

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ПЕРЕКРЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ И ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПРЕПАРАТОВ ПРИМАПУР® И ГОНАЛ-Ф® ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ ЗДОРОВЫМ ДОБРОВОЛЬЦАМ

Е. Е. Тюлькина¹, И. Г. Гордеев^{1, 2}, Д. Ю. Гребенкин^{3, 4}, В. А. Казей³,
М. М. Цикаришвили¹, Е. Е. Лучинкина², Б. Х. Абдулла², С. Самандари²,
И. И. Воробьев⁵, А. Ф. Шигабутдинов⁶, М. А. Ползиков^{7,*}

Целью настоящего клинического исследования I фазы являлось изучение безопасности и переносимости, а также сравнение фармакокинетических характеристик биоаналогового фоллитропина альфа (Примапур®) и препарата сравнения (Гонал-Ф®) при однократном подкожном введении в дозе 300 МЕ здоровым добровольцам. Было показано, что отношения средних значений фармакокинетических параметров AUC_{0-192} и C_{max} для препарата Примапур® и Гонал-Ф® не выходят за установленные границы 80,00 – 125,00 % и составляют для AUC_{0-192} 93,31 % (90 % двухсторонний доверительный интервал [ДИ]: 87,25 – 99,79 %), для C_{max} 87,93 % (90 % [ДИ]: 82,85 – 93,33 %). Зарегистрированные нежелательные явления для обоих препаратов были сопоставимы, не требовали лечения и прошли самостоятельно. Серьезных нежелательных явлений зарегистрировано не было. Таким образом, исследуемый биоаналоговый лекарственный препарат Примапур® и оригинальный препарат Гонал-Ф®, растворы для подкожного введения, являются биоэквивалентными по фармакокинетическим параметрам, безопасны и хорошо переносятся.

Ключевые слова: рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон человека; клинические исследования; биоэквивалентность; рФСГч; ЭКО; фоллитропин альфа; Примапур.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Европейского общества репродукции человека и эмбриологии, почти за 4 десятилетия с момента рождения в Великобритании Луизы Браун, первого ребенка, полученного “в пробирке” в 1978 г., более 5 миллионов детей появились на свет с помощью методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [9]. Методы ЭКО стремительно развивают-

ся во всем мире, что является хорошим доказательством их эффективности и надежности.

При проведении программы ЭКО для индукции роста фолликулов в яичниках используют лекарственные препараты, содержащие фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), который получают либо из мочи женщин в постменопаузе, либо с помощью методов генетической инженерии [16]. Препараты рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека (рФСГч) обладают 2 международными непатентованными наименованиями: фоллитропин альфа [15] и фоллитропин бета [13], которые получают при помощи культивируемых клеток яичника китайского хомячка (СНО), в геном которых были помещены несколько копий генов цепей ФСГ человека под контролем вирусных промоторов. Оба варианта рФСГч обладают идентичными с природным ФСГ аминокислотными последовательностями, имеют сходную третичную структуру, не различимы по своей клинической эффективности и безопасности [8, 14, 16].

Как известно, высокая стоимость препаратов, получаемых с помощью биотехнологических методов, ограничивает их доступность для пациентов во всем мире [7]. Новые технологии, позволяющие получать

¹ ГБУЗ г. Москвы “Городская клиническая больница № 15 имени О. М. Филагова Департамента Здравоохранения города Москвы”, Россия, 111539, Москва, ул. Вешняковская, д. 23.

² ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1.

³ ООО “Экзактэ Лабс”, Россия, 117246, Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 2.

⁴ Институт биохимической технологии и нанотехнологии ФГБОУ ВПО РУДН, Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10, к. 2

⁵ ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский пр., д. 33, к. 2.

⁶ ООО “Надим”, Россия, 123007, Москва, 4-я Магистральная ул. 11/2.

⁷ ООО “АйВиФарма”, Россия, 117246, Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 2; e-mail: mikhail.polzikov@gmail.com

большие количества рФСГч, представляют значительный интерес для практической медицины вследствие постоянного роста потребления лекарственных препаратов, содержащих рФСГч, а также неоптимальной продуктивности разработанных в конце 80-х годов прошлого века систем его экспрессии в клетках СНО.

Примапур® — биоаналоговый рФСГч — получают с помощью технологии рекомбинантных ДНК с использованием культуры клеток яичника китайского хомяка, созданной в России [1]. Сравнительные исследования биологической активности *in vivo* и *in vitro*, физико-химические исследования первичной, вторичной и третичной структур рФСГч, состава сиаловых кислот и профиля N-гликозилирования доказали тождественность рФСГч, входящего в состав препарата Примапур® рФСГч в составе Гонал-Ф® [2]. Сравнительные доклинические испытания по исследованию острой и подострой токсичности показали отсутствие значимых отличий между биоаналоговым и оригинальным препаратами рФСГч и подтвердили их эквивалентность [2].

Целью настоящего исследования являлось изучение безопасности и переносимости, а также сравнение фармакокинетических характеристик препаратов Примапур® и Гонал-Ф® при однократном подкожном введении в дозе 300 МЕ здоровым добровольцам. Дизайн настоящего исследования осуществлен с учетом рекомендаций ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [3, 4] и Европейского агентства по лекарственным препаратам для рФСГч [5].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на базе ГБУЗ города Москвы «Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова Департамента Здравоохранения города Москвы».

На проведение клинического исследования спонсором ООО «АйВиФарма» было получено разрешение № 547 от 30 сентября 2015 г., выданное Министерством здравоохранения РФ по результатам экспертизы документов, необходимых для получения разрешения на проведение исследования и этической экспертизы. Протокол исследования одобрен Независимым этическим комитетом ГКБ № 15 им. О. М. Филатова. Исследование проводилось в соответствии с протоколом, принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Форталеза, Бразилия, 2013 г.), трехсторонним соглашением по надлежащей клинической практике (ICHGCP), а также действующим законодательством РФ.

Использовали препараты фоллитропина альфа: исследуемый в целях государственной регистрации в РФ биоаналоговый препарат Примапур® (ООО «АйВиФарма», Россия), раствор для подкожного введения; оригинальный препарат сравнения Гонал-Ф® («Мерк-Сероно С.п.А.», Италия), раствор для подкожного введения.

Дизайн исследования — проспективное, рандомизированное, перекрестное, одноцентровое, открытое, 2-этапное, I фазы.

Для обеспечения мощности статистического теста не менее 80 % при уровне значимости 5 % выбран размер выборки — 24 здоровых добровольца женского пола. В исследовании предусматривалось участие дублеров добровольцев, в количестве 4 человек.

Пациентов включали в исследование по следующим критериям: женщины в возрасте 18 – 40 лет; индекс массы тела (ИМТ) от 18,5 до 30 кг/м²; верифицированный диагноз «здоровая» по данным сбора анамнеза, а также стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования; опыт применения комбинированных пероральных контрацептивов в течение не менее 2-х менструальных циклов подряд до включения в исследование; наличие регулярного менструального цикла; наличие обоих яичников.

Критериями исключения были: известная повышенная чувствительность к активному веществу или любому из вспомогательных веществ исследуемых препаратов или их непереносимость, а также к активному веществу или любому из вспомогательных веществ препарата Ярина® (Байер Фарма АГ, Германия); отягощенный аллергологический анамнез; эпизоды синдрома гиперстимуляции яичников в анамнезе; синдром поликистозных яичников; кисты или идиопатическое увеличение яичников; нарушение менструального цикла любой этиологии; новообразования женских половых органов; диспластические неопластические процессы в шейке матки; тромбоз глубоких вен; злокачественные новообразования; нарушения функции щитовидной железы; прием или парентеральное введение менее чем за 2 мес до начала исследования лекарственных препаратов, в том числе безрецептурных средств, витаминов, гомеопатических средств и биологически активных добавок, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику, функцию печени, а также препаратов ФСГ, препаратов лютеинизирующего гормона, препаратов хорионического гонадотропина человека, кломифена, аналогов гонадотропин-рилизинг гормона; беременность; период грудного вскармливания; курение; употребление алкоголя и наркотиков.

Концентрации ФСГ в сыворотке крови определяли при помощи метода иммуноферментного анализа (ИФА) на основе набора производства компании DRG Instruments GmbH, Германия (кат. номер EIA-1288), зарегистрированного на территории РФ. Аналитическая методика валидирована аналитической лабораторией в установленном порядке. Аналитик, отвечающий за биологические образцы, не имел доступа к плану рандомизации до окончания анализа.

В данном исследовании период скрининга включал в себя подготовительный этап, во время которого добровольцы принимали препарат Ярина® по 1 таблетке в сутки с целью подавления эндогенной продукции го-

надотропных гормонов. Препарат Ярина® назначался на 6 недель (всего 42 дня). За 1 день до введения одного из исследуемых препаратов у добровольцев производили забор крови для определения концентрации эндогенного ФСГ. В случае, если по результатам проведенного анализа уровень ФСГ составлял 5 МЕ/л и менее (достаточное подавление эндогенной продукции гонадотропинов), добровольцев приглашали в исследовательский центр для дальнейшего участия в исследовании. В случае, если концентрация ФСГ оказывалась выше 5 МЕ/л, добровольцев исключали из исследования и заменяли их дублерами. После подготовительного периода добровольцы, у которых концентрация ФСГ была 5 МЕ/л и ниже, продолжали прием Ярины® в течение каждого из 2 этапов. Распределение добровольцев на 2 группы проводили согласно рандомизационной схеме протокола исследования. Исследование состояло из 2 равнозначных этапов: на I этапе исследования добровольцам, вошедшим в 1 группу, подкожно вводили 300 МЕ исследуемого препарата (Примапур®); добровольцам 2 группы — препарат сравнения (Гонал-Ф®). На II этапе исследования добровольцам 1 группы вводили препарат сравнения; добровольцам 2 группы — исследуемый препарат. Подкожное введение препаратов в дозе 300 МЕ осуществлялось дважды за время исследования с интервалом в 10 дней. Фармакокинетические параметры определяли, исходя из данных о концентрациях ФСГ в сыворотке крови добровольцев после однократного введения 300 МЕ каждого из сравниваемых препаратов. Забор крови осуществляли в определенные временные точки по указанной схеме: – 20 мин (за 20 мин до введения препарата), 0 ч (непосредственно перед введением), через 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 120, 168 и 192 ч после каждого введения препарата. После окончания второго этапа исследования оценивали изменения общего состояния каждого добровольца, произошедшие в ходе исследования, включая измерение основных жизненных показателей; ЭКГ; клинический и биохимический анализы крови; коагулограмму; общий анализ мочи.

Статистическая обработка результатов фармакокинетического анализа проведена с помощью программного пакета Phoenix 6.4 (Certara, США). Сравнение первичных фармакокинетических параметров AUC_{0-192} и C_{max} проведено методом дисперсионного анализа (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для участия в исследовании были рандомизированы 24 здоровых добровольца женского пола, все добровольцы закончили исследование. Средний возраст добровольцев составлял $(28,25 \pm 4,04)$ лет, средний рост составлял $(164,67 \pm 4,90)$ см, средняя масса $(62,16 \pm 9,31)$ кг, ИМТ $(22,91 \pm 3,16)$.

Значения фармакокинетических параметров рФСГч, полученные в настоящем исследовании при однократном подкожном введении в дозе 300 МЕ здоровым добровольцам препаратов Примапур® и Гонал-Ф®, представлены в таблице.

Так, максимальная концентрация рФСГч в сыворотке крови добровольцев в группе, получавшей препарат Примапур®, достигалась в среднем через $(18,70 \pm 5,77)$ ч, а в группе, получавшей Гонал-Ф®, — через $(19,22 \pm 4,93)$ ч, и составляла $(14,32 \pm 4,72)$ мМЕ/мл и $(16,00 \pm 4,88)$ мМЕ/мл соответственно. Средние значения площади под фармакокинетической кривой AUC_{0-192} для рФСГч после введения исследуемого препарата и препарата сравнения также имели близкие значения: $(1202,85 \pm 466,28)$ и $(1241,01 \pm 418,61)$ ч · мМЕ/мл соответственно. Значения времени полувыведения рФСГч после введения препарата Примапур® составило $(70,78 \pm 32,54)$ ч, а после введения препарата Гонал-Ф® — $(71,71 \pm 33,47)$ ч, константы скорости терминального периода полувыведения составляли $0,01$ ч⁻¹.

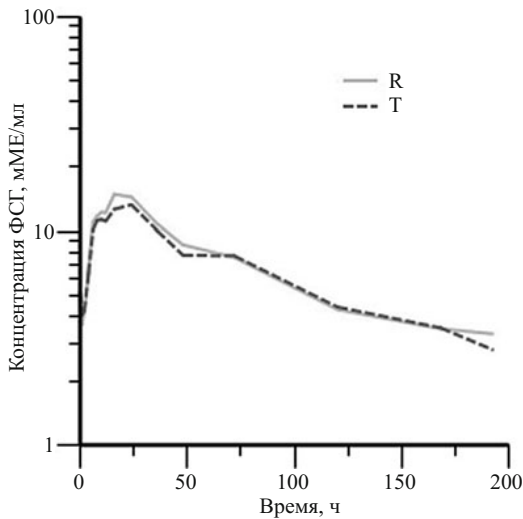
На рисунке представлены усредненные значения концентраций рФСГч во времени (Ln-преобразованные) после однократного введения препаратов (рисунк). Принимая во внимание достаточно высокую вариабельность концентраций эндогенного ФСГ на фоне

Фармакокинетические параметры рФСГч в сыворотке крови добровольцев после однократного подкожного введения 300 МЕ исследуемого препарата Примапур® и препарата сравнения Гонал-Ф® ($S \pm SE$)

Параметр	рФСГч		
	Примапур® ($N = 23^*$)	Гонал-Ф® ($N = 24$)	90 % ДИ (Примапур® vs. Гонал-Ф®)
C_{max} , мМЕ/мл	$14,32 \pm 4,72$	$16,00 \pm 4,88$	87,93 % (82,85 %, 93,33 %)
T_{max} , ч	$18,70 \pm 5,77$	$19,22 \pm 4,93$	–
AUC_{0-192} , ч · мМЕ/мл	$1202,85 \pm 466,28$	$1241,01 \pm 418,61$	93,31 % (87,25 %, 99,79 %)
$T_{1/2}$, ч	$70,78 \pm 32,54$	$71,71 \pm 33,47$	–
K_{el} , 1/ч	0,01	0,01	–

C_{max} — величина максимальной концентрации в сыворотке крови, T_{max} — время достижения максимальной концентрации в сыворотке крови, AUC_{0-192} — площадь под фармакокинетической кривой “концентрация — время”, начиная с нулевого значения и до последнего забора крови через 192 ч, $T_{1/2}$ — период полувыведения, K_{el} — явная константа скорости терминального периода полувыведения.

* Анализ образцов 1 добровольца оказался невозможным ввиду разморозки контейнера при транспортировке.



Ln-преобразованные усредненные фармакокинетические кривые рФСГч в образцах сыворотки добровольцев после приема препаратов исследования Примапур® (Т), раствор для подкожного введения 300 МЕ, и Гонал-Ф® (R), раствор для подкожного введения 300 МЕ.

приема пероральных контрацептивов как до инъекций препаратов, так и в период 10-дневной “отмывки” между применением препаратов [6], вычитание фонового уровня не проводили. Как видно из сравниваемых кривых, характер зависимости “концентрация — время” рФСГч для сравниваемых препаратов схож.

Нежелательные явления (НЯ). За все исследование было зарегистрировано 34 НЯ, из которых 17 НЯ наблюдали после введения препарата сравнения, 14 — после введения исследуемого препарата и 3 НЯ отмечали во время периода скрининга. В 2 случаях степень тяжести НЯ определялась как средняя, в остальных случаях (32) — легкая. Из 34 нежелательных явлений 10 НЯ — снижение международного нормализованного отношения (МНО), из них 7 — после введения исследуемого препарата, 3 — после введения препарата сравнения; 5 НЯ — головная боль, из них 3 — после введения препарата сравнения, 2 — после введения исследуемого препарата; 3 НЯ — снижение протромбинового времени после введения исследуемого препарата Примапур®; 3 НЯ — тошнота, из них 2 случая после введения препарата сравнения, 1 — после введения исследуемого препарата; 2 НЯ — снижение гемоглобина крови, которое отмечалось после введения препарата сравнения; 2 — снижение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), отмеченное после введения препарата сравнения; 1 случай повышения АЧТВ, отмеченный после введения исследуемого препарата, по 1 случаю рвоты, снижения протромбинового времени, снижения гематокрита, повышения эритроцитов, повышения СОЭ, которые отмечались после введения препарата сравнения и по 1 случаю головокружения, слабости, миомы матки — в период скрининга. В случае 31 НЯ связь с приемом исследуемых препаратов классифицировалась как воз-

можная, связь с приемом препаратов 3 НЯ не была классифицирована. Зарегистрированные НЯ не требовали лечения и прошли самостоятельно. Исходом 33 НЯ являлось “полное выздоровление”, в 1 случае — неполное выздоровление. Летальных исходов и серьезных НЯ во время исследования не было. Таким образом, можно сделать вывод, что исследуемые препараты хорошо переносятся и имеют сходный профиль безопасности.

Настоящее исследование относительной биологической доступности и биоэквивалентности 2 лекарственных средств показало, что двусторонние 90 % доверительные интервалы для отношений средних значений фармакокинетических параметров AUC_{0-192} и C_{max} для исследуемого препарата и препарата сравнения не выходят за установленные границы (80,00 – 125,00 %) [4, 5] и составляют: 87,25 – 99,79 % — для AUC_{0-192} и 82,85 – 93,33 % — для C_{max} . Из-за того, что известные на сегодняшний день клинические исследования I фазы биоаналоговых препаратов рФСГч проводились с использованием инъекций агониста гонадотропин-рилизинг гормона [11, 12, 17], используемого для более глубокой супрессии выработки эндогенного ФСГ у добровольцев, а также применяемого в медицинской практике для лечения миомы матки и эндометриоза [10], прямое сравнение фармакокинетических параметров, полученных в таких исследованиях, с результатами данного исследования, в котором использовали более удобный и комфортный для добровольцев прием комбинированного перорального контрацептива, не представляется возможным.

Анализ данных о полученных в ходе настоящего исследования НЯ позволяет сделать вывод, что препараты Примапур® и Гонал-Ф® хорошо переносятся и имеют сходный профиль безопасности.

Таким образом, фармакокинетические параметры после однократной подкожной инъекции 300 МЕ раствора исследуемого лекарственного препарата Примапур® и раствора препарата сравнения Гонал-Ф® доказали их сопоставимость по анализируемым параметрам, что позволяет сделать вывод об их фармацевтической эквивалентности. Дальнейшее изучение, направленное на исследование терапевтической эквивалентности в программах ЭКО, позволит оценить биоподобность 2 препаратов по количеству и качеству получаемых ооцитов, частоте наступления биохимической и клинической беременности.

ВЫВОД

Биоаналоговый лекарственный препарат Примапур® и оригинальный препарат Гонал-Ф®, растворы для подкожного введения, являются биоэквивалентными по фармакокинетическим параметрам, безопасны и хорошо переносятся.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. И. Воробьев, Н. А. Орлова, С. В. Ковнир и др., Патент РФ 2560596, *Офиц. бюл.*, № 23 (2015).
2. И. И. Воробьев, О. В. Проскурина, Ю. А. Ходак и др., *Хим.-фарм. журн.*, **50**(11), 35 – 42 (2016); *Pharm. Chem. J.*, **50**(11), 753 – 760 (2016).
3. *Руководство по экспертизе лекарственных средств*, Том I, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2014).
4. *Руководство по экспертизе лекарственных средств*, Том IV, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2014).
5. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMA / 597110 / 2012 (2013).
6. I. J. Duijkers, C. Klipping, P. Grob, et al., *Eur. J. Contracept Reprod Health Care*, **15**(5), 314 – 325 (2010).
7. A. B. Engelberg, A. S. Kesselheim, J. Avorn, *N. Engl. J. Med.*, **361**(20), 1917 – 1919 (2009).
8. K. L. Goa, A. J. Wagstaff, *BioDrugs*, **9**(3), 235 – 260 (1998).
9. E. Kamphuis, *BMJ*, № 348, 15 – 17 (2014).
10. W. Kupker, R. E. Felberbaum, M. Krapp, et al., *Reprod Biomed Online*, **5**(1), 12 – 16 (2002).
11. A. Lammerich, P. Bias, B. Gertz, *Int. J. Womens Health*, № 7, 707 – 716 (2015).
12. A. Lammerich, A. Mueller, P. Bias, *Reprod. Biol. Endocrinol.*, № 13, 130 (2015).
13. W. Olijve, W. deBoer, J. W. Mulders, et al., *Mol. Hum. Reprod.*, **2**(5), 371 – 382 (1996).
14. R. Orvieto, R. Nahum, J. Rabinsonetal, *Fertil. Steril.*, **91**(4 Suppl), 1522 – 1525 (2009).
15. Recombinant Human FSH Product Development Group, *Hum. Reprod Update*, **4**(6), 862 – 881 (1998).
16. M. van Wely, I. Kwan, A. L. Burt, et al., *Hum. Reprod Update*, **18**(2), 111 (2012).
17. M. Wolzt, G. Gouya, M. Sator, et al., *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokin.*, **41**(3), 259 – 265 (2016).

Поступила 10.04.17

RANDOMIZED CROSSOVER COMPARATIVE STUDY OF SAFETY, TOLERANCE AND PHARMACOKINETICS OF PRIMAPUR VS. GONAL-F UPON SINGLE-DOSE SUBCUTANEOUS ADMINISTRATION IN HEALTHY VOLUNTEERS

E. E. Tyul'kina¹, I. G. Gordeev^{1,2}, D. Yu. Grebenkin^{3,4}, V. A. Kazei³, M. M. Tsikarishvili¹,
E. E. Luchinkina², B. H. Abdulla², S. Samandari², I. I. Vorob'ev⁵,
A. F. Shigabutdinov⁶, and M. A. Polzikov^{7,*}

¹ O. M. Filatov Municipal Clinical Hospital No. 15, Department of Public Health of the City of Moscow, ul. Veshnyakovskaya 23, Moscow, 111539 Russia

² Pirogov Russian State Medical University, ul. Bolshaya Pirigovskaya 9a, Moscow, 119021 Russia

³ ExacteLabs Company, Nauchnyi proezd 20, Moscow, 117246 Russia

⁴ Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, Peoples' Friendship University of Russia, ul. Miklulho-Maklaya 10/2, Moscow, 117198 Russia

⁵ Fundamentals of Biotechnology, Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 33/2, Moscow, 119071 Russia

⁶ Nadim Company, ul. 4-ya Magistralnaya 11/2, Moscow, 123007 Russia

⁷ IVFarma Company, Nauchnyi proezd 20/2, Moscow, 117246 Russia;

* e-mail: mikhail.polzikov@gmail.com

The purpose of the current phase I study was to establish bioequivalence, safety, and tolerance of single 300 IU subcutaneous dose of primapur in comparison to that of reference follitropin alfa preparation (gonal-f) in healthy young female volunteers. No significant differences in pharmacokinetic parameters between primapur and gonadotropin alfa were detected for AUC_{0-192} 93.31% (90% confidence interval [CI]: 87.25 – 99.79%) and C_{max} 87.93% (90% CI: 82.85 – 93.33%). Both primapur and gonadotropin alfa were well tolerated, with no serious adverse events or those leading to discontinuation of treatment course. The results of this study indicate that a single dose of primapur solution for subcutaneous injection exhibits pharmacokinetic and safety profiles comparable to those of original gonadotropin alfa in healthy young women.

Keywords: recombinant human follicle-stimulating hormone; clinical trials; phase I; bioequivalence; *in vitro* fertilization; follitropin alfa; primapur.