчак Ю.А. (Москва)
Еременко Н.Н. (Москва)	Стельмах В.В. (Санкт-Петербург)
Еремина Н.В. (Москва)	Сычев Д.А. (Москва)
Жохова Е.В. (Санкт-Петербург)	Сюбаев Р.Д. (Москва)
Журавлева М.В. (Москва)	Титова А.В. (Москва)
Зилфикаров И.Н. (Оболенск, Московская обл.)	Токин И.И. (Санкт-Петербург)
Ивкин Д.Ю. (Санкт-Петербург)	Тринеева О.В. (Воронеж)
Калитин К.Ю. (Волгоград)	Федорова О.С. (Санкт-Петербург)
Карякин А.В. (Москва)	Филатова Д.Г. (Москва)
Катаев В.А. (Уфа)	Хишова О.М. (Витебск, Беларусь)
Ковалева М.А. (Санкт-Петербург)	Ходько С.В. (Санкт-Петербург)
Компанцева Е.В. (Пятигорск)	Чертков В.А. (Москва)
Коростин С.В. (Москва)	Шимановский Н.Л. (Москва)
Круглов Д.С. (Новосибирск)	Шорманов В.К. (Курск)
Крышень К.Л. (Санкт-Петербург)	Шохин И.Е. (Москва)
Куркин В.А. (Самара)	Штырлин Ю.Г. (Казань)
Куркин Д.В. (Москва)	Шубникова Е.В. (Москва)
Маль Г.С. (Курск)	Якушева Е.Н. (Рязань)
Никитина Т.Г. (Санкт-Петербург)	Яшкин С.Н. (Самара)
Парфенова Е.Ю. (Москва)	

Ведомости Научного центра экспертизы
средств медицинского применения

**Регуляторные исследования
и экспертиза лекарственных средств**

