

УДК 615.03:615.72



Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида

А.С. Аметов¹, И.Е. Шохин², Е.А. Рогожина³, Т.Г. Бодрова⁴, М.Е. Невретдинова⁵,
П.А. Белый⁴, К.Я. Заславская⁶, Д.В. Куркин⁴, К.Н. Корянова⁷, Е.С. Мищенко⁷, С.М. Носков^{8,9}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

² Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»), 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», 119454, Россия, г. Москва, пр-кт Вернадского, д. 78

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127006, Россия, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4

⁵ Общество с ограниченной ответственностью «Практика здоровья», 117624, Россия, г. Москва, ул. Скобелевская, д. 1

⁶ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва» 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

⁷ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

⁸ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

⁹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3», 150007, Россия, г. Ярославль, ул. Маяковского, д. 61

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Получена 15.07.2023

После рецензирования 20.08.2023

Принята к печати 25.08.2023

Лираглутид является одним из аналогов инкретинного гормона человеческого глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и в настоящее время является приоритетным средством для лечения таких заболеваний, как сахарный диабет 2-го типа (в моно- и комбинированной терапии), ожирение и избыточная масса тела при наличии хотя бы одного сопутствующего заболевания.

Цель. Оценить биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) и лекарственного препарата Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания) при однократном применении здоровыми добровольцами.

Для цитирования: А.С. Аметов, И.Е. Шохин, Е.А. Рогожина, Т.Г. Бодрова, М.Е. Невретдинова, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Д.В. Куркин, К.Н. Корянова, Е.С. Мищенко, С.М. Носков. Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3): 255-276. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276

© А.С. Аметов, И.Е. Шохин, Е.А. Рогожина, Т.Г. Бодрова, М.Е. Невретдинова, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Д.В. Куркин, К.Н. Корянова, Е.С. Мищенко, С.М. Носков, 2023

For citation: A.S. Ametov, I.E. Shokhin, E.A. Rogozhina, T.G. Bodrova, M.E. Nevretdinova, P.A. Bely, K.Ya. Zaslavskaya, D.V. Kurkin, K.N. Koryanova, E.S. Mishchenko, S.M. Noskov. Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):255-276. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276

Материалы и методы. Данное исследование представляло собой открытое рандомизированное перекрестное сравнительное исследование по оценке фармакокинетических параметров, безопасности, переносимости и иммуногенности. В исследование были включены 26 здоровых добровольцев, из них в популяцию для оценки биоэквивалентности вошли все 26 участников. Оно включало 2 периода, в каждом из которых добровольцы получали либо исследуемый препарат (лираглутид в дозе 0,6 мг), либо референтный препарат (лираглутид в дозе 0,6 мг) однократно. Отмывочный период между каждым из приемов составлял 7 сут. Отбор образцов плазмы крови для определения концентрации лираглутида производили в диапазоне от 0 до 72 ч в каждом из периодов исследования. Концентрацию лираглутида определяли с помощью предварительно валидированного метода иммуноферментного анализа (ИФА). Количественное определение антител к лираглутиду в образцах сыворотки крови проводили с помощью фотометра для микропланшетов с использованием готовых предварительно валидированных производителем ИФА-наборов. Вывод об эквивалентности сравниваемых препаратов делали по отношению параметров C_{max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого лекарственного препарата по отношению к референтному.

Результаты. Фармакокинетические параметры препаратов были сопоставимы между собой. Полученные 90%-ные доверительные интервалы для отношения значений C_{max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого российского и референтного препарата составили 87,18–110,46, 84,40–104,11 и 86,69–103,22% соответственно, что удовлетворяло критериям оценки биоэквивалентности. Переносимость препаратов у добровольцев была отмечена как хорошая. Частота нежелательных явлений была сопоставима для исследуемого и референтного препаратов. В течение всего исследования не было зарегистрировано ни одного серьезного нежелательного явления. По результатам анализа иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к лираглутиду российского производства в сыворотке крови, что свидетельствовало об отсутствии иммуногенности препарата.

Заключение. В ходе проведенного исследования была подтверждена фармакокинетическая эквивалентность исследуемого и референтного препаратов. Был продемонстрирован высокий профиль безопасности и отсутствие иммуногенности у российского препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) в сравнении с зарубежным препаратом Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания).

Ключевые слова: глюкагоноподобный пептид-1; биоэквивалентность; фармакокинетика; лираглутид; ожирение; сахарный диабет 2 типа; Энлигрия

Список сокращений: СД 2 – сахарный диабет 2 типа; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; ГИП – глюкозозависимый инсулиотропный полипептид; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; АССЗ – атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания; HbA1c – гликированный гемоглобин; ИФА – иммуноферментный анализ; ИМТ – индекс массы тела; ДПП-4 – дипептидилпептидаза-4; АФС – активная фармацевтическая субстанция; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; РНК – рибонуклеиновая кислота; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция; ПЦР – полимеразная цепная реакция; БАД – биологически активная добавка; АД – артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЧДД – частота дыхательных движений; ЭКГ – электрокардиография; ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ЛПВП ХС – холестерин липопротеидов высокой плотности; НЯ – нежелательное явление; СНЯ – серьезное нежелательное явление; ДИ – доверительный интервал; ПОМК – проопиомеланокортин, КАПТ – кокаин-амфетамин-регулируемый транскрипт; НПУ – нейропептид Y; АПБ – агутиподобный белок; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота, ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ХБП – хроническая болезнь почек.

Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide

A.S. Ametov¹, I.E. Shokhin², E.A. Rogozhina³, T.G. Bodrova⁴, M.E. Nevretdinova⁵,
P.A. Bely⁴, K.Ya. Zaslavskaya⁶, D.V. Kurkin⁴, K.N. Koryanova⁷, E.S. Mishchenko⁷, S.M. Noskov^{8,9}

¹ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education,
Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993

² Limited Liability Company "Center for Pharmaceutical Analytics",
8, Simferopolsky Blvd, Moscow, Russia, 117638

³ MIREA – Russian Technological University,
78, Vernadsky Ave., Moscow, Russia, 119454

⁴ Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University,
4, Dolgorukovskaya Str., Moscow, Russia, 127006

⁵ Limited Liability Company "Health Practice",
1, Skobelevskaya Str., Moscow, Russia, 117624

⁶ National Research Ogarev Mordovia State University,
68, Bolshevistskaya Str., Saransk, Russia, 430005

⁷ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

⁸ Yaroslavl State Medical University,
5, Revolutionary Str., Yaroslavl, Russia, 150000

⁹ Clinical Hospital No. 3,
61, Mayakovskogo Str., Yaroslavl, Russia, 150007

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Received 15 July 2023

After peer review 20 Aug 2023

Accepted 25 Aug 2023

Liraglutide is one of the analogues of the incretin hormone human glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and is currently a priority treatment for diseases such as type 2 diabetes mellitus (mono- and combination therapy), obesity and overweight in the presence of at least one concomitant disease.

The aim of the work was to assess the bioequivalence and comparability of the safety and tolerability profile of the drug Enligr[®] (liraglutide 6 mg/ml, Promomed RUS LLC, Russia) and the drug Saxenda[®] (liraglutide 6 mg/ml, Novo Nordisk AS, Denmark) after a single dose in healthy volunteers.

Materials and methods. This study was an open-label, randomized, crossover comparative study to evaluate pharmacokinetic parameters, safety, tolerability and immunogenicity. The study comprised 26 healthy volunteers, 26 of whom were included in the bioequivalence assessment population. The study consisted of 2 periods, in each of which the volunteers received either the test drug (liraglutide at a single dose of 0.6 mg) or the reference drug (liraglutide at a single dose of 0.6 mg) once. The washout period between each dose was 7 days. Blood plasma samples were taken to determine the concentration of liraglutide in the range from 0 to 72 hours in each study period. Liraglutide concentrations were determined using a previously validated enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. A quantitative determination of antibodies to liraglutide in the blood serum samples was carried out using a microplate photometer and ready-made ELISA kits pre-validated by the manufacturer. The conclusion about the equivalence of the compared drugs was made based on the ratio of the parameters C_{max} , AUC_{0-72} and $AUC_{0-\infty}$ of the studied drug in relation to the reference one.

Results. The pharmacokinetic parameters of the drugs were comparable to each other. The resulting 90% confidence intervals for the ratio of the values of C_{max} , AUC_{0-72} and $AUC_{0-\infty}$ of the Russian test and reference drug were 87.18–110.46, 84.40–104.11 and 86.69–103.22% respectively, which satisfied the criteria for assessing bioequivalence. The tolerability of the drugs in the volunteers was notified as good. The incidence of adverse events was comparable for the test and reference drugs. No serious adverse events were reported throughout the study. According to the results of the immunogenicity analysis, no antibodies to russian produced liraglutide were detected in the blood serum of the volunteers, which indicated the lack of the drug immunogenicity.

Conclusion. During the study, the pharmacokinetic equivalence of the test and reference drugs was confirmed. The Russian drug Enligr[®] (liraglutide 6 mg/ml, Promomed RUS LLC, Russia) in comparison with a foreign drug Saxenda[®] (liraglutide 6 mg/ml, Novo Nordisk AS, Denmark)

Keywords: glucagon-like peptide-1; bioequivalence; pharmacokinetics; liraglutide, obesity, type 2 diabetes mellitus, Enligr[®]

Abbreviations: T2DM – type 2 diabetes mellitus; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; GIP – glucose-dependent insulinotropic polypeptide; CVDs – cardiovascular diseases; ASCVDs – atherosclerotic cardiovascular diseases; HbA_{1c} – glycated hemoglobin; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; BMI – body mass index; DPP-4 – dipeptidyl peptidase-4; API – active pharmaceutical substance; DNA – deoxyribonucleic acid; RNA – ribonucleic acid; GI tract – gastrointestinal tract; ARVI – acute respiratory viral infection; PCR – polymerase chain reaction; BAS – biologically active supplement; BP – blood pressure; HR – heart rate; RR – respiratory rate; ECG – electrocardiography; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C – high-density lipoprotein cholesterol; AE – adverse event; SAE – serious adverse event; CI – confidence interval; POMC – pro-opiomelanocortin, CART – cocaine-amphetamine-regulated transcript; NPY – neuropeptide Y; AgLP – agouti-like protein; GABA – gamma-aminobutyric acid, CHF – chronic heart failure; CKD – chronic kidney disease.

ВВЕДЕНИЕ

Избыточная масса тела ассоциирована с метаболическими нарушениями и является актуальной проблемой современной медицины, поскольку приводит к развитию целого ряда хронических заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сахарный диабет 2 типа (СД 2), а также оказывает серьезное влияние на ментальное здоровье^{1,2}. СД 2 представляет собой нарушение углеводного обмена, вызванное преимущественно инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или непосредственно нарушением секреции инсулина³.

Анализ данных клинической практики показывает, что зачастую у пациентов встречается наличие сразу двух заболеваний: ожирения и СД 2 [1]. Более того, люди с СД 2 испытывают больше трудностей на пути к снижению массы тела, чем люди, не страдающие данным заболеванием. Это обусловлено тем, что при инсулинорезистентном состоянии скелетные мышцы и печень являются основными органами, отвечающими за утилизацию глюкозы. Гиперинсулинемия способствует синтезу и накоплению триглицеридов, ингибируя при этом липолиз в адипоцитах, что приводит к увеличению объема жировой ткани [1, 2]. Результатом компенсаторной реакции на метаболические и гормональные изменения, сопровождающие начальное снижение веса, является увеличение синтеза орексигенных гормонов, отвечающих за стимуляцию аппетита [1]. Гипогликемические препараты, например сульфонилмочевина, тиазолидиндионы и инсулин, используемые в лечении пациентов с СД 2, обладают рядом побочных эффектов, таких как гипогликемия, увеличение массы тела, застойная сердечная недостаточность

¹ WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289057738#:~:text=Overweight%20and%20obesity%20affect%20almost,in%20the%20WHO%20European%20Region.>

² Клинические рекомендации МЗ РФ «Ожирение», 2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/28_2

³ Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых», 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/290_2

и остеопороз, что не позволяет многим пациентам достичь ключевых терапевтических целей⁴.

Последние десятилетия активно изучалась роль инкретиновых гормонов в регуляции метаболизма углеводов в организме человека и их влияние на β -клетки. Было показано, что инкретины, среди которых одним из важнейших является глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), отвечают за выработку инсулина после приёма пищи, стимулируя глюкозозависимую секрецию инсулина. Помимо этого, ГПП-1 подавляет чрезмерно повышенную секрецию глюкагона, замедляет опорожнение желудка, снижает аппетит и потребление энергии, и как результат снижает массу тела^{5,6} [3, 4]. Терапевтический потенциал нативного ГПП-1 ограничен вследствие его быстрого расщепления ферментом дипептидилпептидазой-4 (ДПП-4) и короткого периода полувыведения (1–2 мин). В связи с этим был разработан лираглутид – первый аналог человеческого ГПП-1, демонстрирующий стойкое улучшение уровня гликированного гемоглобина (HbA1c), и нормализацию функции β -клеток у пациентов с СД 2, а также снижающий массу тела пациентов с избыточным весом или ожирением вне зависимости от наличия или отсутствия СД 2 [3, 5]. Благодаря уникальной структуре лираглутида, увеличивается время полувыведения препарата из плазмы до 13 ч в сравнении с 2 мин для нативного ГПП-1. Пролонгированность действия обеспечивается тремя механизмами: 1) олигомеризацией в гептамеры путём взаимодействия между гидрофобными остатками пальмитата на каждой молекуле лираглутида (замена одного аминокислотного остатка (аргинина на лизин) в 34 положении и присоединение в 26 положении к лизину боковой цепочки из C₁₆ пальмитиновой кислоты), в результате которой происходит замедление всасывания препарата; 2) связывание с сывороточным альбумином в подкожной клетчатке, приводящее к более длительному периоду полувыведения после подкожного введения (13 ч). С учётом максимальной концентрации препарата в крови, которая наблюдается через 10–14 ч, продолжительность действия лираглутида составляет 24 ч⁷ [3–5].

Агонист рецептора ГПП-1 – лираглутид, как и нативный ГПП-1, обладает благоприятными метаболическими эффектами, которые включают

глюкозозависимую стимуляцию секреции инсулина, снижение опорожнения желудка за счет прямого действия на гипоталамус, ингибирование потребления пищи, приводящее к снижению веса, увеличению натрийуреза и диуреза, снижение общего холестерина и систолического / диастолического артериального давления^{8,9} [3].

Оригинальный препарат лираглутида был одобрен для медицинского применения в 2009 году и используется в клинической практике под торговыми названиями Виктоза® (Ново Нордиск А/С, Дания) и Саксенда® (Ново Нордиск А/С, Дания). Помимо этого, в настоящее время препараты на основе лираглутида зарегистрированы в США, Японии и ряде европейских стран, включая Россию. Исследования II фазы по определению оптимальной дозы продемонстрировали, что лираглутид обладает всеми ожидаемыми свойствами ГПП-1 при применении у людей: его введение обеспечивает контроль глюкозы в течение суток, низкую частоту гипогликемии, а также снижение массы тела у большинства пациентов¹⁰.

Лираглутид в дозах 1,2 и 1,8 мг/сут с 2010 года успешно применяется в клинической практике для лечения больных СД 2. Результаты мета-анализа 6 исследований III фазы LEAD (Liraglutide Effect and Action in Diabetes) продемонстрировали, что лираглутид в сравнении с другими сахароснижающими препаратами, обеспечивает более эффективное достижение терапевтических параметров метаболического контроля HbA1c¹¹ [6].

Для лираглутида было отмечено также преимущество в отношении вторичной профилактики атеросклеротических ССЗ. Исследование LEADER (Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of Cardiovascular Outcome Results) по изучению отдаленных сердечно-сосудистых исходов у 9 340 больных на фоне длительного применения лираглутида (медиана 3,5 года) с СД 2 и высоким сердечно-сосудистым риском продемонстрировало снижение вероятности развития серьезных нежелательных явлений (СНЯ) на фоне применения препарата в дозе 1,8 мг по сравнению с плацебо [7].

Для лечения ожирения лираглутид 3 мг (Саксенда®, Ново Нордиск А/С, Дания) был зарегистрирован в 2014 году. Существенное превосходство лираглутида (3 мг) в сравнении с плацебо по влиянию на массу тела подтверждено в ходе серии рандомизированных двойных слепых, плацебо-контролируемых исследований, входивших в программу SCALE (Satiety and Clinical Adiposity –

⁴ Там же.

⁵ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/drugs/enligraya-89718>

⁶ Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda. 11 Feb 2015. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/saxenda-epar-public-assessment-report_en.pdf

⁷ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия.

⁸ Там же.

⁹ Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda, 2015.

¹⁰ Questions and answers on generic medicines. EMEA document. EMEA/393905/2006. London, UK: European Medicines Agency, 2007. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.emea.europa.eu/pdfs/human/pcwp/39390506en.pdf

¹¹ Там же.

Liraglutide Evidence in nondiabetic and diabetic individuals)¹² [8–12].

Также в других клинических исследованиях было показано, что лираглутид обладает уникальным терапевтическим потенциалом, благодаря его комбинированному воздействию и на массу тела, и на степень контроля гликемии [13–15]. Лираглутид относится к числу сахароснижающих препаратов, успешно применяющихся у больных СД 2, в том числе у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. В исследовании «SCALE, диабет» доля больных, достигших уровня HbA1c <7%, на фоне терапии лираглутидом (3 мг) составила 69,2 против 27,2% (плацебо). В исследовании «SCALE, ожирение и предиабет» распространенность предиабета среди пациентов с установленным диагнозом при скрининге через 56 недель снизилась до 30,8%, в то время как в группе плацебо у такой же категории пациентов – до 67,3% [10, 11]. В ходе программы исследований SCALE было отмечено, что терапия лираглутидом (3 мг) сопровождалась снижением показателей систолического артериального давления, окружности талии, общего холестерина и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), увеличением холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), что также доказывает, что терапия лираглутидом способствовала снижению кардиометаболического риска даже у пациентов с ССЗ [16, 17].

В ходе исследования по изучению влияния терапии лираглутидом на массу тела подростков в возрасте от 12 лет и старше было продемонстрировано, что лираглутид превосходил плацебо в снижении стандартного отклонения ИМТ (95% доверительный интервал [ДИ] от -0,37 до -0,08; $p=0,002$), а дополнительных рисков в отношении безопасности препарата выявлено не было [18].

На современном этапе лираглутид входит в российские клинические рекомендации по лечению СД2 у взрослых, лечению ожирения у взрослых и детей, лечению хронической болезни почек (ХБП) для снижения риска прогрессирования у пациентов с ХБП и СД2, лечению нарушений липидного обмена у пациентов с СД 2-го типа и ССЗ, имеющих очень высокий и высокий сердечно-сосудистый риск для снижения вероятности возникновения как новых сердечно-сосудистых осложнений (ССО), так и смерти¹³ [5], что определяет его востребованность в Российской Федерации. Соответственно, импортозамещение иностранных препаратов российскими аналогами и локализация полного цикла производства от субстанции до готовой

лекарственной формы для препаратов лираглутида приобретает особую актуальность и важность с точки зрения обеспечения лекарственной независимости страны.

На фармацевтическом рынке лираглутид был представлен только в виде соединения, полученного биотехнологическим путем. Однако с учетом аминокислотного строения данного пептида, отсутствия у него третичной структуры^{14,15} и ряда ограничений, известных для рекомбинантных препаратов, целесообразным является производство активной фармацевтической субстанции (АФС) лираглутида посредством химического синтеза [19]. Более того, производственные возможности биотехнологических препаратов ограничены низкой продуктивностью используемых штаммов, что может препятствовать наработке требуемого количества субстанции, что может быть критичным с учетом востребованности данной группы препаратов у пациентов. Данный фактор также говорит о целесообразности получения подобного рода препаратов методом химического синтеза.

Таким образом, представляет интерес разработка, анализ и производство синтетического лираглутида, а также сравнение его физико-химических и биологических свойств относительно молекулы, произведённой биотехнологическим путем. Химический синтез является высокопроизводительным, масштабируемым, коммерчески жизнеспособным процессом [20–22]. Производство лираглутида данным методом позволяет исключить спонтанную замену аминокислот в итоговом продукте, характерную для процесса жизнедеятельности микроорганизмов, получить продукт высокой чистоты, с минимальным количеством прогнозируемо-идентифицированных примесей и высоким выходом [23–25]. Более того, такой продукт является неизменным, однородным и в нем отсутствуют остаточные примеси клеток-продуцентов, такие как белки, ферменты, фрагменты ДНК и РНК, что способствует повышению профиля безопасности и снижению риска иммуногенности, а, следовательно, риска неэффективности терапии [25].

Существует определенный пул исследований, позволяющий доказать эффективность и безопасность лекарственного препарата. Согласно руководству FDA¹⁶, альфа-аминокислотные полимеры, такие как глюкагон, лираглутид и др., имеющие в своем составе до 40 аминокислотных остатков, считаются

¹² Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/drugs/saksenda-75258>

¹³ Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых», 2022.

¹⁴ Liraglutide (Compound). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Liraglutide#section=3D-Status>

¹⁵ Там же.

¹⁶ U.S. Food and Drug Administration. ANDAs for Certain Highly Purified Synthetic Peptide Drug Products That Refer to Listed Drugs of rDNA Origin Guidance for Industry, 2021. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/andas-certain-highly-purified-synthetic-peptide-drug-products-refer-listed-drugs-rdna-origin>

не белковыми молекулами, а пептидами¹⁷. По мнению FDA, для подтверждения эквивалентности синтетического пептида и лираглутида, полученного биотехнологическим путем, содержащегося в препарате-предшественнике, достаточно доказать структурную идентичность АФС¹⁸, используя современные аналитические методы. Компания ООО «Промомед РУС» разработала собственную технологию получения АФС с использованием методов химического синтеза и выделения лираглутида и готовую лекарственную форму для лечения как ожирения, так и СД 2. Для дополнительной оценки качества и безопасности разработанных препаратов их регистрации в нашей стране в соответствии с российскими регуляторными требованиями помимо физико-химических методов анализа и доклинических исследований было проведено исследование фармакокинетики, безопасности и иммуногенности лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл) в сравнении с зарубежным препаратом-предшественником.

ЦЕЛЬ. Оценить биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) и лекарственного препарата Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания) при однократном применении здоровыми добровольцами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Составы исследуемых препаратов были идентичны, состав препарата лираглутида российского производства Энлигрия® (ООО «Промомед РУС», Россия), раствор для подкожного введения 6 мг/мл (далее – российский лираглутид, испытуемый препарат) соответствовал составу референтного препарата лираглутида Саксенда® (Ново Нордиск А/С, Дания), раствор для подкожного введения 6 мг/мл (далее – зарубежный лираглутид, препарат сравнения).

Физико-химические исследования

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области (200–400 нм). При сравнении спектров поглощения в ультрафиолетовой области препаратов российского и зарубежного лираглутида, исследуемые растворы каждого препарата разводили водой для инъекций до концентрации лираглутида в растворе 0,03 мг/мл. Анализ проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Япония), при спектральном диапазоне волн 190–1100 нм.

Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография. Метод эксклюзионной

хроматографии использовали для определения количественного содержания высокомолекулярных соединений в оригинальном зарубежном препарате и синтетическом аналоге лираглутида. Анализ проводили на жидкостном хроматографе с УФ-детекцией Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, США) с использованием колонки Tosoh TSK-gel G 2000 SWXL (7,8×300 мм, 5 мкм). Исследование проводили при длине волны 276 нм.

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография. Метод обращенно-фазовой хроматографии использовали для определения количественного содержания лираглутида, его примесей и фенола в зарубежном препарате и российском аналоге, а также подтверждения подлинности действующего вещества (лираглутид) и консерванта (фенол). Анализ проводили при использовании жидкостного хроматографа с УФ-детекцией Prominence (Shimadzu, Япония), при длине волны 215 нм. Для анализа использовали колонки Jupiter 4 мкм Proteo 90Å (Phenomenex, 250×4,6 мм, 4 мкм, 90 Å) и Luna RP C8 (2) (Phenomenex, 4,6×50 мм, 5 мкм).

Верификация аминокислотной последовательности и определение интактной массы методом хромато-масс-спектрометрии (LC-MS). Подтверждение подлинности целевого компонента в оригинальном зарубежном препарате и синтетическом аналоге лираглутида проводили методом tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения на квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре maXis 4G ETD (Bruker, США). Верификацию аминокислотной последовательности осуществляли путем пептидного картирования с идентификацией пептидов методом ВЭЖХ/МС/МС с ионизацией электроспреем (ESI) и вторичной ионизацией, инициируемой соударениями (CID). Идентификацию пептида проводили по точной моноизотопной массе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ/МС) с ионизацией электроспреем (ESI).

Изучение биологической активности *in vitro*

Биологическая активность исследуемых препаратов оценивали *in vitro* на культуре клеток CHO-K1/GLP-1R (GenScript, США). Данная клеточная линия имеет рецепторы к ГПП-1, с которыми связывается активное действующее вещество препаратов – лираглутид.

Культивирование клеточной линии проводили с использованием культуральной среды RPMI (ПанЭко, Россия) с добавлением раствора пенициллина / стрептомицина (1%) и фетальной бычьей сыворотки (10%), при стандартных условиях (температура – 37±1°C, содержание CO₂ – 5±1%), в течение 2 сут. Полученную суспензию разбавляли

¹⁷ Там же.

¹⁸ Там же.

до концентрации $2,5 \times 10^5$ клеток/мл, переносили в 96-луночные планшеты (по 5×10^3 клеток/лунку) и инкубировали.

По завершении инкубации из планшетов удаляли среду и вносили по 7,5 мкл исследуемых образцов, после чего планшеты перемешивали в течение 30 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем в планшеты добавляли по 7,5 мкл лизирующего буфера и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин при непрерывном перемешивании.

Оценку результатов проводили с помощью набора cAMP-Glo™ Assay (Promega, США) в соответствии с инструкцией к набору.

Оценка биоэквивалентности, профиля безопасности, переносимости и иммуногенности

Данное клиническое исследование I фазы № LIR-062022 представляло собой открытое рандомизированное перекрестное двухпериодное сравнительное исследование с участием здоровых добровольцев. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Условия проведения и продолжительность исследования

Исследование было проведено с 23 января по 25 апреля 2023 года на базе исследовательского центра ГБУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3» (Ярославль, Россия).

Этическая экспертиза

Исследование соответствовало этическим принципам, изложенным в Хельсинской декларации последнего пересмотра, правилам Надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза, Правилам надлежащей клинической практики Международного совета по гармонизации (ICH E6 GCP R2), а также другим законодательным актам, применимым к данному исследованию. Протокол клинического исследования был одобрен Минздравом России (разрешение № 725 от 26 декабря 2022 года) и Советом по этике МЗ (выписка из протокола № 335 заседания от 30 мая 2023 года), а также локальным этическим комитетом при исследовательском центре государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3» (выписка из протокола № 165 заседания от 30 сентября 2022 года).

Объекты исследования и критерии соответствия

Всего в исследование было включено 26 здоровых добровольцев, мужчины в возрасте от 18 до 45 лет

($32,42 \pm 7,78$ лет). Все участники подписали форму информированного согласия, а также изъявили способность и желание выполнять все предписания Протокола исследования. Кроме того, основными критериями включения были: масса тела >50 кг; ИМТ $18,5$ – 26 кг/м² включительно; верифицированный диагноз «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования; отрицательные результаты тестов на употребление алкоголя, психотропных и наркотических веществ и готовность отказаться от употребления алкоголя в течение участия в исследовании. Участники были предупреждены о необходимости использовать надежные методы контрацепции и воздержаться от донорства спермы на протяжении всего исследования и в течение 3-х мес после его окончания.

К основным критериям невключения относили: наличие хронических заболеваний различных систем органов; психических заболеваний; гиперчувствительность к препаратам исследования; применение в анамнезе лираглутида или других аналогов человеческого глюкагоноподобного пептида-1, прием лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику и/или функцию печени в течение менее 2 мес до скрининга; приём препаратов запрещенной терапии в течение менее 4 недель до скрининга; невозможность проведения подкожных инъекций; любые трудности с отбором крови в анамнезе или любые вазовагальные приступы во время отбора крови; хирургические вмешательства на ЖКТ (за исключением аппендэктомии) в анамнезе. Также нельзя было принять участие в исследовании в случае наличия следующих заболеваний и состояний: медуллярный рак щитовидной железы в анамнезе, в том числе в семейном; множественная эндокринная неоплазия 2 типа в анамнезе; тяжелая депрессия; суицидальные мысли или поведение, в том числе в анамнезе; острые инфекционные заболевания или симптомы ОРВИ в течение менее 4 недель до скрининга; наличие положительного ПЦР-теста на SARS-CoV-2. Добровольцев исключали из исследования в случае отказа от участия в клиническом исследовании, при приёме препаратов запрещенной терапии и положительном тесте на употребление алкоголя, психотропных и/или наркотических веществ, при наличии грубых нарушений требований и процедур Протокола, возникновения нежелательных явлений, а также при появлении в ходе исследования у добровольца любых заболеваний или состояний, которые делали невозможным дальнейшее его участие в исследовании. Врач-исследователь мог принять решение об исключении добровольца в интересах самого добровольца.

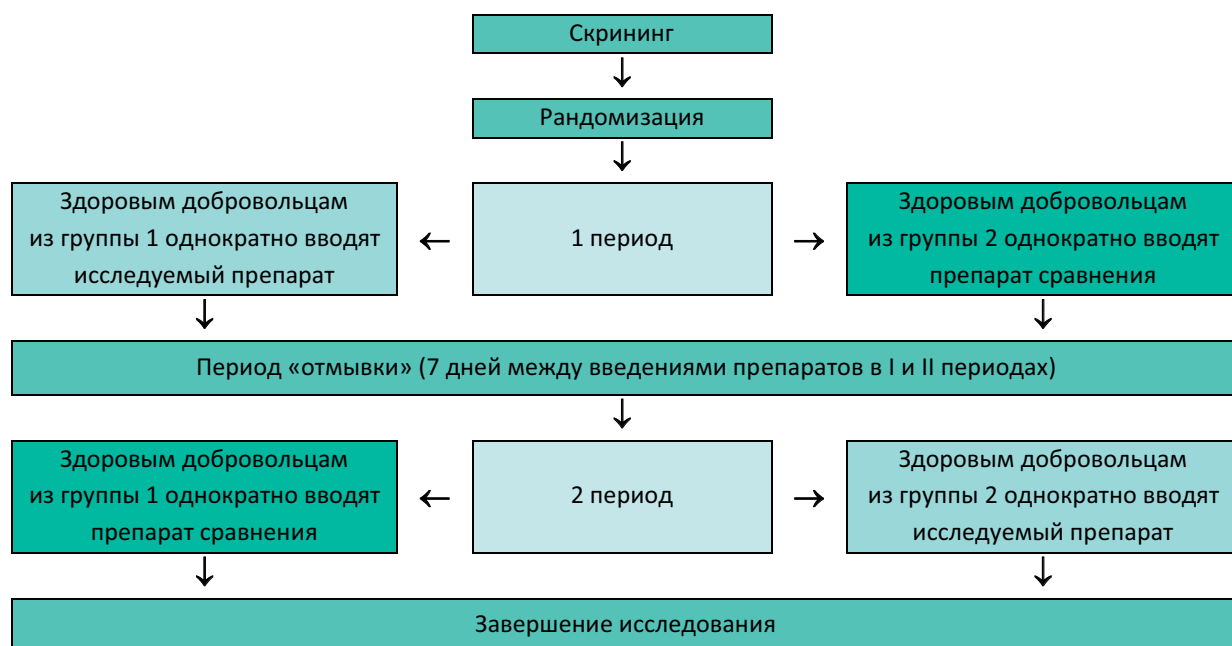


Рисунок 1 – Дизайн исследования

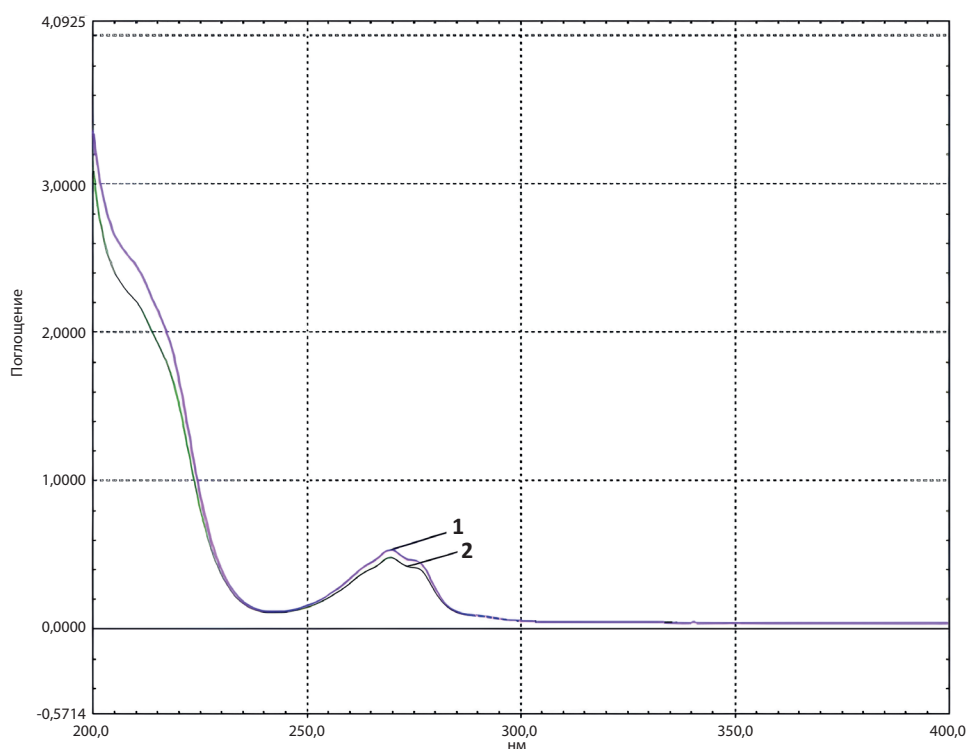


Рисунок 2 – Спектр поглощения препарата лираглутид

Примечание (здесь и для Рис. 3–6): 1 – синтезированный российский лираглутид; 2 – зарубежный лираглутид, оригинальный препарат.

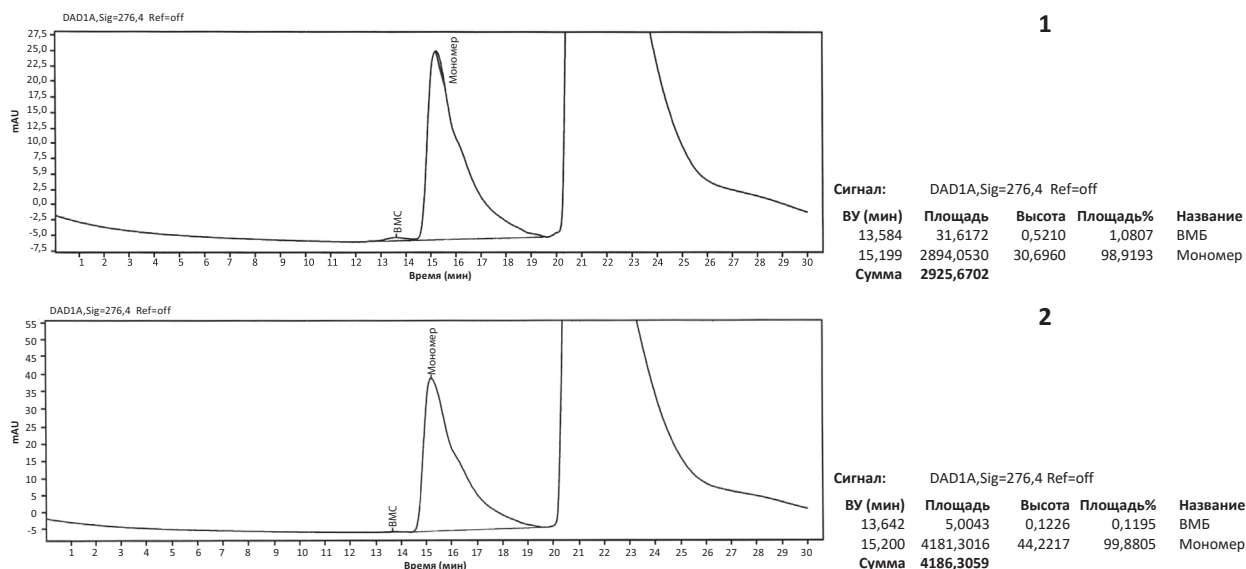


Рисунок 3 – Хроматограммы определения содержания высокомолекулярных соединений в препарате лираглутид, раствор для подкожного введения 6 мг/мл

Таблица 1 – Результаты хроматографического анализа препаратов лираглутида

Показатель	Саксенда®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания	Энлигрия®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия
Количественное определение лираглутида, мг/мл	6,4	6,3
Сумма примесей, %	2,367	0,904
Гидрофильные примеси, %	0,164	0,072
Примесь А, %	0,614	0,515
Примесь В, %	0,877	0,241
Примесь С, %	0,346	0,076
Гидрофобные примеси, %	0,366	Отсутствуют
Фенол, мг/мл	5,51	5,4

Таблица 2 – Средние значения фармакокинетических параметров после введения исследуемого препарата / препарата сравнения

Параметр	Результаты, Mean±SD	
	Энлигрия®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия	Саксенда®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания
C_{max} (нг/мл)	53,68±21,65	54,70±21,91
T_{max} (ч)	11,93±4,60	13,60±4,94
$AUC_{0 \rightarrow t}$ (нг*ч/мл)	2313,96±671,11	2468,50±904,96
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг*ч/мл)	2695,30±677,48	2849,24±905,32
$AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (%)	85,84±4,57	86,63±5,00
K_{el} (ч ⁻¹)	0,04±0,007	0,042±0,011
$T_{1/2}$ (ч)	17,45±3,19	16,54±3,35
V_d (л)	5,60±2,21	5,03±2,51
$AUC_{(t \rightarrow \infty)}$ (%)	13,35±4,56	12,23±5,00

Примечание: C_{max} – максимальная плазменная концентрация; T_{max} – время достижения C_{max} ; $AUC_{0 \rightarrow t}$ – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности; K_{el} – константа скорости терминальной элиминации; V_d – кажущийся объем распределения.

Таблица 3 – Значения рассчитанных 90% доверительных интервалов для показателей относительной биодоступности лираглутида после введения российского и зарубежного препарата

Table with 4 columns: Показатель, Соотношение средних геометрических значений, Рассчитанные значения 90% ДИ, CV_intra, %. Rows include f'', C_max(T)/C_max(R), f', AUC_0-t(T)/AUC_0-t(R), f, and AUC_0->inf(T)/AUC_0->inf(R).

Примечание: C_max – максимальная плазменная концентрация; AUC_0-t – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t; AUC_0->inf – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности; T – исследуемый препарат; R – препарат сравнения.

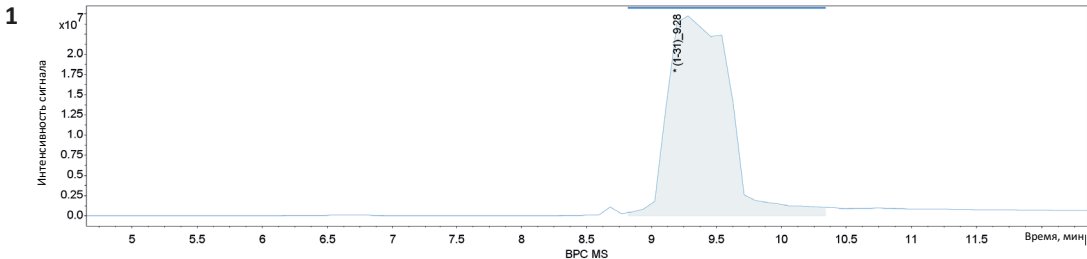


Table with 12 columns: Cmpd., m/z meas., z, Δ m/z [ppm], Δ m/z [Da], Rt [min], Score, No. of Cmpds., P, Peptide, Sequence, Modification, Mod. Ratio [%], Range. Contains data for various peptide sequences and modifications.

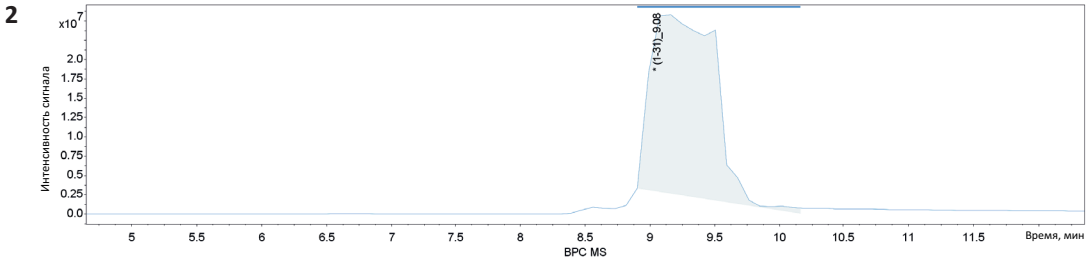


Table with 12 columns: Cmpd., m/z meas., z, Δ m/z [ppm], Δ m/z [Da], Rt [min], Score, No. of Cmpds., P, Peptide, Sequence, Modification, Mod. Ratio [%], Range. Contains data for various peptide sequences and modifications.

Рисунок 4 – Результаты верификации аминокислотной последовательности образцов препаратов лираглутида, раствор для подкожного введения 6 мг/мл

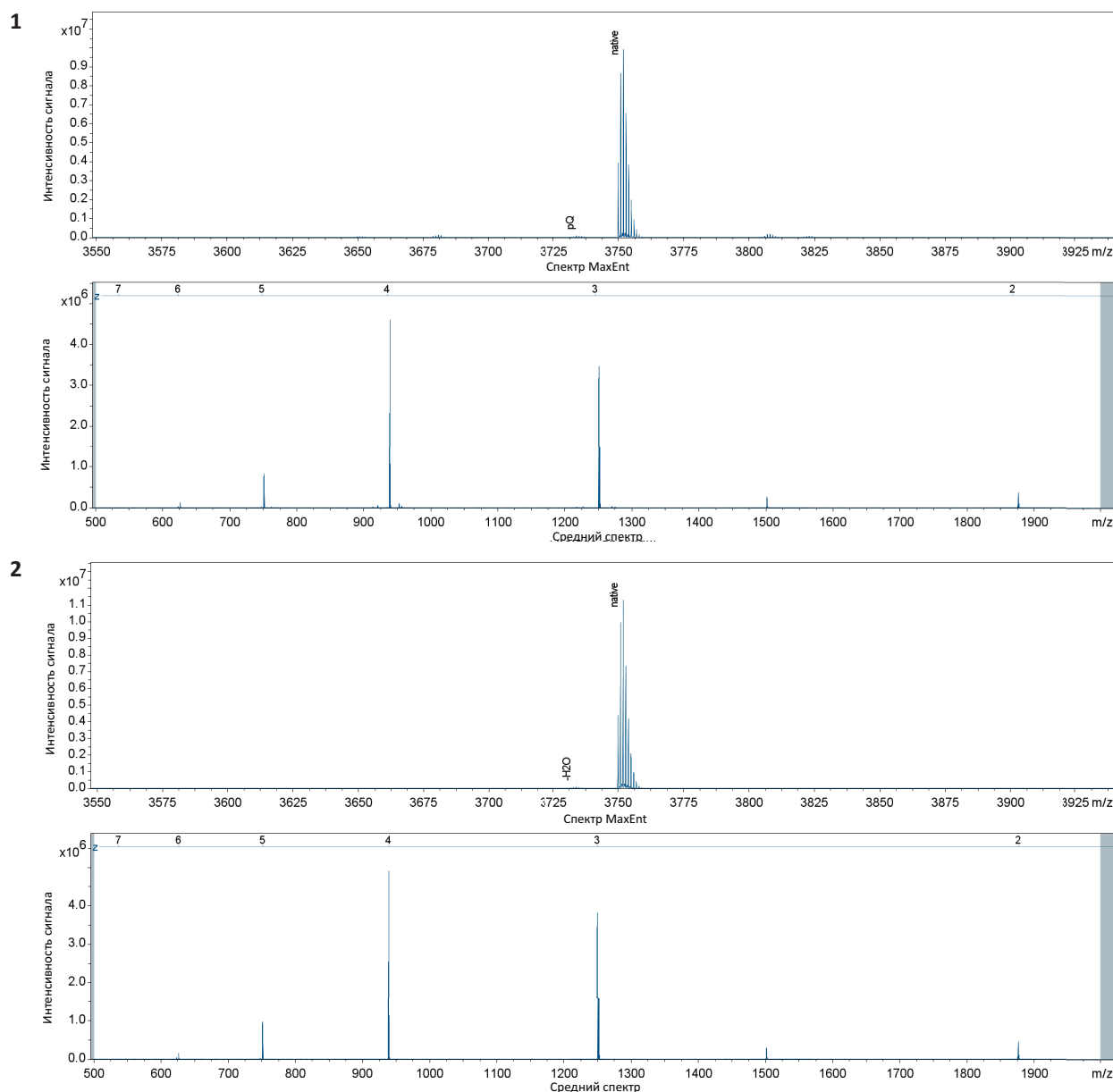


Рисунок 5 – Результаты идентификации масс белка в образцах препаратов лираглутида, раствор для подкожного введения 6 мг/мл (после деконволюции)

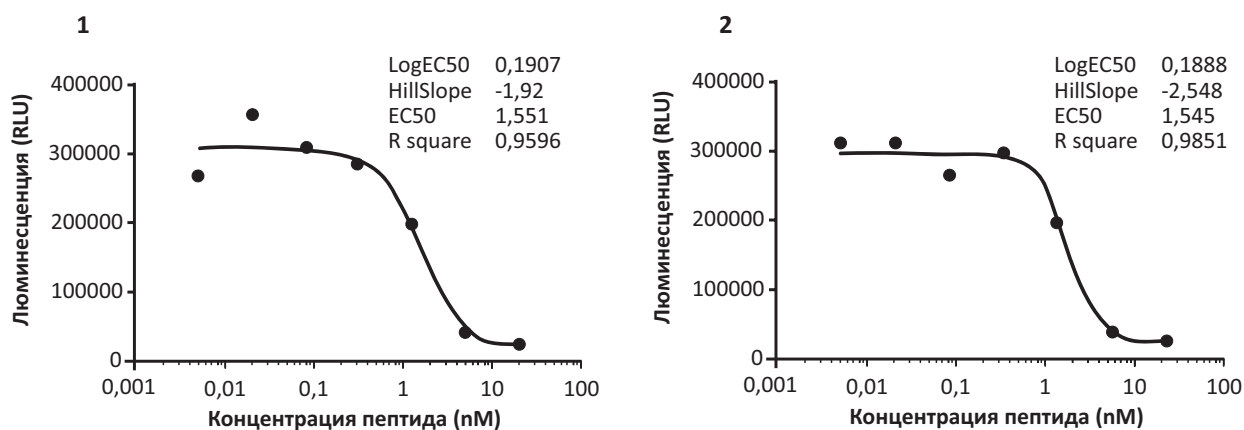


Рисунок 6 – График зависимости RLU от концентрации белка, полученный в рамках исследования связи с рецепторами ГПП-1 активного вещества образцов препарата лираглутида

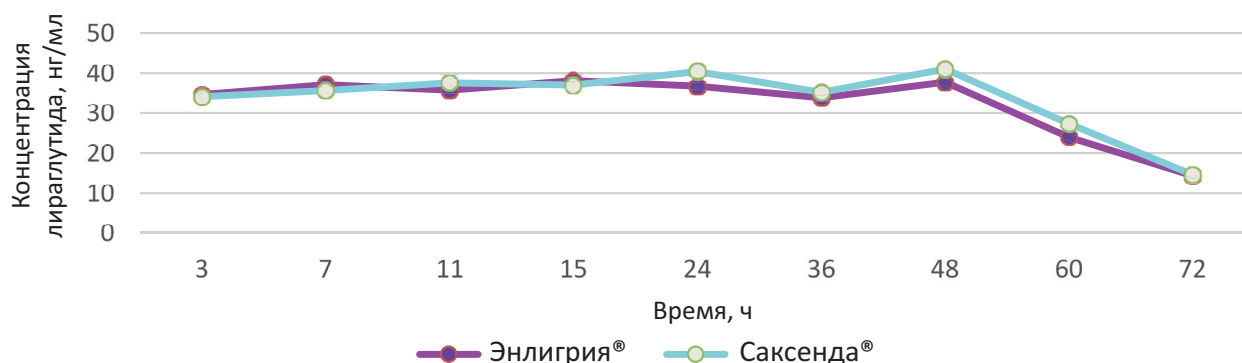


Рисунок 7 – Усреднённые показатели (Geom Mean) концентраций препаратов в линейном преобразовании без стандартных отклонений

Критерии исключения: отказ добровольца от участия в клиническом исследовании; врачом-исследователем принято решение, что добровольца необходимо исключить в интересах самого добровольца; ошибочное включение добровольца, не соответствующего критериям включения и/или соответствующего критериям невключения; положительный тест на употребление алкоголя, психотропных и/или наркотических веществ; опоздание в клинику для госпитализации более чем на 1 ч; пропуск 2-х и более отборов проб крови для определения фармакокинетических параметров подряд в течение одного периода исследования или трех отборов проб крови для определения фармакокинетических параметров в течение одного периода исследования; применение добровольцем витаминов, БАД, лекарственных препаратов, включая растительные и/или гомеопатические, за исключением исследуемого препарата / препарата сравнения; появление в ходе исследования у добровольца любых заболеваний или состояний, которые делают невозможным дальнейшее его участие в исследовании; добровольец отказывается сотрудничать, не дисциплинирован, не соблюдает правила участия в исследовании.

Оценку сопутствующей терапии и критериев исключения проводили на протяжении всего участия добровольца в исследовании. Общая продолжительность исследования для каждого добровольца составляла не более 25 дней.

Процедура рандомизации

Каждому добровольцу, соответствовавшему всем критериям включения и не соответствовавшему ни одному из критериев невключения, был присвоен рандомизационный номер в соответствии с планом рандомизации, подготовленным для данного исследования в программе WinPepi 11.65 (модуль ETCETERA 3.26) методом генерации случайных чисел. Рандомизационный номер добровольца вносил врач-исследователь в Журнал

скрининга / рандомизации субъектов исследования. Если доброволец преждевременно прекращал участие в исследовании, его рандомизационный номер повторно не использовали, и доброволец впоследствии уже не мог вернуться в исследование.

Введение препаратов

В качестве исследуемого препарата применяли препарат Энлигрия® (лираглутид, раствор для подкожного введения, 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия). Препаратом сравнения являлся препарат Саксенда® (лираглутид, раствор для подкожного введения, 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания). Добровольцы, соответствовавшие критериям включения и не соответствовавшие критериям невключения, были рандомизированы в 2 группы в соотношении 1:1. Группа I ($n=13$) получала в I периоде исследования российский лираглутид, во II периоде исследования – препарат сравнения – зарубежный лираглутид. Группа II ($n=13$) получала в I периоде исследования препарат сравнения, во II периоде исследования – исследуемый препарат. Введение препарата сравнения / исследуемого препарата осуществляли в дозе 0,6 мг однократно подкожно в область живота. Выбор дозы основан на российских и международных регуляторных требованиях к этичности и безопасности применения лекарственных препаратов у здоровых добровольцев^{19,20}, а также с учетом требований Надлежащей клинической практики, в рамках которой до начала исследования должна быть проведена оценка соотношения предвидимого (предсказуемого) риска и неудобств (в данном случае, влияние действующего вещества

¹⁹ Хельсинская Декларация «Всемирной Медицинской Ассоциации» «Этические принципы медицинских исследований с учетом человека в качестве испытуемого»: принята июнь 1964 г. – Эдинбург, 2000. – 50 с.

²⁰ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 (ред. от 15.02.2023) «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/

на гликемический профиль и выработку инсулина) с ожидаемой пользой для субъекта исследования и общества. Следует заметить также, что для выбранной дозы имеется опыт клинического применения биоаналогичных препаратов лираглутида у здоровых добровольцев^{21,22} [4]. Стоит отметить, что результаты исследований показали линейность и пропорциональность кинетики при увеличении дозы согласно схеме применения препаратов лираглутида в соответствии с инструкцией по медицинскому применению, что также подтверждает обоснованность выбранной дозы у здоровых добровольцев и подтверждает неизменность результатов сравнения фармакокинетических параметров и параметров безопасности вне зависимости от повышения дозы [4, 26, 27]. Период отмытки составлял 7 дней и начинался непосредственно после введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцу в рамках I периода. По данным литературы период полувыведения лираглутида составляет порядка 13 ч [4]. Таким образом, отмывочный период для минимизации рисков влияния первого приёма препаратов должен составлять не менее 5 периодов полувыведения, т.е. не менее 65 ч.

Для введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцы были госпитализированы в стационар вечером накануне и не менее чем за 10 ч до введения препарата. На период нахождения в стационаре добровольцы соблюдали правила пребывания в нем. Длительность госпитализации составляла не более 4 сут. Во время проведения исследования было запрещено применение витаминов, БАД и/или лекарственных препаратов, включая растительные и гомеопатические препараты, за исключением предусмотренных настоящим Протоколом. В течение всего исследования, от начала скринингового обследования и до завершения заключительного осмотра, добровольцы воздерживались от пищи и напитков, которые могут влиять на функцию кровообращения, желудочно-кишечную деятельность, функции печени или почек и от приема алкоголя.

Подготовка и отбор проб

После рандомизации и перед началом введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцам устанавливали кубитальный гепаринизированный катетер не более чем на 16,5 ч. После удаления катетера отбор крови у добровольцев проводили путем венепункции. Отбор проб крови для определения фармакокинетических

параметров осуществляли в следующие временные точки: за 10–15 мин до введения исследуемого препарата / препарата сравнения (исходная (0) проба) и далее через 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 24, 36, 48, 60 и 72 ч после введения лираглутида. Исходную (0) проба также использовали для оценки иммуногенности. Таким образом, во всех периодах исследования проводили по 19 отборов проб крови для каждого добровольца (по 6 мл каждый) для исследования фармакокинетики.

Отбор проб крови для оценки иммуногенности исследуемого препарата / препарата сравнения осуществляли за 10–15 мин до введения исследуемого препарата / препарата сравнения в I и II периоде исследования. При скрининге проводили отбор крови объемом не более 18 мл для проведения клинического, биохимического, серологического анализов и определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра. При завершении II периода исследования также проводили отбор крови для проведения клинического, биохимического анализов и определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра (12 мл). Отбор образцов крови производили в пробирки для получения сыворотки с активатором свертывания. После образования сгустка пробирки центрифугировали, полученную сыворотку аккуратно переносили в предварительно промаркированные криопробирки, разделяя сыворотку на две аликвоты: одну для анализа (аликвота А), другую для повторных анализов (аликвота В). Образцы сыворотки замораживали сразу после получения и переноса в криопробирки и хранили при температуре не выше -70°C.

Аналитический метод

Оценку фармакокинетики проводили по концентрации лираглутида в плазме крови и антител к нему в сыворотке крови каждого добровольца после подкожного введения исследуемого препарата / препарата сравнения. Количественное определение лираглутида в образцах сыворотки крови проводили с помощью фотометра для микропланшетов HiPo MPP-96 (Biosan, Латвия). Расчет концентраций лираглутида проводили при помощи программного обеспечения «Quant Assay v0.8.2.6», а концентрации антител к лираглутиду с помощью «GraphPad Prism 8.4.3». Определение лираглутида в образцах сыворотки крови осуществляли с помощью предварительно валидированного метода иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерчески доступных наборов «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Liraglutide (LRT) Organism Species: Pan-species (General) (CEV769Ge 96 Tests)»; антител к лираглутиду с помощью набора «KRIBIOLISATM Anti-Liraglutide ELISA». Чувствительность метода

²¹ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия.

²² Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda, 2015.

составила 4,64 нг/мл, диапазон определения 12,35–1000,00 нг/мл. Приготовление калибровочных образцов из набора осуществляли путем разведения стандартного образца. Аналитический диапазон выбран в соответствии с инструкцией к набору.

Оценка безопасности и переносимости

В ходе исследования было проведено клиническое наблюдение за добровольцами с оценкой данных физикального осмотра, включая опрос о жалобах добровольца, основных жизненно важных показателей (АД, ЧСС, ЧДД, температура тела), ЭКГ в 12 отведениях, лабораторных показателей клинического, биохимического анализов крови, общего анализа мочи, определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра. Критерии оценки безопасности включали в себя частоту и степень тяжести НЯ, зарегистрированных по данным отклонений от нормы результатов лабораторных анализов, физикального осмотра, оценки жизненно важных показателей, ЭКГ; количество случаев досрочного прекращения участия в исследовании из-за развития нежелательных явлений (НЯ) и/или серьезных нежелательных явлений (СНЯ), в том числе связанных с исследуемым препаратом / препаратом сравнения; частоту добровольцев с обнаруженными антителами к лираглутиду; оценку общей переносимости исследуемого препарата / препарата сравнения по шкале Лайкерта. Оценку безопасности и переносимости лираглутида проводили для всех добровольцев. Выявление НЯ происходило с момента введения исследуемого препарата до момента завершения участия добровольца в исследовании.

Фармакокинетические параметры: максимальная концентрация вещества в сыворотке крови (C_{max}); время достижения C_{max} (T_{max}); площадь под кривой «концентрация – время» с момента введения лекарственного препарата до последней определяемой концентрации во временной точке t ($AUC_{0 \rightarrow t}$); площадь под фармакокинетической кривой, начиная с нулевого значения времени до бесконечности ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$); отношение значений $AUC_{0 \rightarrow t}$ к $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ($AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$); константа скорости терминальной элиминации (K_{el}); период полувыведения ($T_{1/2}$); объем распределения (V_d); остаточная (экстраполируемая) площадь под кривой, определяемая по формуле $AUC_{0 \rightarrow \infty} - AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ($AUC_{(t \rightarrow \infty)}$); показатели относительной биодоступности и относительной степени всасывания ($f = AUC_{0 \rightarrow \infty}(T) / AUC_{0 \rightarrow \infty}(R)$); $f' = AUC_{0 \rightarrow t}(T) / AUC_{0 \rightarrow t}(R)$; $f'' = C_{max}(T) / C_{max}(R)$).

Статистический анализ

Для расчёта численности участников использовали данные о коэффициентах внутрииндивидуальной

вариабельности (CV_{intra}) параметров C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$ и $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида. По данным литературных источников интраиндивидуальный коэффициент вариации для C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$ и $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида не превышает 21% [7]. При перекрестном дизайне, принимая в расчёт, что 90% ДИ составили 80,00–125,00%, $CV_{intra} = 21\%$, $\alpha = 0,05$, мощность исследования – 80%, отношение геометрических средних – 0,95, было необходимо включение не менее 21 здорового добровольца (22 добровольцев с учетом равномерного распределения в исследуемые группы), которые полностью завершили исследование и были приняты в статистический анализ. С учётом выбывания в исследовании была запланирована рандомизация 26 здоровых добровольцев.

Для фармакокинетических расчётов было использовано фактическое время отбора проб крови. Расчёт фармакокинетических параметров, статистический анализ показателей безопасности и оформление результатов проводили с использованием статистических пакетов StatSoft Statistica версии 10.0/13.3, IBM SPSS Statistics 22 и с помощью программы R Project (версия 3.5.1, лицензия GPL-2/GPL-3) с расширением *beaR*, версия 2.8.3-2. Показатели, используемые для оценки фармакокинетики лираглутида, представлены в таблице 1.

Для всех фармакокинетических показателей рассчитывали следующие статистические параметры: среднее арифметическое, среднее геометрическое, стандартное отклонение среднего, коэффициент вариации, медиана, минимальное и максимальное значения, разброс.

Статистический анализ проводили, исходя из предположения о лог-нормальном распределении $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, C_{max} и нормальном распределении остальных фармакокинетических параметров за исключением T_{max} . После проведения логарифмического преобразования эти показатели анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA), при стандартном уровне значимости $\alpha = 0,05$. Дисперсионный анализ применяли для проверки гипотез о статистической значимости вклада в наблюдаемую вариабельность следующих факторов: различия между препаратами, различия между здоровыми добровольцами, последовательность введения препаратов, периоды исследования.

Вывод об эквивалентности сравниваемых препаратов делали с использованием подхода, основанного на оценке 90% ДИ для отношений средних геометрических значений параметров C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида.

Для всех показателей безопасности и переносимости, собранных в ходе исследования, представлена описательная статистика. Для

анализа частотных показателей было проведено сравнение долей при помощи двустороннего варианта точного критерия Фишера или критерия χ^2 . Для сравнения количественных непрерывных показателей использовали t -критерий Стьюдента (в случае нормального распределения) или критерий Манна-Уитни (в случае распределения, отличного от нормального). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Физико-химические исследования

Спектрофотометрия

в ультрафиолетовой области

Полученные результаты (Рис. 2) продемонстрировали аналогичность спектров поглощения в УФ-области препаратов зарубежного лираглутида ($\text{min}=242,4$ нм; $\text{max}=269,6$ нм) и отечественного лираглутида ($\text{min}=242,2$ нм; $\text{max}=269,4$ нм).

Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография

Типовые хроматограммы, полученные при проведении определения высокомолекулярных соединений представлены на рисунке 3.

Полученные результаты демонстрируют сопоставимость времени удерживания высокомолекулярных соединений и лираглутида, а также сопоставимость количественного содержания примесей высокомолекулярных соединений в препарате зарубежного (0,131%) и российского (0,052%) лираглутида.

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

На основании полученных результатов (табл. 1) показано, что время удерживания хроматографических пиков лираглутида в препарате сравнения и в исследуемом препарате составляло около 14,7 мин, профили пиков хроматограмм для лираглутида и примесей были аналогичны. При этом на момент анализа содержание примесей в российском лираглутиде было в 3,5 раза ниже, чем в препарате иностранного производства, что может быть связано с технологией его получения.

Более того, в российском препарате лираглутида, содержащем в своем составе синтетическую молекулу, отсутствовали гидрофобные примеси.

Время удерживания хроматографических пиков фенола в препаратах составляло около 1,3 мин, что соответствовало времени удерживания фенола в растворе сравнения. Полученные данные свидетельствовали о том, что содержание фенола в препаратах зарубежного и российского лираглутида практически эквивалентно.

Верификация аминокислотной последовательности и определение интактной массы методом хромато-масс-спектрометрии (LC-MS)

Результаты верификации аминокислотной последовательности образца лираглутида российского производства с химически синтезированным активным веществом и зарубежного лираглутида представлены на рисунке 4.

Результаты идентификации масс белка с учетом возможных изоформ образца с химически синтезированным российским лираглутидом и зарубежным лираглутидом представлены на рисунке 5.

В результате верификации аминокислотной последовательности для всех образцов было получено 100% покрытие. Аминокислотная последовательность образцов полностью соответствовала заявленной. В результате идентификации, проводимой по точной массе белка с учетом возможных изоформ, было установлено, что точная моноизотопная масса всех образцов соответствовала заявленной структурной формуле.

Биологическая активность *in vitro*

Графики зависимости RLU от концентрации белка представлены на рисунке 6.

Полученные результаты демонстрируют сопоставимость биологической активности российского препарата ($\text{EC}_{50}=1,545$) с химически синтезированным активным веществом и оригинального зарубежного лираглутида ($\text{EC}_{50}=1,551$). Диапазон активности обоих исследуемых препаратов находился в пределах от 80 до 120% по отношению к стандартному образцу.

Биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости

Популяция

Всего в исследование было включено 26 добровольцев мужского пола. Все добровольцы были включены в популяцию для оценки безопасности, для анализа фармакокинетики и оценки биоэквивалентности. Средний возраст добровольцев в популяции составил $32,42 \pm 7,78$ лет, средняя масса тела – $78,61 \pm 5,27$ кг, средний рост – $178,62 \pm 4,99$ см, средний показатель индекса массы тела (ИМТ) составил $24,62 \pm 0,94$ кг/м². Демографические и исходные характеристики (пол, возраст, раса, вес, рост) добровольцев не отличались между группами.

Фармакокинетика и биоэквивалентность

Средние значения основных и дополнительных фармакокинетических параметров после применения отечественного препарата и референтного представлены в таблице 2.

График динамики средних концентраций лираглутида на фоне введения исследуемого препарата / препарата сравнения отражен на рисунке 7.

Как следует из представленных данных, средние значения как основных, так и дополнительных фармакокинетических параметров, полученных после применения исследуемого и референтного препаратов, были сопоставимы между собой.

По результатам статистического анализа полученные 90% ДИ для отношения значений C_{\max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого российского и зарубежного препарата составили 87,18–110,46, 84,40–104,11 и 86,69–103,22% соответственно. Коэффициенты внутрииндивидуальной вариации, рассчитанные на основании анализа ANOVA, составили 25,33% для величины C_{\max} , 22,38% для величины AUC_{0-t} и 18,55% для величины $AUC_{0-\infty}$.

Таким образом, интервалы, полученные в ходе исследования, полностью соответствовали пределу эквивалентности 80,00–125,00% для показателей C_{\max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$, наглядно демонстрируя биоэквивалентность исследуемого препарата и препарата сравнения (табл. 3).

Результаты дисперсионного анализа ANOVA показали, что различия в средних значениях основных фармакокинетических параметров не были статистически значимы и не вызваны различиями между сравниваемыми препаратами для факторов «Последовательность введения», «Период» и «Препарат» для фармакокинетических параметров C_{\max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$.

Безопасность

Все добровольцы завершили исследование полностью в соответствии с утвержденным протоколом исследования. В ходе исследования у добровольцев не было зарегистрировано НЯ. В 100% (26) случаев у добровольцев переносимость была оценена как «хорошая». СНЯ в ходе проведения исследования и после его завершения у добровольцев не выявлено. Смертельные случаи не наблюдались. Случаев возникновения беременности половой партнерши участника исследования во время проведения исследования и после его завершения зарегистрировано не было. Не обнаружено отклонений от нормы по результатам клинического и биохимического анализа крови, определения уровня глюкозы в крови, общего анализа мочи, параметров основных жизненно важных показателей, физикального осмотра и ЭКГ.

Оценка иммуногенности

По результатам анализа параметров иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к лираглутиду в сыворотке крови, что свидетельствовало об отсутствии иммуногенности

препарата. Неожиданные результаты при проведении исследования не отмечены.

Таким образом, исследуемый препарат Энлигрия® и препарат сравнения Саксенда® имели сходный профиль безопасности. При этом для отечественного препарата не было отмечено случаев иммуногенности, что подтверждает высокий профиль безопасности и снижение риска отсутствия эффективности терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Широкий спектр преимуществ лираглутида делает его стратегически выгодным и привлекательным для производства продуктом. Исходя из этого, нами был проведен поиск способов получения данного соединения и проанализированы преимущества и недостатки каждого из методов, чтобы до конца сформировать доказательную базу в пользу данного соединения.

Биотехнологический способ производства лираглутида

Лираглутид, разработанный компанией Ново Нордиск А/С (US7572884B2 [28], US7273921B2 [29]) впервые был представлен на российском рынке в 2010 году в качестве гипогликемического средства под названием Виктоза® (Victoza®), раствор для подкожного введения, 6 мг/мл [30]. Пептидный предшественник лираглутида был получен с помощью технологии генетической рекомбинации [31] с использованием *Saccharomyces cerevisiae* для экспрессии молекулы Arg34GLP-1 (7–37), структура которого была спроектирована таким образом, чтобы быть на 97% гомологичным нативному человеческому ГПП-1 путем замены аминокислоты аргинин на лизин в положении 34 [32, 33]. После чего сам лираглутид был получен путем присоединения S^{16} пальмитиновой кислоты через глутаминовый спейсер к ϵ -аминогруппе лизина, находящегося в положении 26 [32].

Saccharomyces cerevisiae является биологически безопасным штаммом с простыми генетическими манипуляциями и четким механизмом регуляции экспрессии генов [34]. По сравнению с полным химическим синтезом лираглутида, полухимический синтез, включающий экспрессию пептида-предшественника в генно-инженерной системе экспрессии белка и дальнейшую его химическую модификацию, является более экономичным и экологически чистым [33].

Однако такие эукариотические системы имеют ряд недостатков. Известно, что уровень экспрессии гетеролитических белков в *Saccharomyces cerevisiae*, особенно полипептидов ГПП-1, сильно зависит от протеазы в процессе ферментации. Именно поэтому исследователями была произведена попытка нокаутировать различные гены протеазы

и гликозилазы в *S. cerevisiae*, для создания протеаз-дефицитного штамма, с целью увеличения экспрессии и уменьшения деградации целевого продукта [34].

В настоящее время экспрессия чужеродных генов может осуществляться с использованием не только эукариотических систем, но и прокариотических [35]. *Escherichia coli* (*E. coli*), является одной из предпочтительных систем экспрессии (US10851146B2 [31], CN114807205A [36], US2020024321A1 [37]), так как ее генетический фон и механизм регуляции хорошо изучены [35], она способна к размножению и не требует дорогостоящего оборудования [35, 38, 39].

Несмотря на все преимущества использования эукариотических и прокариотических систем экспрессии для производства пептида-предшественника лираглутида, биотехнологическое производство имеет ряд значительных недостатков. Основной проблемой является обеспечение генетической стабильности и соответствующего выхода продукта, так как используемые системы экспрессии могут производить белки с несовершенной структурой. Также при производстве лираглутида методом рекомбинантной технологии необходимо доказать, что продукт не загрязнен микроорганизмами и не содержит продуктов их жизнедеятельности [40]. Исходя из этого существует потребность в изучении и разработке способов получения лираглутида альтернативным путем.

Химический синтез

Можно выделить два стандартных подхода к химическому синтезу агонистов ГПП-1, а именно: синтез пептидов в жидкой фазе и синтез твердофазных пептидов. Кроме того, могут быть использованы гибридные подходы, описанные в патентах WO 2019069274 [40] и CN104650219 [41], при которых фрагменты сначала синтезируются одним из вышеперечисленных методов, а затем конденсируются вместе [42]. Основным недостатком такого синтеза является то, что для проведения реакции конденсации требуется избыточное количество пептидных фрагментов, что в свою очередь приводит к серьезным потерям, образованию большого количества примесей, и как следствие затрудняет очистку лираглутида, не позволяя тем самым получить чистый целевой продукт [43]. Увеличить выход пептида, и получить продукт большей чистоты при гибридном подходе возможно в процессе ультразвукового излучения и связывания фракционированных пептидов с использованием ионной жидкости и эвтектического растворителя [44].

Основной задачей в синтезе такого соединения как лираглутид является введение липофильной группы в боковую цепь лизина Lys²⁰. Создание такой разветвленной структуры может быть достигнуто

путем прямого введения липидированного промежуточного дипептида в растущую пептидную цепь или с использованием ортогонально защищенного лизина. В первом случае, для получения липидированного строительного блока в качестве исходного материала выбирают ортогонально защищенный лизин с целью селективного образования пептидной связи между ε-аминогруппой лизина и γ-карбоновой группой глутаминовой кислоты [24]. Например, в патентах US11066439B2 [22] и WO2013/037266 [45] описан твердофазный синтез лираглутида с использованием лизина, содержащего в своей структуре аллилоксикарбонильную защитную группу (Alloc), для снятия которой требуется металлический катализатор – тетраakis(трифенилфосфин) палладий – Pd(PPh₃)₄ [22, 43]. Однако данный метод не может быть использован для крупномасштабного производства, в силу технологических сложностей и высоких затрат. Кроме того, предложенный катализатор Pd(PPh₃)₄ чувствителен к влаге, следовательно, реакция должна проводиться в строго контролируемых условиях, а при получении конечного продукта необходимо учитывать содержание тяжелых металлов [22].

Использование лизината меди (II) может заметно упростить получение пальмитоилированного промежуточного продукта, так как медные комплексы трифункциональных аминокислот, таких как Lys, Asp или Glu, могут обеспечить временную защиту для селективного введения протекторных групп в боковую цепь. Данный метод является коммерчески жизнеспособным, так как он широко используется в производстве защищенных аминокислот в качестве сырья для промышленного синтеза пептидов. Более того, процедуры хранения и утилизации медьсодержащих отходов хорошо известны и не создают особых проблем ввиду низкой токсичности солей меди [24].

В препарате Энлигрия® действующее вещество лираглутид получено в результате химического синтеза. Данный метод имеет ряд преимуществ в производстве пептидов, обеспечивая стабильное получение четко заданной структуры пептида, с чем связан прогнозируемый и управляемый эффект и исключение попадания в готовую форму чужеродных примесей продуцентов (белков и биомолекул), что обеспечивает высокую степень чистоты и нивелирует вероятность изменений свойств получаемой субстанции, а также снижает риск возникновения НЯ и иммуногенности [22, 44, 46, 47].

Основные преимущества лираглутида

Как говорилось ранее, лираглутид является аналогом человеческого ГПП-1, который стимулирует глюкозозависимую секрецию инсулина. При этом механизм действия лираглутида имеет ряд

отличий от эффектов нативного ГПП-1. В результате экспериментальных работ на животных было выяснено, что препарат обладает преимущественно центральным действием, оказывая эффект в дугообразных ядрах гипоталамуса. При периферическом введении лираглутид, связываясь с рецепторами ГПП-1, активирует пул анорексигенных проопиомеланокортины и кокаин-амфетамин-регулируемого транскрипта, или иначе ПОМК/КАРТ-продуцирующих нейронов. В тоже время снижение активности орексигенных нейронов, вырабатывающих нейропептид Y (НПУ) и агутиподобный белок (АПБ), происходит опосредованно, путем ингибирования выработки ГАМК. [48, 49]. Согласно исследованиям, проведенным у человека, на фоне введения лираглутида статистически более значимо повышалось чувство насыщения и сытости после еды, уменьшалось выраженность голода по сравнению с плацебо. При этом замедление опорожнения желудка наблюдалось лишь в течение первого часа после введения препарата, уже через 5 ч разница по сравнению с плацебо не прослеживалась [50].

Исследования показали, что лираглутид (1,8 мг), не считая остальных аналогов ГПП-1, является одним из приоритетных препаратов у пациентов с СД 2 и с указаниями на высокий риск ССЗ или уже имеющиеся ССЗ, ХСН, ХБП, а препарат лираглутида (3 мг) являлся единственным препаратом из группы ГПП-1, имеющим в России показание «коррекция массы тела у взрослых и подростков с ожирением или с избыточной массой тела при наличии сопутствующих заболеваний»²³. В РФ с недавнего времени препараты лираглутида иностранного производства стали коммерчески недоступны в связи с ограничениями поставок со стороны компании – производителя.

В 2023 г лираглутид был включен в перечень препаратов, которые находятся в дефиците или в отношении которых есть риск ее возникновения²⁴. Компанией ООО «Промомед РУС» был разработан препарат на основе лираглутида Энлигрия®. Сравнительное клиническое исследование I фазы было проведено в соответствии с действующим законодательством РФ и ЕАЭС.

14 сентября 2023 года была осуществлена государственная регистрация первого отечественного препарата лираглутида Энлигрия® (ЛП 008822), что возвращает возможность персонализации терапии пациентов с ожирением и избыточной массой тела.

Несмотря на некоторые ограничения проведенного исследования, в частности, участия только здоровых добровольцев мужского пола, исследование проведено в соответствии со стандартами GCP и российскими и международным рекомендациями, разработанными для данной группы препаратов

²³ Клинические рекомендации МЗ РФ «Ожирение», 2020.

²⁴ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. Лираглутид. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%BB%D0%B8%D1%80%D0%B0%D0%B3%D0%BB%D1%83%D1%82%D0%B8%D0%B4&m=INN>

На фоне введения препарата Энлигрия® у участников исследования не было выявлено НЯ, отмечалась хорошая переносимость. СНЯ также не было выявлено. Отдельно стоит отметить, что ни у одного из участников не было обнаружено антител к лираглутиду (Энлигрия®). У пациентов с ожирением или избыточной массой тела и как минимум с одним сопутствующим заболеванием, получавших референтный препарат лираглутид 3,0 мг наиболее часто отмечаемыми побочными эффектами были нарушения со стороны ЖКТ легкой и средней степени тяжести. У 2,5 % пациентов данной группы появились антитела к лираглутиду, что не привело к снижению эффективности препарата²⁵ [8, 9–12]. К основным факторам, влияющим на вероятность иммунного ответа²⁶, относятся производственный процесс, рецептура, характеристики стабильности препарат²⁷ [51]. В референтном препарате лираглутида использован биотехнологический метод рекомбинантной ДНК в *Saccharomyces cerevisiae*²⁸. При таком способе производства существует потенциальная опасность индукции иммунной реакции за счёт структурной трансформации белка действующего вещества и наличия примесей, например фрагментов клеток-продуцентов или продуктов реакции с вспомогательными веществами. Неблагоприятные реакции могут варьировать от клинически незначимых, например, выработка антител, которые не оказывают влияния на эффективность терапии и выраженность побочных эффектов, до серьезных нежелательных реакций, когда антитела нейтрализуют белок действующего вещества вплоть до полной потери биологической активности²⁹ [51, 52]. Технология на основе химического синтеза, используемая для производства российского лираглутида, исключает наличие примесей клеток-продуцентов и, следовательно, обеспечивает высокий профиль безопасности и снижение вышеописанных рисков развития иммуногенности^{30,31} [51–53].

²⁵ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

²⁶ EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. – EMEA, 2007. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins-first-version_en.pdf

²⁷ U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, 2019. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/immunogenicity-testing-therapeutic-protein-products-developing-and-validating-assays-anti-drug>

²⁸ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

²⁹ U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, 2019.

³⁰ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

³¹ U.S. Food and Drug Administration. ANDAs for Certain Highly Purified Synthetic Peptide Drug Products That Refer to Listed Drugs of rDNA Origin Guidance for Industry, 2021.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований собрано достаточное количество данных, подтверждающих аналогичность физико-химических и биологических свойств препарата с химически синтезированным активным веществом лираглутид Энлигрия® (раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) с референтным препаратом Саксенда® (раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания). Исходя из этого можно сделать вывод о том, что качество, безопасность и эффективность препарата с синтетическим аналогом активного вещества подобны препарату сравнения, а по ряду параметров даже превосходят его.

Снижение медико-социального ущерба, обусловленного ростом распространенности ожирения, является одним из приоритетных направлений развития системы здравоохранения РФ. Включение в схемы терапии данного заболевания современных качественных эффективных и безопасных препаратов приобретает особое значение. Выход на рынок российских препаратов – агонистов рецепторов ГПП-1 позволит пациентам

получать терапию, соответствующую современным требованиям. В проведенном открытом рандомизированном перекрестном сравнительном исследовании по оценке фармакокинетических параметров, безопасности и переносимости с участием здоровых добровольцев была подтверждена эквивалентность исследуемого лекарственного препарата Энлигрия® и препарата сравнения Саксенда®, а также продемонстрирован высокий профиль безопасности, переносимости исследуемого препарата и отсутствие иммуногенности. На основании полученных данных препарат Энлигрия® был зарегистрирован на территории РФ. Использование в производстве препарата метода химического синтеза определяет идентичность оригинальному продукту активного действующего вещества и низкий риск неблагоприятных иммунных реакций. Целесообразным является проведение дальнейших клинических исследований для оценки эффективности и безопасности терапии пациентов с ожирением и избыточным весом, а также для определения потенциально новых возможностей терапии агонистами ГПП-1, в том числе российским аналогом лираглутида.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «Промомед РУС». Спонсор не оказывал влияние на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Аметов – разработка концепции клинического исследования, анализ и описание результатов, корректировка текста; И.Е. Шохин – организация и проведение физико-химических исследований, интерпретация результатов; Е.А. Рогожина – организация и проведение исследований физико-химических и биологических свойств, обсуждение дизайна и результатов исследования; Т.Г. Бодрова – анализ и подбор литературных источников, написание текста статьи, организация и проведение физико-химических исследований, интерпретация результатов; М.Е. Невретдинова – анализ и подбор литературных источников, интерпретация результатов, написание текста статьи; П.А. Белый – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; К.Я. Заславская – разработка дизайна и концепции исследования, написание текста статьи; Д.В. Куркин – анализ и описание результатов; К.Н. Корянова – анализ и описание результатов, поиск и анализ литературных источников; Е.С. Мищенко – анализ и описание результатов; С.М. Носков – разработка дизайна и концепции клинического исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Галстян Г.Р., Шестакова Е.А., Скланник И.А. Ожирение и сахарный диабет 2 типа: поиск компромиссного терапевтического решения // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 270–278. DOI: 10.14341/DM8726
2. Lau D.C., Teoh H. Impact of current and emerging glucose-lowering drugs on body weight in type 2 diabetes // Can J Diabetes. – 2015. – Vol. 39, Suppl 5. – P. 148–154. DOI: 10.1016/j.cjcd.2015.09.090
3. Madsbad S. Liraglutide Effect and action in diabetes (LEAD™) trial // Expert Rev Endocrinol Metab. – 2009. – Vol. 4, No. 2. – P. 119–129. DOI: 10.1586/17446651.4.2.119
4. Mai G., Fan L., Li M., Zhang P., Gan C., Huang Q., Shentu J. A randomized phase 1 pharmacokinetic study comparing the potential biosimilar LRG201902 with liraglutide (Victoza®) in healthy male subjects // Front Pharmacol. – 2021. – Vol. 11. – Art. ID: 610880. DOI: 10.3389/fphar.2020.610880
5. Шестакова М.В. Лираглутид – возможности комплексного терапевтического подхода в терапии СД 2 типа. Сахарный диабет. – 2009. – Т. 12, № 5. – С. 3–6. DOI: 10.14341/2072-0351-5807

6. Романцова Т.И. Аналог глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид (Саксенда®): механизм действия, эффективность в лечении ожирения // Ожирение и метаболизм. – 2018. – Т. 15, № 1 – С. 3–11. DOI: 10.14341/ОМЕТ201813-11
7. Marso S.P., Daniels G.H., Brown-Frandsen K., Kristensen P., Mann J.F., Nauck M.A., Nissen S.E., Pocock S., Poulter N.R., Ravn L.S., Steinberg W.M., Stockner M., Zinman B., Bergenstal R.M., Buse J.B.; LEADER Steering Committee LEADER Trial Investigators. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes // N Engl J Med. – 2016. – Vol. 375, No. 4. – P. 311–322. DOI: 10.1056/NEJMoa1603827
8. Wadden T.A., Hollander P., Klein S., Niswender K., Woo V., Hale P.M., Aronne L.; NN8022-1923 Investigators. Weight maintenance and additional weight loss with liraglutide after low-calorie-diet-induced weight loss: the SCALE Maintenance randomized study // Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 11. – P. 1443–1451. DOI: 10.1038/ijo.2013.120. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 11. – Art. ID: 1514. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2015. – Vol. 39, No. 1. – Art. ID: 187.
9. Pi-Sunyer X., Astrup A., Fujioka K., Greenway F., Halpern A., Krempf M., Lau D.C., le Roux C.W., Violante Ortiz R., Jensen C.B., Wilding J.P.; SCALE Obesity and Prediabetes NN8022-1839 Study Group. A randomized, controlled trial of 3.0 mg of liraglutide in weight management // N Engl J Med. – 2015. – Vol. 373, No. 1. – P. 11–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1411892
10. le Roux C.W., Astrup A., Fujioka K., Greenway F., Lau D.C.W., Van Gaal L., Ortiz R.V., Wilding J.P.H., Skj  th T.V., Manning L.S., Pi-Sunyer X.; SCALE Obesity Prediabetes NN8022-1839 Study Group. 3 years of liraglutide versus placebo for type 2 diabetes risk reduction and weight management in individuals with prediabetes: a randomised, double-blind trial // Lancet. – 2017. – Vol. 389, No. 10077. – P. 1399–1409. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30069-7. Erratum in: Lancet. – 2017. – Vol. 389, No. 10077. – Art. ID: 1398.
11. Davies M.J., Bergenstal R., Bode B., Kushner R.F., Lewin A., Skj  th T.V., Andreasen A.H., Jensen C.B., DeFronzo R.A.; NN8022-1922 Study Group. Efficacy of liraglutide for weight loss among patients with type 2 diabetes: The SCALE diabetes randomized clinical trial // JAMA. – 2015. – Vol. 314, No. 7. – P. 687–699. DOI: 10.1001/jama.2015.9676. Erratum in: JAMA. – 2016. – Vol. 315, No. 1. – Art. ID: 90.
12. Abstracts of the 50th EASD Annual Meeting, September 15–19, 2014, Vienna, Austria // Diabetologia. – 2014. – Vol. 57, Suppl 1. – P. 1–564. DOI: 10.1007/s00125-014-3355-0
13. Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению // РМЖ. – 2001. – Т. 2. – С. 56.
14. Astrup A., Carraro R., Finer N., Harper A., Kunesova M., Lean M.E., Niskanen L., Rasmussen M.F., Rissanen A., R  ssner S., Savolainen M.J., Van Gaal L.; NN8022-1807 Investigators. Safety, tolerability and sustained weight loss over 2 years with the once-daily human GLP-1 analog, liraglutide // Int J Obes (Lond). – 2012. – Vol. 36, No. 6. – P. 843–854. DOI: 10.1038/ijo.2011.158. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2012. – Vol. 36, No. 6. – Art. ID: 890. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 2. – Art. ID: 322.
15. Jensen M.D., Ryan D.H., Apovian C.M., Ard J.D., Comuzzie A.G., Donato K.A., Hu F.B., Hubbard V.S., Jakicic J.M., Kushner R.F., Loria C.M., Millen B.E., Nonas C.A., Pi-Sunyer F.X., Stevens J., Stevens V.J., Wadden T.A., Wolfe B.M., Yanovski S.Z., Jordan H.S., Kendall K.A., Lux L.J., Mentor-Marcel R., Morgan L.C., Trisolini M.G., Wnek J., Anderson J.L., Halperin J.L., Albert N.M., Bozkurt B., Brindis R.G., Curtis L.H., DeMets D., Hochman J.S., Kovacs R.J., Ohman E.M., Pressler S.J., Sellke F.W., Shen W.K., Smith S.C. Jr., Tomaselli G.F.; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society // Circulation. – 2014. – Vol. 129, No. 25, Suppl 2. – P. 102–138. DOI: 10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee. Erratum in: Circulation. – 2014. – Vol. 129, No. 25, Suppl 2. – P. 139–140.
16. Дорофеева Л.Г., Котешкова О.М., Анциферов М.Б. Сибутрамин в терапии ожирения у больных сахарным диабетом типа 2 // Фарматека. – 2006. – № 3. – С. 45–47.
17. Kolotkin R.L., Gabriel Smolarz B., Meincke H.H., Fujioka K. Improvements in health-related quality of life over 3 years with liraglutide 3.0 mg compared with placebo in participants with overweight or obesity // Clin Obes. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 1–10. DOI: 10.1111/cob.12226
18. Kelly A.S., Auerbach P., Barrientos-Perez M., Gies I., Hale P.M., Marcus C., Mastrandrea L.D., Prabhu N., Arslanian S.; NN8022-4180 Trial Investigators. A Randomized, Controlled Trial of Liraglutide for Adolescents with Obesity // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 382, No. 22. – P. 2117–2128. DOI: 10.1056/NEJMoa1916038
19. Xinyu L., Yuqing F., Hongji M., Lifan W., Lixiang Z., Wenjing L., Zhouwen X. Method for preparing liraglutide. WO Patent WO2021143159A1. 2021 Jul 22.
20. Chandrakant K., Manoj B., Nivrutti J., Sandip A., Swamy V. Process of preparation of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists and their analogs. WO Patent WO2020188510A2. 2020. Sep 24.
21. Malolanarasimham K., Ugan R.N., Kedari C.K., Tulam V.K., Vasker R.G. Acylation process for preparation of liraglutide: WO Patent WO2016059609A1. 2015 Oct 16.
22. Ganga R.V., Patil N., Charyulu P.V.R., Jasmine C.R., Machani R., Suvarna D.S., inventors; Biocon Ltd, assignee. Synthesis of liraglutide. United States Patent US11066439B2. 2021 Jul 20.
23. Yuqing F., Xinyu L., Hongji M., Zhouwen X., Lixiang Z., Lifan W., Wenjing L. Method for preparing liraglutide. China Patent CN113135989A. 2023 Oct 03.
24. Guryanov I., Orlandin A., de Paola I., Viola A., Biondi B., Badocco D., Formaggio F., Ricci A., Cabri W. Copper (II) lysinate and pseudoproline assistance in the convergent synthesis of the GLP-1 receptor agonists liraglutide and semaglutide // Org Proc Res Develop. – 2021. – Vol. 25, No. 7. – P. 1598–1611. DOI: 10.1021/acs.oprd.1c00021
25. Wang L., Wang N., Zhang W., Cheng X., Yan Z., Shao G., Wang X., Wang R., Fu C. Therapeutic peptides: current applications and future directions // Signal Transduct Target Ther. 2022. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 48. DOI: 10.1038/s41392-022-00904-4

26. Watson E., Jonker D.M., Jacobsen L.V., Ingwersen S.H. Population pharmacokinetics of liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide-1 analog, in healthy volunteers and subjects with type 2 diabetes, and comparison to twice-daily exenatide // *J Clin Pharmacol.* – 2010. – Vol. 50, No. 8. – P. 886–894. DOI: 10.1177/0091270009354996
27. Jiang J., Zhang J., Jacobsen L.V., Hu P. The pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability of liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, after multiple subcutaneous administration in healthy Chinese male subjects // *J Clin Pharmacol.* – 2011. – Vol. 51, No. 12. – P. 1620–1627. DOI: 10.1177/0091270010389468
28. Hoeg-Jensen T., Egel-Mitani M., Balschmidt P., Markussen J., Diers I. Method for making acylated polypeptides. United States Patent US7572884B2. 2009 Aug 11.
29. Dunweber D.L., Jensen I.H., Hansen L.B. Method for producing acylated peptides. United States Patent US7273921B2. 2007 Sep 25.
30. Хачатурян Н.Э., Егшатын Л.В., Мкртумян А.М. Дулаглутид – новое в лечении сахарного диабета 2 типа // *Эффективная фармакотерапия.* – 2019. – Т. 15, № 25. – С. 20–28. DOI: 10.33978/2307-3586-2019-15-25-20-28
31. Pan S., Tang C., Li C., Liu X., Cui H., Chen S., Zhang H. Method for preparing liraglutide intermediate polypeptide. United States Patent US10851146B2. 2020 Dec 01.
32. Budhdev R.R., Sekhar N.M., Ramaswamy K., Komaravolu Ya.K.K., Gandavadi S.K., Annarapu M.R., McCormack P., Gaffney P., Kroll S. Improved purification processes for liraglutide. United States Patent US20220372072A1. 2022 Nov 24.
33. Cheng N., Yang L., Dai N., Hu Z., Yang F., Chen R., Cheng X., Zhou J., Huang Y., Su Z. A novel strategy to prepare the precursor peptide of liraglutide // *Proc Biochem.* – 2017. – Vol. 62. – P. 10–15. DOI: 10.1016/j.procbio.2017.07.006
34. Zhien P., Hao S., Xuwei L., Xiaoyu Y., Xiaozhi Ju, Wancheng G., Mingyan X. Construction and application of *Saccharomyces cerevisiae* protease deletion strain. China Patent CN113249241A. 2021 Oct 15.
35. Baicheng Y., Yunxing Z. Recombinant engineering bacterium for efficiently expressing liraglutide precursor and its application. China Patent CN110724187A. 2022 Sep 16.
36. Haiyan C., Shiye Z., Fengwei A. Recombinant engineering bacterium for expressing liraglutide precursor and construction method and application thereof. China Patent CN114807205A. 2022 Sep 13.
37. Gupta S., Salunkhe S.S., Varshney B., Mody R.S. Expression and large-scale production of peptides. WO Patent WO2018172921A1. 2018 Sep 27.
38. Ahmadi S., Shahsavani M.B., Tavaf Z., Albaghlany R.M., Kumar A., Moosavi-Movahedi A.A., Yousefi R. A novel strategy for production of liraglutide precursor peptide and development of a new long-acting incretin mimic // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17, No. 5. – Art. ID: e0266833. DOI: 10.1371/journal.pone.0266833
39. Щукина В.В., Григорян А.В. Биотехнологические лекарственные препараты // *Actualscience.* – 2016. – Т. 2, № 5. – С. 55–56.
40. Barlos K., Barlos K., Gatos D., Vasileiou Z. A process for preparing a glucagon-like peptide. WO Patent WO2019069274A1. 2019 Apr 11.
41. Yali P., Wang Rui., Xue C., Wei H., Xiaoli LW. The method that fragment condensation prepares liraglutide. China Patent CN104650219B. 2017 Nov 14.
42. Shujie Y., Zhengwu L., Yan Q., Jiaji L., Hui D., Yijiehu C., Wang Q., Gao L., Zhang J., Ge S., Liu J., Qu L., Zhao X., Yan H.H. Preparation method of liraglutide. China Patent CN106699871B. 2020 Jun 12.
43. Patil K.V., Chandwad C.B. An improved process for preparation of liraglutide. WO Patent WO2021130645A1. 2021 Jul 01.
44. Park E.J., Kim E.T., Park J.O. Method for preparing liraglutide using environment-friendly solvent. United States Patent US20230047729A1. 2023 Feb 16.
45. Junfeng P., Jian L., Yaping M., Jiancheng Y. Method for solid phase synthesis of liraglutide. WO Patent WO2013037266A1. 2013 March 21.
46. Han J., Sun L., Chu Y., Li Z., Huang D., Zhu X., Qian H., Huang W. Design, synthesis, and biological activity of novel dicoumarol glucagon-like peptide 1 conjugates // *J Med Chem.* – 2013. – Vol. 56, No. 24. – P. 9955–9968. DOI: 10.1021/jm4017448
47. Bode B. An overview of the pharmacokinetics, efficacy and safety of liraglutide // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2012. – Vol. 97, No. 1. – P. 27–42. DOI: 10.1016/j.diabres.2011.12.015
48. Sisley S., Gutierrez-Aguilar R., Scott M., D'Alessio D.A., Sandoval D.A., Seeley R.J. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124, No. 6. – P. 2456–2463. DOI: 10.1172/JCI72434
49. Secher A., Jelsing J., Baquero A.F., Hecksher-Sørensen J., Cowley M.A., Dalbøge L.S., Hansen G., Grove K.L., Pyke C., Raun K., Schäffer L., Tang-Christensen M., Verma S., Witgen B.M., Vrang N., Bjerre Knudsen L. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124, No. 10. – P. 4473–4488. DOI: 10.1172/JCI75276
50. van Can J., Sloth B., Jensen C.B., Flint A., Blaak E.E., Saris W.H. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults // *Int J Obes (Lond).* – 2014. – Vol. 38, No. 6. – P. 784–793. DOI: 10.1038/ijo.2013.162
51. Шестакова М.В., Викулова О.К. Биосимиляры: презумпция виновности? // *Сахарный диабет.* – 2011. – Т. 14, № 4. – С. 91–99. DOI: 10.14341/2072-0351-5825
52. Apostolopoulos V., Bojarska J., Chai T.T., Elnagdy S., Kaczmarek K., Matsoukas J., New R., Parang K., Lopez O.P., Parhiz H., Perera C.O., Pickholz M., Remko M., Saviano M., Skwarczynski M., Tang Y., Wolf W.M., Yoshiya T., Zabrocki J., Zielenkiewicz P., AlKhazindar M., Barriga V., Kelaidonis K., Sarasia E.M., Toth I. A Global Review on Short Peptides: Frontiers and Perspectives. *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, No. 2. – Art. ID: 430. DOI: 10.3390/molecules26020430
53. Полянский М.А., Гинак А.И. Основные концепции синтеза пептидов как нового поколения биологически активных препаратов // *Известия СПбГТИ (ТУ).* – 2021. – Т. 58, № 84. – С. 62–65. DOI: 10.36807/1998-9849-2021-58-84-62-65

АВТОРЫ

Аметов Александр Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии, заведующий сетевой кафедрой ЮНЕСКО по теме «Биоэтика сахарного диабета как глобальная проблема», ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; заслуженный деятель науки РФ. ORCID ID: 0000-0002-7936-7619. E-mail: alexander.ametov@gmail.com

Шохин Игорь Евгеньевич – доктор фармацевтических наук, генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1185-8630. E-mail: i.shohin@cpha.ru

Рогожина Екатерина Алексеевна – соискатель кафедры биотехнологии и промышленной фармации, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет». ORCID ID: 0000-0002-3325-2605. E-mail: e.kate.rogozhina@gmail.com

Бодрова Татьяна Геннадьевна – соискатель научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0009-0001-0881-4880. E-mail: btatg@mail.ru

Невретдинова Мария Евгеньевна – врач-терапевт ООО «Практика здоровья». ORCID ID: 0000-0003-3008-4594. E-mail: mariamdoc@mail.ru

Белый Петр Александрович – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО МГМСУ им.

А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, директор научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425 E-mail: strannik986@mail.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Мищенко Екатерина Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры токсикологической и аналитической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7778-8391. E-mail: ekaterina-mischenko1809@mail.ru

Носков Сергей Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России; терапевт, главный исследователь ГБУЗ ЯО «КБ № 3», Ярославль, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3456-9409. E-mail: Noskov03@gmail.com