

УДК 615.357-07

Проблемы стандартизации гормональных препаратов пептидно-белковой природы

С. В. Ковалева, И. В. Исаева, А. И. Лутцева, Ж. И. Аладышева, А. В. Пихтарь

СЕРАФИМА ВАСИЛЬЕВНА КОВАЛЕВА — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории контроля качества биотехнологических препаратов Института государственного контроля лекарственных средств (ИГКЛС) ФГУ «НЦЭСМП». Область научных интересов: анализ и стандартизация лекарственных средств и различных биологически активных соединений.

ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА ИСАЕВА — доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник, руководитель лаборатории контроля качества биотехнологических препаратов ИГКЛС ФГУ «НЦЭСМП». Область научных интересов: стандартизация лекарственных средств, фармацевция.

АННА ИВАНОВНА ЛУТЦЕВА — кандидат фармацевтических наук, заместитель директора ИГКЛС ФГУ «НЦЭСМП» по научной работе, руководитель лаборатории качества витаминных и синтетических гормональных препаратов. Область научных интересов: фармацевция, физико-химические методы анализа.

ЖАННА ИГОРЕВНА АЛАДЫШЕВА — кандидат медицинских наук, директор ИГКЛС ФГУ «НЦЭСМП». Область научных интересов: анализ и стандартизация лекарственных средств.

АНАТОЛИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ ПИХТАРЬ — научный сотрудник лаборатории хроматографии. Область научных интересов: современные методы физико-химического анализа.

117246 Москва, Научный проезд, д. 14а, ИГКЛС ФГУ «НЦЭСМП», тел. (095)120-50-98, 120-60-94, E-mail Kovaliova_SV@reg.med.ru

Гормоны — биологически активные вещества, выделяемые железами внутренней секреции или скоплениями специализированных клеток организма и оказывающие целенаправленное воздействие на другие органы и ткани. По химической природе гормоны делят на три группы: пептидные, белковые и стероидные [1]. Низкомолекулярные пептидные гормоны гипоталамуса, регулирующие секрецию (высвобождение) ряда гормонов другими эндокринными железами, называют рилизинг-гормонами или рилизинг-факторами. Их делят на либерины — активирующие выделение гормонов — и статины — ингибирующие выделение гормонов [2, 3]. Регулирующий эффект они оказывают, действуя на рецепторы эффекторных органов или тканей-мишеней. Вероятно, многие органы и ткани животных и человека являются эндокринными и секретируют в кровь гормоны пептидной природы [4]; например, известен гормон лептин, секретиремый липоцитами [5, 6], а в 1984 г. была идентифицирована структура предсердного натрийуретического пептида [7].

Основы учения об эндокринной регуляции были заложены А. Бертольдом, Ш. Броун-Секаром и другими во 2-й половине XIX века [8]. Первый из гормонов — секретин был открыт У. Бейлисом и Э. Старлингом в 1902 г. Канадские исследователи Ф. Бантинг и Ч. Бест открыли инсулин в 1921 г. [9]. Дю Виньо впервые осуществил синтез биологически активного пептида гормональной природы — окситоцина в 1953 г. [10], после чего началось бурное развитие современной химии пептидов [11, 12].

Аминокислотная последовательность инсулина была установлена Сенгером, получившим в 1958 г.

Нобелевскую премию. Первый синтез адренокортикотропного гормона (АКТГ) человека осуществлен Баюшем с сотр. в 1967 г. В тот же период Ямаширо и Ли синтезировали АКТГ человека с использованием твердофазной техники [9]. Кристаллический инсулин человека синтезировали: в США П. Кацюяннис в 1963 г., в ФРГ Х. Цан и сотр. в 1965 г. и в СССР коллективы под рук. Н.А. Юдаева и Ю.П. Швачкина в 1972 г. [13]. В 1982 г. фирма «Эли Лилли» (США) начала выпускать генноинженерный инсулин человека с использованием рекомбинантной ДНК (рДНК) кишечной палочки, а в 1985 г. (Дания) в фирме «Ново Нордиск» был получен генноинженерный инсулин человека с использованием рДНК пекарских дрожжей [13, 14]. Р. Гиймен и Э. Шаблли (США) в 1977 г. получили Нобелевскую премию за открытие тиролиберина — первого из рилизинг-факторов гипоталамуса. В этом же году Р. Ялоу (США) получила Нобелевскую премию за развитие методов радиоиммунологического исследования пептидных гормонов [8]. В 1979 г. Гудман и Бакстер, а также Годдель с сотр. получили гормон роста (соматотропин) человека методами генной инженерии [9].

Номенклатура пептидных и белковых гормонов — результат последних достижений фундаментальной науки и медицинской практики [15]. Стремительный рост номенклатуры гормонов этой группы связан с прогрессом как в области химического синтеза пептидов и их аналогов [16—20], так и выделения их из природных источников [15, 21—25], а также с достижениями генной инженерии [26—30] при обеспечении высокой степени чистоты получаемых веществ. В настоящее время стало обычным явлением определение

первичной структуры белков путем изучения структуры кодирующих их генов [1]. Происходит интеграция высокопроизводительного биологического скрининга и новых промышленных технологий в биофармацевтической промышленности, что было отражено в докладе К.В. Балакина на 2-м съезде общества биотехнологов России [31].

Для регуляторных пептидов, и гормонов в том числе, характерны высокая эффективность в малых дозах, быстрота воздействия и полифункциональность [32–34]. Концентрация многих белково-пептидных гормонов в крови составляет около 10^{-11} – 10^{-10} М [35], 10^{-15} – 10^{-12} М [36]. Многие жизненные процессы, включая и процессы в центральной нервной системе, контролируются и управляются пептидами; некоторые из них образуются из крупных белковых молекул под влиянием протеолитических ферментов [27, 33, 37, 38]. Биологические свойства пептидов зависят от третичной структуры, которая обеспечивает их взаимодействие со специфическими рецепторами [33].

Пептидные гормоны-аналоги

Разработаны методы модификации известных фармакологически активных структур [39] с целью получения более активных аналогов пептидных гормонов, обладающих повышенной избирательностью действия и меньшими побочными эффектами [40]. Число синтезированных аналогов измеряется тысячами. Существуют банки данных пептидов — «EROP-Moscow» [36, 41] и «PASS» для аналогов лекарственных средств, которые дают возможность прогнозировать свойства и биологическую активность пептидных препаратов. Средняя точность предсказания спектра биологических активностей по программе «PASS» составляет около 97% [40]. Создан Интернет-сайт (<http://erop.inbi.ras.ru>), банк которого содержит около 5000 молекул из более, чем 1000 биологических видов [41]. Создана информационно-аналитическая система по твердофазному синтезу пептидов [16].

Примеры синтетических аналогов: десмопрессин; 1-дезамино-*D*-Arg⁸-вазопрессин — циклический нонапептид, более химически устойчив и эффективен, чем вазопрессин [4]; кальцитонин (лососевый) — синтетический пептид, идентичный кальцитонину лосося, обладает более длительным действием, чем человеческий кальцитонин [24]; демокситоцин, 1-3(меркаптопропановая кислота)окситоцин — синтетический аналог окситоцина, более устойчив к ферментативной инактивации [42]; активность аналогов соматостатина повышается при замене *L*-Trp⁸ → *D*-Trp⁸ [43]; октреотид (Н-*D*-Phe-Cys²-Phe-*D*-Trp-Lys-Thr-Cys⁷-Thr-OH, дисульфидная связь 2→7) — обладает более продолжительным действием, чем соматостатин (Н-Ala-Gly-Cys³-Lys-Asn-Phe-Trp-Lys-Thr-Ser-Cys¹⁴-OH, дисульфидная связь 3—14) [44]; метилирование остатка His в молекуле тиролиберина приводит к 8-кратному повышению его активности [45]. Аналоги гонадолиберина (трипторелин, бусерелин, лейпрорелина ацетат, гозерелин) влияют на гонадотропные клетки так же, как природный гормон, но активность их в 50–100 раз выше, действие более продолжительное, они нетоксичны и более устойчивы к разрушению пептидазами [46]. Остатки пироглутаминовой кислоты образуют действенную защиту против атаки протеаз [10].

В Российской Федерации зарегистрированы аналоги генноинженерного инсулина импортного производства с заменой остатков: в В-цепи Pro²⁸-Lys²⁹ на Lys²⁸-Pro²⁹ (инсулин лизпро) и Pro²⁸ на Asp²⁸ (инсулин аспарт). В инсулине гларгин в А-цепи Asn²¹ заменен на Gly²¹, а в В-цепь добавлены Arg³¹-Arg³². На основе этих субстанций созданы препараты ультрабыстрого действия: Хумалог — инсулин лизпро (включен в Ф. США, изд. 27), НовоРапид Пенфилл и НовоРапид Флекс Пен — инсулин аспарт, препараты средней продолжительности действия НовоМикс 30 Пенфилл и НовоМикс 30 ФлексПен — инсулин аспарт (двухфазные суспензии) и препарат длительного действия — Лантус на основе инсулина гларгин (раствор с рН 4).

Лекарственные формы пептидных гормонов

К затруднениям при внедрении пептидов в медицинскую практику относятся: трудность или невозможность перорального введения, относительная быстрота распада после введения, трудность прохождения через гематоэнцефалический барьер, модуляторный характер действия (часто действие наиболее выражено при отклонениях состояния организма от нормы), выявление новых важных параллельных эффектов, отличных от основного фармакологического действия, и длительных вторичных эффектов [47]. Для устранения затруднений пептиды модифицируют путем введения дополнительных групп, например гидрофобных, или синтезируют биообратимые циклические пептиды [47, 48] и мультиплетные пептиды [49] с целью получения аналогов пептидов, в частности, с липофильными свойствами для успешной диффузии через клеточные мембраны. Другой подход для доставки пептидов с целью преодоления гематоэнцефалического барьера — использование твердых коллоидных наночастиц размером от 1 до 1000 нм из полимерного материала, в котором активный компонент растворен, включен, инкапсулирован или сорбирован на поверхности [50].

Серьезной проблемой является то, что регуляторные пептиды, появляясь в различных тканях как продукты протеолиза белков или протопептидов, довольно быстро деградируют, давая спектр различных пептидов, которые могут оказывать разнообразное физиологическое действие [51]. В связи с этим в последнее время резко повысился интерес к использованию интраназальных лекарственных форм пептидов. Из пептидов и белков интраназально используются десмопрессин, окситоцин, бусерелина ацетат, кальцитонин, метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин (Семакс) и другие — более 30 белковых и пептидных гормонов [52]. На стадии клинического изучения находится человеческий рекомбинантный инсулин фирмы «Эли Лилли» (США) в интраназальной системе Nazdel. Фирма «California Biotechnology» является держателем патента США, защищающего способ трансмукозальной доставки пептидов для лечения различных заболеваний, а также для регуляции физиологических нарушений с использованием усилителя проницаемости (тауро-24,25-дигидрофузидаата натрия) через слизистую оболочку носа [53].

Разработка нормативного документа

Нормативный документ (НД)* на гормон пептидной или белковой природы и выбор методов контроля качества [21, 54] является результатом работы по изучению структуры, физико-химических, биологических и иммунологических свойств препарата, степени чистоты (связанной со схемой производства), по установлению стабильности и допустимых отклонений в качестве препарата в зависимости от используемых аналитических методов.

Общие требования, которыми необходимо руководствоваться при разработке НД, изложены в общих нормативных документах: в Отраслевом стандарте «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» [55], ГФ XI [56], сборнике рекомендаций и тематических материалов по обеспечению качества фармацевтических препаратов [57], докладе Комитета экспертов ВОЗ по спецификациям для фармацевтических препаратов [58], а также в последних изданиях: Британской Фармакопеи (БФ) [59], Европейской Фармакопеи (ЕФ) [60] и Ф. США [61]. Кроме того, следует использовать действующие инструкции и изменения к утвержденным документам: Изменение 3 от 19.06.03 к ГФ XI «Методы микробиологического контроля лекарственных средств», ФС 42-3874-99 [62], инструкции по контролю на механические включения [63, 64]. Маркировка упаковки лекарственных препаратов, изготавливаемых отечественными производителями, регламентируется МУ 9467-015-0674947-98 «Графическое оформление лекарственных средств. Общие требования», Изменение 1 и Изменение 2 [65]. При получении субстанции методом микробиологического синтеза необходим контроль токсичности субстанции, при химическом синтезе субстанции этот показатель не является обязательным, если субстанция используется для производства таблеток [66].

Государственная Фармакопея является сборником обязательных стандартов и положений, нормирующих качество лекарственных средств [56, 66]. Утверждены следующие ОФС (общая фармакопейная статья) на методы контроля: «Определение белка» ОФС 42-0014-03, «Бактериальные эндотоксины» ОФС 42-0002-00, «Остаточные органические растворители» ОФС 42-0004-01, «Растворение» ОФС 42-0003-04, «Биологические испытания инсулина» ОФС 42-0009-02. ЛАЛ-тест («Bacterial Endotoxins Test», ст. 85 в Ф. США, изд. 27 [61]) для определения бактериальных эндотоксинов был включен в Фармакопею США (USP XX) еще в 1980 г.; в России этот тест признается адекватным тесту на пирогенность на кроликах. В статье [67] обращается внимание на проблемы, связанные с проведением испытания «Растворение», в статье [65] обсуждаются проблемы маркировки препаратов.

При выборе методов анализа для контроля качества препарата необходимо учитывать, что эти методы должны служить не полному анализу всех свойств препарата, а лишь установлению того факта, что по своему качеству он должен соответствовать требованиям НД, гарантирующим его фармакологическое дейст-

вие, свойства, чистоту и безопасность. Исследования биологической активности и физико-химических свойств, как правило, проводят с использованием стандартных образцов, особенно это касается генноинженерных** препаратов [54].

Особенности контроля. Анализ требований зарубежных фармакопей [59–61] и НД на отечественные и импортные пептиды показал, что при оценке качества пептидных гормонов и их аналогов (особенно синтетических) используют преимущественно методы жидкостной хроматографии высокого давления (ВЭЖХ) [68], позволяющие идентифицировать основные вещества и определять их содержание, а также определять примеси в основном веществе. В настоящее время происходит замена некоторых биологических методов определения на ВЭЖХ. Например, при количественном определении окситоцина вместо биологического метода, описанного в ЕФ, изд. 3 (2001 г.), в ЕФ, изд. 4 [60] и в Ф. США [61] включен метод ВЭЖХ. Для препаратов инсулина исключение определения биологической активности из зарубежных фармакопей произошло уже после 1988 г. В работе [69] рассмотрена оценка пригодности методик ВЭЖХ, а в работе [70] — применение ВЭЖХ для анализа субстанций. Подлинность, количественное определение основного вещества и примесей в соответствии с НД определяют методом ВЭЖХ в следующих пептидах: гонадорелина гидрохлориде (ВР), бусерелине, глюкагоне человеческого, гонадорелина ацетате, десмопресине, окситоцине, протирелине, соматостатине, инсулине КРС, человеческого и свином, соматотропине (БФ, ЕФ); вазопрессине, глюкагоне, гонадорелина гидрохлориде, окситоцине, инсулине человеческого, инсулине лизпро (Ф. США). Биологическую активность (как количественный анализ) используют преимущественно для гормональных пептидов из природных источников: глюкагона (БФ, ЕФ, Ф. США), кортикотропина (Ф. США), для гликопротеинов — гонадотропина хорионического (БФ, ЕФ, Ф. США), менотропинов (БФ, Ф. США), урофоллитропинов (БФ, ЕФ). Для идентификации основных веществ и обнаружения примесей используются следующие физико-химические методы [59–61, 70–77]: ИК-спектроскопия: протирелин (БФ, ЕФ), электрофорез: глюкагон инъекционный и соматотропин (БФ, ЕФ), тонкослойная хроматография: гонадорелина ацетат, соматостатин (БФ, ЕФ), гонадорелина гидрохлорид и пентагастрин (БФ), окситоцин инъекционный (Ф. США). Метод пептидного картирования с последующим определением фрагментов методом ВЭЖХ используется для подтверждения подлинности генноинженерных полипептидов: глюкагона человеческого, соматотропина (БФ, ЕФ), инсулина человеческого (БФ, ЕФ, Ф. США), инсулина лизпро (Ф. США). В последние издания фармакопей [59–61] метод пептидного картирования введен для всех субстанций инсулинов: в БФ, ЕФ — для соматропина. Методы ЯМР (обычно ¹H ЯМР) позволяют полностью расшифровать пространственное строение пептида или небольшого белка, например бусерелина (БФ, ЕФ), и определить

* Под НД подразумевается как нормативный документ, выдаваемый при регистрации импортного препарата, так и фармстатья предприятия (ФСП) или фармстатья (ФС), выдаваемые на отечественные препараты.

** В ряде НД используется написание термина «генноинженерный» через дефис, что не соответствует правилам орфографии русского языка. (Прим. редакции)

побочные продукты при синтезе, но его использование для рутинных анализов препятствует необходимости применения дорогостоящего оборудования. При анализе отечественных пептидов метод ¹H ЯМР используют только для идентификации стандартных образцов (даларгина, пептида дельта-сна).

Аминокислотный анализ часто используется в контроле качества синтетических пептидов, например бусерелина (БФ, ЕФ), гонадорелина ацетата или гидрохлорида (БФ, ЕФ), десмопрессина (БФ, ЕФ), окситоцина (БФ, ЕФ), пентагастрина (БФ) и соматостатина (БФ, ЕФ).

При анализе некоторых субстанций используют метод определения оптического вращения в воде — протирелина (БФ, ЕФ) и гонадорелина гидрохлорида (Ф. США), в ледяной уксусной кислоте — гонадорелина ацетата и гидрохлорида (БФ, ЕФ), десмопрессина (БФ, ЕФ), соматостатина (БФ, ЕФ), тетракозактида (БФ, ЕФ). Для идентификации пептидов иногда включают качественные реакции на отдельные аминокислоты, например на гистидин в Семаксе.

Следует отметить, что как в зарубежных фармакопеях, так и в НД на отечественные препараты (синтетические, природные и рекомбинантные) нормируется *содержание влаги или потеря в массе при высушивании*, которые могут отличаться для различных пептидных субстанций и их лиофилизированных лекарственных форм для инъекций (см. таблицу). Содержание влаги имеет большое значение для стабильности препарата. Для рекомбинантных препаратов в Ф. США [61] рекомендуемое значение влажности не более 1%.

При разработке НД следует иметь в виду, что для анализа должны использоваться приборы и наборы реактивов, зарегистрированные в Российской Федерации. Так, например, определение показателей содер-

жания проинсулина и иммунореактивных полипептидов в человеческом генноинженерном инсулине является проблемой в связи с отсутствием в продаже в РФ соответствующих наборов реагентов. В настоящее время в ЗАО «Алкор Био» (С.-Петербург) разработан новый набор реагентов «ПанкреоИФА-проинсулин» для иммуноферментного определения проинсулина в генноинженерном инсулине человека. При апробации набора в ИГКЛС ФГУ «ИГЭСМП» Росздравнадзора были получены положительные результаты.

При разработке НД на препараты инсулинов в виде суспензий, содержащих протамин, серьезной проблемой является определение показателя — изофанового отношения, показывающего содержание протамин сульфата по отношению к содержанию инсулина. Его определяют в производственном процессе для соблюдения соотношения содержания инсулина и протамин сульфата при получении кристаллов в лекарственных формах. В зарубежных фармакопеях [59—61] этот показатель не предусмотрен, в них отсутствует также методика определения протамин сульфата, указаны лишь рекомендуемые пределы содержания протамин сульфата на 100 МЕ инсулина для суспензий изофан-инсулина и протамин-цинк-инсулина. Необходимо учитывать, что некоторые требования к качеству пептидов, включенные в зарубежные фармакопеи, носят рекомендательный характер. Так, например, часто при разработке НД по аналогии с зарубежными фармакопеями в показателе «Растворимость» не указывают названия кислоты и/или щелочи и концентрации их растворов, что является ошибкой.

Генноинженерные препараты

Требования к качеству при производстве генноинженерных препаратов изложены в Ф. США, 27 изд. в статьях (ст.) 1045—1049 [61] и в директивах Международной конференции [78], методы их анализа регламентированы в Ф. США, 27 изд., ст. 1047 [61].

В настоящее время нет утвержденного отечественного нормативного документа на генноинженерные препараты, а действуют требования МУК 4.1/4.2.588-96. В 2001 г. А.П. Арзамасцевым с соавторами [54] опубликован проект общих рекомендаций по разработке, производству и анализу медицинских биотехнологических препаратов белковой природы взамен РД 42-28-9-89 «Общие требования к медицинским иммунобиологическим препаратам, полученным методами генной инженерии». В проекте представлен перечень основных показателей качества, в том числе требования по примесям, однако проект до сих пор не утвержден. Некоторые методики контроля качества препаратов, полученных методами генной инженерии, рассмотрены в работе [29]. Следует отметить, что, в отличие от лекарственных средств, требования к пищевым продуктам и пищевым добавкам, полученным из генетически модифицированных источников, утверждены документом МУК 2.3.2.970-00.

Таблица

Содержание влаги в субстанциях некоторых пептидных гормональных препаратов

Пептид	Остаточная влажность, %	Источник
Пентагастрин	≤ 0,5	БФ
Соматотропин (для инъекций)	3	БФ, ЕФ
Гонадорелин, гидрохлорид	3	Ф. США
Эритропозтин	3	БФ, ЕФ
Бусерелин	4	Там же
Соматотропин	4	—
Окситоцин	5	—
Протирелин	5	—
Гонадотропин, хорионический	5	БФ, ЕФ, Ф. США
Менотропины	5	Там же
Дестопрессин	6	БФ, ЕФ
Кальцитонин (для инъекций)	7	Там же
Гонадорелин, ацетат	7	—
Протирелин	7	—
Гонадорелин, гидрохлорид	7	БФ
Соматостатин	8	БФ, ЕФ
Глюкагон	10	БФ, ЕФ, Ф. США
Инсулин	10	Там же
Кальцитонин (субстанция)	10	БФ, ЕФ

Основная особенность производства генноинженерных препаратов — использование генетически модифицированных живых организмов. Критическими стадиями производства рекомбинантных пептидов являются: выделение гена, кодирующего пептид, выбор вектора и продуцента, метод получения плазмиды с рДНК, быстрая очистка препарата для исключения возможности разрушения протеазами. Примеси рекомбинантных препаратов могут содержать следовые количества ДНК, факторов роста, белков клеток продуцента, белков клеток среды и эндотоксины. Бактериальные клетки хозяина (прокариоты) отличаются от клеток эукариотов (дрожжей, клеток животных) тем, что они экспрессируют более высокие концентрации рекомбинантных пептидов и требуют присутствия относительно более простых компонентов среды, чем эукариоты, но при этом продукты чаще бывают получены в химически восстановленном состоянии и требуют стадии окисления для образования дисульфидных связей и создания требуемой структуры. Другие затруднения при использовании метода экспрессии в производстве продукта с помощью бактерий, например в *Escherichia coli*, заключаются в присутствии в аминокислотной последовательности рекомбинантного пептида N-формилметионинового остатка, который необходимо удалять, а также в освобождении от протеаз и эндотоксинов [61].

На примере производства генноинженерного инсулина из клеток *E. coli* или *Saccharomyces cerevisiae* [79] можно отметить положительные и отрицательные стороны использования экспрессионных систем бактерий и дрожжей. Среди положительных: а) при бактериальной экспрессии наблюдается высокая продуктивность и экономический выигрыш, бактериальные векторы лучше изучены; б) при дрожжевой экспрессии имеет место наибольшая адаптация к эукариотическому белок-синтезирующему аппарату, при этом решен вопрос о ренатурации белка, так как синтезируется не гибридный, а нативный белок; удобно выделять и очищать секретируемый белок. Среди отрицательных сторон следует отметить: а) при бактериальной экспрессии: технологические трудности, нестабильность рекомбинантного белка, наличие токсических липополисахаридов; б) при дрожжевой экспрессии: дефицит мощных экспрессирующих систем (в нашей стране), более высокие экономические затраты и более низкая продуктивность штаммов. Различия в продуцировании между эукариотическими и прокариотическими клетками хозяина имеют большое значение, которое выражается в различных требованиях к процессам валидации, очистки и аналитической методологии (Ф. США, изд. 27). В Ф. США, изд. 27, ст. 1045, 1047—1050 [61] рассмотрены требования к производству, методы контроля чистоты, стабильности, вирусной безопасности и контроля качества генноинженерных препаратов. В ЕФ, изд. 4 [60] включена статья для продуктов, получаемых по технологиям с использованием рДНК; статья рассматривает основные стадии и валидацию процессов производства, характеристику генноинженерной субстанции.

Системы контроля качества для продуктов биотехнологии в основном аналогичны традиционным в отношении стерильности, проверки безопасности на экспериментальных животных, активности, а также

общих требований, предъявляемых к лекарственным формам. Однако системы контроля, как правило, отличаются сочетанием типов методов, применяемых для идентификации, определения чистоты и стабильности субстанций. Кроме контроля конечного продукта очень важное значение имеет контроль валидации процессов биотехнологии.

При очистке рекомбинантных пептидов широко используются различные *методы хроматографии*. Для определения примесей в рекомбинантных продуктах в Ф. США, изд. 27 описаны общие методы контроля чистоты, включая: *определение эндотоксинов*; *определение белков клеток хозяина* или *белков среды* методами иммуноанализа, электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии натрия додецилсульфата (ЭФ в ПААГ + Na-ДДС); *определение примеси ДНК штамма продуцента* (остаточной ДНК) методами гибридизации и УФ-спектрофотометрии; *определение пептидов-мутантов* методами пептидного картирования (ПК), ВЭЖХ, изоэлектрического фокусирования (ИЭФ), масс-спектрометрии (МС); *определение формилметионина* методами ПК, ВЭЖХ, МС; *определение остатков окисленных метионинов* методами ПК, аминокислотного анализа, ВЭЖХ; определение аминокислотной последовательности по методу Эдмана (АП по Эдм.) и МС; определение наличия *протеолитического разрушения* — методами ИЭФ, ЭФ в ПААГ + Na-ДДС, ВЭЖХ, АП по Эдм.; *определение наличия агрегированных пептидов* — методом эксклюзионной хроматографии, ЭФ в ПААГ + Na-ДДС, АП по Эдм.; *определение пептидов с замещенными аминокислотами* — аминокислотным анализом, методом ПК, МС, АП по Эдм. Проводится также контроль на *микробиологическую чистоту* или *стерильность*, на *присутствие вирусов* (эндогенных или адвентициальных) для эукариотических клеточных линий. При использовании метода ПК важное значение имеет чистота в отношении эндопептидаз.

Кардинальной является проблема онкогенности конечного продукта. Примесь ДНК штамма-продуцента является возможной специфической примесью в рекомбинантном пептиде, она уникальна для каждого продукта, так как зависит от организма хозяина и процесса технологии производства. Современные методы очистки позволяют снизить содержание примеси ДНК до пикограммовых количеств, т.е. оно в 10^5 — 10^8 раз меньше количества ДНК, способного трансформировать клетки [80]. Техника метода гибридизации ДНК с радиоактивной меткой — наиболее чувствительный метод, который доступен для рутинного определения примеси ДНК в рекомбинантном пептиде. Кроме того, используют метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением амплификации, перспективен метод биосенсорной технологии (Ф. США, изд. 27). При высокой концентрации ДНК (более 500 нг/мл) определение можно проводить с помощью УФ-спектроскопии при 260 нм. Метод ELISA позволяет определять остаточные белки клеток хозяина в нанограммовых количествах.

Чувствительность метода определения примеси ДНК методом гибридизации по Ф. США, изд. 27 составляет 10—250 пг. Номинальный уровень примеси ДНК в конечном продукте 10 пг/доза [81], по требованиям МУК 4.1/4.2.588-96 допустимый уровень —

менее 100 пг/доза, или менее 10 пг/доза для препаратов, предназначенных для многократного введения, причем определение примеси ДНК продуцента проводят на очищенном продукте (субстанции) до добавления стабилизаторов, наполнителей, консервантов и других компонентов лекарственной формы. В ЕФ допустимое содержание примеси ДНК для различных препаратов составляет 100 пг/дозу или 10 пг/дозу. Если ДНК перевиваемых клеточных линий представляют большую опасность, то тогда пределы содержания ДНК должны устанавливаться по согласованию с национальным контрольным органом по решению Комитета экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов [82].

Гормональные препараты пептидно-белковой природы, зарегистрированные в России в качестве лекарственных средств

В разделе представлена номенклатура гормональных препаратов пептидно-белковой природы, включая низкомолекулярные пептиды, белки и гликопротеины. Список составлен на основе обновляемых данных по регистрации (и аннулированию) препаратов в России в соответствии с базой данных (<http://www.regmed.ru>) по состоянию на март 2005 г. При описании препаратов вначале приводится международное непатентованное название (МНН) активного вещества, а затем наименования коммерческих препаратов, содержащих это вещество (торговые названия).

Используемые сокращения: д/и — лекарственные формы для инъекций, сусп. — суспензия, интраназ. р-р — интраназальный раствор, станд. образец — стандартный образец, в/м — внутримышечный, в/в — внутривенный, п/к — подкожный, лиоф. — лиофилизированный или лиофилизат, приг. — приготовление, прир. — природный, синт. — синтетический, рекомб. — рекомбинированный (генноинженерный).

Кортикотропин, адренокортикотропный гормон (АКТГ) — идентичен природному гормону передней доли гипофиза, прир., *торговые названия: Кортикотропин, Кортикотропин (АКТГ), Цинк-кортикотропина, лекарственные формы:* станд. образец, субстанция, раствор д/и, суспензия, *изготовитель:* «Фермент НПО», Россия; *фармакологическое действие:* увеличение скорости секреции адренокортикостероидов; *фармакологическая группа:* 4.3.

Тетракозактид — фрагмент АКТГ 1—24 (тетракозактид гексаацетат), синт., *торговое название: Синактен-депо, лекарственная форма:* суспензия д/и, *изготовитель:* «Новартис Фарма АГ», Швейцария, «Новартис Фарма С.А.», Франция; *фармакологическое действие:* глюкокортикоидное, минералокортикоидное, адренокортикотропное; *фармакологическая группа:* 4.3.

Метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин — фрагмент АКТГ 4—10, синт., *торговое название: Семакс, лекарственные формы:* станд. образец, субстанция, *торговое название: Семакс 0,1%, лекарственные формы:* раствор д/и, интраназ. р-р, *изготовитель:* Институт молекулярной генетики РАН; *фармакологическое действие:* ноотропное и адаптогенное, лишен гормональной активности АКТГ; *фармакологическая группа:* 9.7.

Вазопрессин — идентичен природному гормону [у человека и быка Arg⁸-вазопрессин, у свиньи Lys⁸-вазопрессин (липрессин)], синт., *фармакологическое действие:* антидиуретическое, стимулирование сокращения сосудов и гладких мышц; *фармакологическая группа:* 4.3. В настоящее время вместо вазопрессина и липрессина используются их синтетические аналоги.

Терлипрессин — N-Gly-Gly-Gly-Lys⁸-вазопрессин; пролекарство, которое в организме человека медленно превращается в липрессин, синт., *торговое название: Реместип 100 мг, лекарственная форма:* раствор д/и, *изготовитель:* «Ферринг-Лечива С.А.», Чехия; *фармакологическое действие:* сосудосуживающее, гемостатическое, *фармакологическая группа:* 4.3., 11.6.6.

Десмопрессин — 1-дезамино-D-Arg⁸-вазопрессин, более устойчив и эффективен, чем вазопрессин; синт., *торговое название: Адиуретин 0,01%, лекарственная форма:* интраназ. р-р, *изготовитель:* «Ферринг-Лечива С.А.», Чехия; **Минирип**, таблетки; «Ферринг АБ», Швеция; *фармакологическое действие:* вазопрессиноподобное, антидиуретическое, стимулирует активность VIII фактора крови; *фармакологическая группа:* 4.3.

Глюкагон — идентичен природному гормону поджелудочной железы, рекомб., *торговое название: Глюкаген 1 мг ГипоКит, лекарственные формы:* лиоф. для приг. раствора д/и, *изготовитель:* «Ново Нордиск», Дания; *фармакологическое действие:* гипергликемическое, спазмолитическое, антагонист инсулина; *фармакологическая группа:* 4.2.

Окситоцин — идентичен природному гормону, который образуется в гипоталамусе и накапливается в задней доле гипофиза; синт., *торговое название: Окситоцин синтетический, лекарственные формы:* субстанция, *изготовитель:* ПАО «Гриндекс», Латвия; *торговое название: Окситоцин, лекарственные формы:* раствор для в/м и в/в введения, *изготовители:* ПАО «Гриндекс», Латвия; Медицинский центр «Эллара», АООТ «Биомед» им. И.И. Мечникова, ФГУП НПО «Микроген», ОАО «Дальхимфарм», ГУП «Иммунопрепарат», Россия; Харьковское предприятие «Биолек», Украина; «Геден Рихтер А.О.», Венгрия; «Чунгве Фарма Корпорейшн», Южная Корея; «Ферринг-Лечива», Чехия; *торговое название: Окситоцин-МЭЗ, лекарственная форма:* раствор для в/м и в/в введения, *изготовитель:* Московский эндокринный завод; *фармакологическое действие:* утеротонизирующее, стимулирующее родовую деятельность, лакотропное; *фармакологические группы:* 4.3., 11.6.6.

Демокситоцин, 1-(3-меркаптопропановая кислота)-окситоцин — синт., *торговое название: Деаминанокситоцин, лекарственные формы:* субстанция, таблетки, *изготовитель:* ПАО «Гриндекс», Латвия; *фармакологическое действие:* утеротонизирующее, стимулирующее родовую деятельность, лакотропное; *фармакологические группы:* 4.3., 11.6.6.

Пентагастрин — аналог С-концевого пептида природного гормона гастрина, N-Вос-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂ (где Вос — трет-бутилоксикарбонил), синт., *торговое название: Пентагастрин; лекарственные формы:* раствор д/и, субстанция, станд. образец; *изготовители:* «Санитас», Литва; Институт органического

синтеза АН Латвии; *фармакологическое действие*: диагностическое, стимулирует секрецию соляной кислоты в желудке, пепсина, повышает моторику кишечника; *фармакологическая группа*: 5.2.

Кальцитонин — выделяют из щитовидных желез свиней; *прир.*, *торговое название*: **Кальцитонин**, *лекарственные формы*: субстанция, станд. образец, *изготовитель*: Россия (ФС); *торговое название*: **Кальцитрин** 10 ЕД, 15 ЕД, *лекарственные формы*: лиоф. для приг. раствора для в/м и п/к введения; *изготовитель*: Россия (ФС); *торговое название*: **Кальцитрин для инъекций**, *лекарственная форма*: лиоф. порошок для инъекций, *изготовитель*: Россия (ФС); *фармакологическое действие*: гипокальциемическое, ингибирующее костную резорбцию, болеутоляющее; *фармакологическая группа*: 8.8.

Кальцитонин (лососевый) — идентичен кальцитонину лососей, *синт.*, *торговое название*: **Миакальцик**, *лекарственные формы*: 100 МЕ/мл, раствор для в/м и п/к введения, *изготовитель*: «Новартис Фарма АГ», Швейцария; **Миакальцик**, *лекарственная форма*: 200 МЕ/мл, спрей назальный дозированный, *изготовитель*: «Новартис Фарма АГ», Франция; *фармакологическое действие*: то же, что у кальцитонина свиного; *фармакологическая группа*: 8.8.

Инсулин* — идентичен природному гормону поджелудочной железы человека или животных. В базе данных дается новое МНН для инсулина — **Инсулин растворимый**. *Фармакологическое действие*: антидиабетическое; *фармакологическая группа*: 4.5.

Инсулин (свиной), *прир.*, *торговое название*: **Инсулин свиной высокоочищенный МК**; *лекарственная форма*: субстанция, *изготовители*: ОАО «Биосинтез» (Пенза), ГИК и МП**, ОАО «Российский инсулин», ОАО «Синтез АКО»; *торговое название*: **Инсулин свиной МП**, *лекарственная форма*: субстанция, *изготовители*: ГИК и МП, Россия (ФС); *торговое название*: **Инсулин МК свиной**: станд. образец; *изготовитель*: Россия (ФС).

Отечественные изготовители готовых лекарственных форм инсулина (свиного): ЗАО «Брынцалов-А», ГИК и МП, ОАО «Синтез АКО»; *зарубежные фирмы-изготовители*: АО «Польфа, Тархоминский фармацевтический завод»; АО «Белмедпрепараты», Беларусь; «Биобраз С.А.», Бразилия; «Ново Нордиск А/О», Дания; ЗАО «Индар», Украина.

Инсулин (человеческий), *рекомб.*, *торговое название*: **Инсулин генно-инженерный человеческий**; *лекарственная форма*: субстанция; *изготовитель*: ЗАО «Брынцалов-А»; *торговое название*: **Рекомбинантный человеческий инсулин** *лекарственная форма*: субстанция; *изготовители*: «Тонхуа Донгбао Фармасьютикал Ко Лтд», Китай; *торговое название*: **Инсулин человеческий**, *лекарственные формы*: субстанция, станд. образец, *изготовитель*: ЗАО «Национальные биотехнологии», *лекарственная форма*: субстанция, «Диосинт

Франсе С.А.», Франция; *торговое название*: **Инсулин человека**, *лекарственная форма*: субстанция, *изготовители*: Институт биоорганической химии РАН; «Хехст Марион Руссель ГмбХ», Германия.

Отечественные изготовители готовых лекарственных форм рекомб. инсулина (человеческого) в виде растворов д/и и суспензий для п/к введения: ЗАО «Брынцалов-А», Институт биоорганической химии РАН, ЗАО «Национальные биотехнологии», *зарубежные фирмы-изготовители*: «Ново Нордиск А/О», Дания, «Марвел ЛайфСайнсез Пвт. Лтд», Индия; «Авентис Фарма Дойчланд ГмбХ», Германия; «Хехст Марион Руссель ГмбХ», Германия; «Лилли Франс» и «Эли Лилли», Франция.

Инсулин (человеческий) полусинтетический, полученный ферментативной модификацией, *торговое название*: **Инсулин человека полусинтетический**, *лекарственная форма*: субстанция; *изготовители*: ЗАО «Брынцалов-А», «Диосинт Франсе С.А.», Франция; *торговое название*: **Кристалл полусинтетического человеческого инсулина**, *лекарственная форма*: субстанция; *изготовитель*: «Биобраз С/А», Бразилия.

Отечественный изготовитель готовых лекарственных форм инсулина полусинтетического (человеческого): ЗАО «Брынцалов-А»; *зарубежные фирмы-изготовители*: «Диосинт Франсе С.А.», Франция; ЗАО «Индар», Украина; «Биобраз С/А», Бразилия; «Марвел ЛайфСайнсез Пвт. Лтд», Индия.

Инсулин гларгин — аналог, *рекомб.*, *торговое название*: **Лантус** 100 МЕ/мл; *лекарственная форма*, *раствор* для п/к введения, *изготовитель* «Авентис Фарма Доцчланд ГмбХ», Германия.

Инсулин аспарт — аналог, *рекомб.*, *торговые названия*: **НовоМикс 30 Пенфилл**, **НовоМикс 30 Флекс Пен**, *лекарственная форма*: сусп. для п/к введения (100 МЕ/мл); *торговое название*: **НовоРапид Пенфилл**; *лекарственная форма*: раствор для в/в и п/к введения, *изготовители* «Ново Нордиск А/О», Дания.

Инсулин лизпро — аналог, *рекомб.*, *торговое название*: **Хумалог**, *лекарственная форма*: раствор д/и (100 МЕ/мл), *изготовители* «Лилли Франс С.А.С.», Франция и «Эли Лилли», Франция; *торговое название*: **Хумалог Микс 25**, *лекарственная форма*: сусп. для п/к введения (100 МЕ/мл), *изготовители* «Лилли Франс С.А.С.», Франция.

Соматропин (соматотропин) — аналог гормона роста, продуцируемого гипофизом человека, состоит из 191 аминокислотного остатка, *рекомб.*, *торговое название*: **Генотропин** 16 МЕ, *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для п/к введения, *изготовители*: «Фармация и Апджон АБ», Швеция; «Ново Нордиск А/О», Дания; *торговое название*: **Нордитропин пенсет** 12 МЕ, *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для п/к введения; *торговое название*: **Нордитропин Симплекс**, *лекарственная форма*: раствор для п/к введения, *изготовитель*: «Ново Нордиск А/О», Дания; *торговое название*: **Сайзен** 8 мг; *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для п/к введения, *изготовитель*: «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Италия; *торговое название*: **Соматропин человеческий**, *лекарственная форма*: субстанция-жидкость, *изготовитель*: ЗАО «Мастерклон»; *торговое название*: **Хуматроп** 6 мг, 12 мг, *лекарственная форма*: лиоф. для приг.

* Названия всех готовых лекарственных форм инсулина (растворов д/и и суспензий) не указаны в связи с их большим количеством. Всего на март 2005 г. в РФ зарегистрировано субстанций и готовых лекарственных форм инсулина в разных упаковках более 180.

** Государственный институт кровезаменителей и гормональных препаратов.

раствора для п/к введения, *изготовитель*: «Лилли Франс», Франция; *фармакологическое действие*: соматотропное, анаболическое, стимулирует рост; *фармакологическая группа*: 4.3.

Терипаратид — фрагмент 1—34 полипептидной цепи паратиреоидного гормона (состоящей из 84 остатков аминокислот), рекомб, *торговое название*: **Форстео** 250 мкг/мл, *лекарственная форма*: раствор для п/к введения, шприц-ручки, *изготовитель*: «Лилли Франс С.А.С.», Франция; *фармакологическое действие*: регулирование кальциевого и фосфорного метаболизма.

Рилизинг-гормоны

Гонадорелин — аналогичен гипоталамическому гонадотропин-релизинг-гормону, синт., *торговое название*: **Лютрелф** 0,8 мг, 3,2 мг, *лекарственная форма*: лиоф. порошок для приготовления раствора д/и, *изготовитель*: «Ферринг Арцнаймиттель ГмБХ» Германия (дата аннуляции 31.12.97); *фармакологическое действие*: противоопухолевое, антиандрогенное; гонадотропное, лютеинизирующее; *фармакологическая группа* 4.3.

Гозерелина ацетат — аналог гонадорелина, H-5-Охо-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-D-NH-CH-[CH₂OC(CH₃)₃]-CO-Leu-Arg-Pro-NH-NH-CO-NH₂·H₃C-CO₂H, синт., *торговое название*: **Золадекс депо** 3,6 мг и 10,8 мг, *лекарственная форма*: капсулы пролонгированного действия; *торговое название*: **Золадекс**; *лекарственная форма*: раствор д/и; *изготовитель*: «Зенека Фарма», Индонезия; *фармакологическое действие*: противоопухолевое, антиандрогенное, ингибирует секрецию лютеинизирующего гормона (ЛГ); *фармакологические группы*: 4.3., 13.4.

Бусерелин (бузерелин) — аналог гонадорелина ацетата, 5-Охо-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (tret-Bu)-Leu-Arg-Pro-NHEt; *торговое название*: **Бусерелина ацетат**, *лекарственные формы*: субстанция, станд. образец; *торговое название*: **Бусерелин-депо лиофилизат** — для приг. суспензии пролонгированного высвобождения; *торговое название*: **Бусерелин спрей назальный дозированный**; *изготовитель*: ЗАО «Фарм-Синтез»; *фармакологическое действие*: противоопухолевое, антиандрогенное, обладает агонистической активностью к гонадорелину.

Лейпрорелин — аналог гонадорелина ацетата, 5-Охо-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt, синт., *торговое название*: **Люкрин депо**; *лекарственная форма*: лиоф. для приг. сусп. для в/м введения (3,75 мг, 11,25 мг, 130 мг), *изготовитель*: «Эббот Лэбораториз С.А.», Испания; *фармакологическое действие*: противоопухолевое, антигонадотропное, антиандрогенное, антиэстрогенное; *фармакологическая группа*: 13.4.

Трипторелин — аналог гонадорелина ацетата, D-Trp⁶-гонадорелина ацетат; синт., *торговые названия*: **Декапептил** 100 мкг/мл, 0,5 мг/мл, *лекарственные формы*: раствор для п/к введения, шприц-ампулы; *торговое название*: **Декапептил депо** 3,75 мг, *лекарственные формы*: лиоф. для приг. сусп. для в/м и п/к введения пролонгированного действия, шприцы, *изготовитель*: «Ферринг ГмБХ», Германия, *торговое название*: **Диферелин** 3,75 мг, *лекарственные формы*: лиоф. для приг.

сусп. для в/м и п/к введения пролонгированного действия, *торговое название*: **Диферелин** 100 мкг, *лекарственная форма*: порошок для приг. сусп. для п/к введения, *изготовитель*: «Бофур Ипсен Интернасьонал», Франция; *фармакологическое действие*: противоопухолевое, антигонадотропное, цитостатическое; *фармакологические группы*: 4.3., 13.4.

Протирелин — идентичен природному тиреотропинрилизинг-гормону (тиролиберину), 5-Охо-Pro-His-Trp-NH₂, синт., *торговое название*: **Пленки с тиролиберинном**, *лекарственная форма*: пленки для наклеивания на десну, *изготовитель*: ОАО «Экран НПО»; *торговое название*: **Тиролиберина раствор для инъекций**, *лекарственная форма*: раствор для в/в введения, *изготовитель*: НПО «Микроген» (Иммунопрепарат), ОАО «Мапофонд»; *торговое название*: **Рифатируин**, *лекарственная форма*: субстанция, *изготовитель*: Россия (ФС); *торговое название*: **Рифатируин для инъекций** 0,5 мг, *лекарственная форма*: лиоф. для приготовления раствора д/и, *изготовитель*: Россия (ФС); *фармакологическое действие*: диагностическое, используется при гипопитарной недостаточности, способствует высвобождению тиреотропного гормона.

Соматостатин — гипоталамический релизинг-гормон, ингибирующий высвобождение соматотропина, *торговое название*: **Модустатин** 2 мг, *лекарственные формы*: лиоф. для приготовления раствора д/и, *изготовитель*: «Санофи-Винтроп», Франция (дата аннуляции регистрации 09.09.02); *торговое название*: **Стиламиин** 250 мкг, 3 мг, *лекарственная форма*: лиоф. для приготовления раствора д/и, *изготовитель*: «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Италия (дата аннуляции 27.12.02); *фармакологическое действие*: соматостатиноподобное, ингибирует освобождение соматотропина; *фармакологическая группа*: 4.3.

Октреотид — аналог соматостатина H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Lys-Thr-Cys-Thr-OH, от соматостатина отличается большей стабильностью и продолжительностью действия, синт., *торговое название*: **Октреотид**, *лекарственные формы*: субстанция, станд. образец, *изготовитель*: ЗАО «Фарм-Синтез»; *торговое название*: **Октреотид** 50 мкг/мл и 100 мкг/мл, *лекарственная форма*: раствор для в/в и подкожного введения, *изготовитель*: ЗАО «Фарм-Синтез»; *торговое название*: **Октреотида раствор**, 50 мкг/мл и 100 мкг/мл, *лекарственная форма*: раствор для в/в и подкожного введения, *изготовитель*: ЗАО «Петрохим»; *торговое название*: **Сандостатин**, *лекарственные формы*: порошок для приготовления раствора для в/м введения, микросферы для приготовления суспензии д/и в комплексе с растворителем, *изготовитель*: «Новартис Фарма АГ», Швейцария; *фармакологическое действие*: соматостатиноподобное, ингибирует освобождение соматотропина; препараты применяют при кровотечениях из верхних отделов желудочно-кишечного тракта; *фармакологическая группа*: 4.3.

Лантреотид — аналог соматостатина, 3-(2-Naphthalenyl-D-Ala-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂ (циклический дисульфид 2→7), *торговое название*: **Соматулин** 30 мг, *лекарственная форма*: лиоф. для приготовления суспензии для в/м введения пролонгированного действия, *изготовитель*: «Бофур Ипсен Интернасьональ», Франция; *фармакологическое действие*:

вие: соматостатиноподобное, снижает гиперсекрецию соматотропина и тиротропина; применяется для лечения акромегалии.

Гормоны тимуса (иммуномодуляторы)

Глутамил-триптофан — синт., торговое название: **Тимоген**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, спрей назальный (25 мкг/доза), изготовитель: Россия (ФС); торговое название: **Тимоген, лиофилизированный**, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора для д/и; торговое название: **Тимогена раствор 0,01%**, лекарственные формы: спрей назальный (25 мкг/доза), раствор для в/м введения, изготовитель: НПО ФГУП «Микроген» (Пермское НПО «Биомед»); торговое название: **Тимоген натрий**, лекарственная форма: субстанция, спрей назальный дозированный (250 мкг/мл), изготовитель: ЗАО МБ НПК «ЦИТОМЕД»; фармакологическое действие: иммуномодулирующее; фармакологическая группа 6.4.

Глутамил-цистинил-глицин-динатрия — синт., торговое название: **Глутоксим**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, раствор д/и, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл и 30 мкг/мл, изготовитель: Россия (ФС), фармакологическое действие: иммуностимулирующее, нормализующее обменные процессы, регулирующее окислительно-восстановительные процессы.

Аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин — синт., торговое название: **Имунофан**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, раствор для в/м и п/к введения 50 мкг, 100 мкг/мл, изготовитель: ООО НПП «Бионокс»; фармакологическое действие: иммуностимулирующее, гепатопротекторное, дезинтоксикационное.

Thr-Glu-Lys-Lys-Arg-Arg-Glu-Thr-Val-Glu-Arg-Glu-Lys-Glu (не имеет МНН) — синт., торговое название: **Гепон**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, лиоф. для приг. раствора для приема внутрь и местного прим. 1 мг и 2 мг, лиоф. для приг. раствора для приема внутрь 10 мг, изготовитель: ООО «Иммфарма», фармакологическое действие: иммуномодулирующее, противовирусное, противовоспалительное; применяют для повышения иммунитета, как противовирусное средство, средство для лечения ВИЧ-инфекций; фармакологическая группа: 6.4.

Глутамил-триптофан динатрия, D-Glu-D-Trp — синт., торговое название: **Тимодепрессин**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, капли назальные, раствор для в/м введения, изготовитель: ЗАО «Центр Пептос», Россия; лекарственные формы: раствор для в/м введения, капли назальные изготовитель: ФГУП «Московский эндокринный завод»; лекарственная форма: субстанция, изготовитель: «Иммунотек Девелопментс Инк», Канада; фармакологическое действие: иммунодепрессивное; фармакологическая группа: 6.3.

Комплекс полипептидов из тимуса млекопитающих, содержит α-1 тимозин (не имеет МНН) — прир., торговое название: **Тимоптин**, лекарственная форма: субстанция, изготовитель: Россия (ФС), торговое название: **Тимоптин для инъекций** 100 мкг, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора д/и, изготовитель: ФГУП «Московский эндокринный завод»; фармаколо-

гическое действие: иммуномодулирующее (иммуностимулирующее); фармакологическая группа 6.4.

Комплекс полипептидов из тимуса млекопитающих (не имеет МНН) — прир., торговое название: **Тактивин**, лекарственные формы: субстанция, раствор для п/к введения, раствор д/и, изготовитель: ОАО «Биомед» (Красногорск), фармакологическое действие: иммуномодулирующее (иммуностимулирующее); фармакологическая группа 6.4.

Комплекс полипептидов из тимуса половозрелых телят (не имеет МНН) — прир., торговое название: **Тималин**; лекарственная форма: лиоф. для приготовления раствора для в/м введения, изготовители: ОАО «Самсон» (С.-Петербург), АО «Белмедпрепараты», Беларусь; торговое название: **Тимактид**, лекарственная форма: таблетки, изготовитель: ФГУП «Московский эндокринный завод»; фармакологическое действие: иммуномодулирующее (иммуностимулирующее); фармакологическая группа: 6.4.

Гликопротеиновые гормоны

Гонадотропин хорионический — прир., сухой препарат плацентарных гликопротеинов из мочи беременных женщин, димер двух субъединиц: альфа и бета, торговое название: **Гонадотропин хорионический**, лекарственные формы: субстанция, станд. образец, изготовитель: Россия (ФС), торговое название: **Гонадотропин хорионический** 500 ЕД, 1000 ЕД, 1500 ЕД, 2000 ЕД, лекарственная форма: лиоф. для приготовления раствора для в/м введения, изготовители: ЗАО «Петрохим», ФГУП «Московский эндокринный завод», Покровский завод биопрепаратов, ГП «Фарма-130», ООО «Лэнс-Фарм», торговое название: **Прегнил** 500 ЕД, 1500 ЕД, 2000 ЕД, лекарственная форма: лиоф. для приготовления раствора для в/м введения, изготовитель: «Н.В. Органон», Нидерланды; торговое название: **Хорагон** 1500 ЕД, 5000 ЕД, лекарственная форма: лиоф. для приготовления раствора для в/м введения, изготовитель: «Ферринг ГмБХ», Германия, фармакологическое действие: лютеинизирующее и фолликулостимулирующее, гонадотропное; фармакологическая группа 4.3.

Хориогонадотропин альфа — рекомб., торговое название: **Овитрель** 250 мкг, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора для п/к введения, изготовитель: «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Италия, фармакологическое действие: гонадотропное; фармакологическая группа 4.3.

Менотропины — прир., гонадотропин менопаузный, содержит ЛГ и ФСГ (в соотношении 1:1), торговое название: **Гонадотропин менопаузный**, лекарственная форма: субстанция, станд. образец, изготовитель: Россия (ФС); **Гонадотропин менопаузный** 37,5 МЕ ФСГ + 37,5 МЕ ЛГ, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора для в/м введения, изготовитель: Россия (ФС); торговое название: **Меногон** 37,5 МЕ ФСГ + 37,5 МЕ ЛГ, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора для в/м введения, изготовитель: «Ферринг ГмБХ», Германия; торговое название **Менопур** 37,5 МЕ ФСГ + 37,5 МЕ ЛГ, лекарственная форма: лиоф. для приг. раствора для в/м введения, изготовитель: «Ферринг ГмБХ», Германия; торговое название **Пергонал** 37,5 МЕ ФСГ + 37,5 МЕ ЛГ, лекарственная форма:

лиоф. для приг. раствора для в/м введения, *изготовитель*: «Лаборатория Сероно С.А.», Швейцария; *фармакологическое действие*: фолликулостимулирующее и гонадотропное, вызывает повышение концентрации эстрогенов в крови у женщин, у мужчин стимулирует сперматогенез; *фармакологическая группа* 4.3.

Урофоллитропин — прир., гонадотропный гормон содержит ФСГ и незначительное количество ЛГ, *торговое название*: **Метродич ВЧ** 75 МЕ, *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для в/м и п/к введения, *изготовитель*: «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Италия, *фармакологическое действие*: фолликулостимулирующее, эстрогеноподобное; *фармакологическая группа* 4.3.

Фоллитропин альфа — рекомб., *торговое название*: **Гонал-Ф** 75 МЕ, 150 МЕ, *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для в/м и п/к введения, *изготовитель*: «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Италия; *фармакологическое действие*: гонадотропное, эстрогенное; *фармакологическая группа* 4.3.

Фоллитропин бета — рекомб., *торговое название*: **Пурегон** 50 МЕ, 75 МЕ, 150 МЕ, *лекарственная форма*: лиоф. для приг. раствора для в/м и п/к введения, *изготовитель*: «Н.В. Органон», Нидерланды; *фармакологическое действие*: фолликулостимулирующее, эстрогеноподобное; *фармакологическая группа* 4.3.

* * *

Систематизация номенклатуры гормональных препаратов пептидно-белковой природы показывает, что наблюдается стремительный рост количества этих препаратов с преобладанием синтетических пептидных гормонов и их аналогов. С каждым годом увеличивается выпуск генноинженерных препаратов. К ним должны предъявляться особые требования по безопасности, однако отечественные методические указания или рекомендации, соответствующие современным требованиям к качеству этих препаратов до сих пор не утверждены.

Список терминов

Валидация — оценка пригодности методик, надежности условий производства, оценка соответствия продукции нормированным показателям качества

Интраназальный — всасывающийся через нос

Мультиплетные пептиды — дендримеры, в которых отдельные пептидные цепи соединены с кором (центром). Синтезируются с целью получения аналогов пептидов с липофильными, измененными иммуногенными свойствами и т.п.

Пероральный — вводимый через рот (таблетки, капсулы и др.)

Трансмуккозальный — всасывающийся через слизистую оболочку

Список сокращений

АКТГ — адренкортикотропный гормон

БФ — Британская фармакопея

ЕФ — Европейская фармакопея

Ф. США — фармакопея США

КРС — крупный рогатый скот

ЛГ — лютеинизирующий гормон

Метод ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay) — иммуноферментный анализ, реакция энзим-меченых антител

МУ или МУК — методические указания

МУК 2.3.2.970-00 — Методические указания «Медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников»

МУК 4.1/4.2.588-96 — Методические указания «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям»

НД — нормативный документ

ОФС — общая фармакопейная статья

рДНК — рекомбинантная ДНК

ФС — фармакопейная статья

ФСП — фармакопейная статья предприятия

ФСГ — фолликулостимулирующий гормон.

«EROP-Mosow» — Endogenous Regulatory OligoPeptides (банк данных пептидов).

«PASS» — Prediction of Activity Spectra for Substances (банк данных пептидов).

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологический энциклопедический словарь. Изд. 2-е. Под ред. М.С. Гилярова. М.: Советская энциклопедия, 1989, с. 155—156.
2. *Потемкин В.В.* Эндокринология. Изд 2-е. М.: Мир, 1987, 430 с.
3. *Тепперман Дж., Тепперман Х.* Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М.: Мир, 1989, 653 с.
4. *Панков Ю.А.* *Вопр. мед. химии*, 1996, т. 42, 3, с. 179—184.
5. *Бородин О.В., Одуд Е.А., Тимофеев А.В. и др.* *Пробл. эндокринологии*, 2003, т. 49, № 5, с. 20—25.
6. *Панков Ю.А.* *Успехи физиол. наук*, 2003, т. 24, № 2, с. 3—20.
7. *Данковцева Е.Н., Затеищиков Д.А.* *Фарматека*, 2004, № 2, с. 61—66.
8. *Начала физиологии.* Изд. 3-е. Под ред. А.Д. Ноздрачева. С.-Пб.—М.—Краснодар: изд. Лань, 2004, 1088 с.
9. *Якубке Х.-Д., Ешкайт Х.* Аминокислоты. Пептиды. Белки. М.: Мир, 1985, 455 с.
10. *Папсуевич О.С., Чипенс Г.И., Михайлова С.В.* Нейрогипофизарные гормоны. Рига: Зинатне, 1986, 282 с.
11. Пептиды. Основные методы образования пептидных связей. Пер. с англ. Под ред. Э. Гросс, И. Майнхоффер. М.: Мир, 1983, 421 с.
12. *Шредер Э., Любке К.* Пептиды. Пер. с англ. М.: Мир., 1967 (I т.), 496 с.; 1969 (II т.), 723 с.
13. *Моргунова Т.В.* Современная инсулинотерапия. Учебное пособие. Уфа, 2000, 64 с.
14. *Сассон А.* Биотехнология: свершения и надежды. Пер. с англ. М.: Мир, 1987, 411 с.
15. *Панков Ю.А.* *Проблемы эндокринологии*, 1996, т. 42, № 2, с. 3—8.
16. *Горбунова Е.Ю., Кутаева М.А., Мустаева Л.Г. и др.* Биотехнология, 2001, 1, с. 65—75.
17. *Bodanszky M., Bodanszky A.* The Practice of Peptide Synthesis. 2-nd. Ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1994, 217 p.
18. *Lloid-Williams P., Albericio F., Giralt E.* Chemical Approaches to the Synthesis of peptides and proteins. New York: CRC Press. Boca Raton, 1997.
19. The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology. Eds. E. Gross, J. Meienhofer. N. Y.: Acad. Press., 1981, v. 1—4, 309 p.
20. Techniques in Protein Chemistry VI. Ed. J.W. Crabb. N. Y.: Acad. Press., 1995, part I, II.

21. *Беликов В.Г., Струсовская О.Г., Вергейчик Е.Н.* Пептиды (получение, исследование). Хим.-фармац. производство. Обзорная информация, М.: ГНИИЭМП, 1997, вып. 3, 34 с.
22. *Береговых В.В., Мешковский А.П.* Нормирование фармацевтического производства. Обеспечение качества продукции. М.: изд. Ремедиум, 2001, 527 с.
23. *Дейгин В.И.* Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2000.
24. *Мышкина Л.А., Коротаяев Г.К., Давидович Ю.А.* Биоорг. химия, 1989, т. 15, № 12, с. 1589—1601.
25. *Кин К.-М., Дуань М.-К., Донг Б. и др.* Биохимия, 2004, т. 69, № 8, с. 1133—1138.
26. *Глак Б., Пастернак Дж.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002, 589 с.
27. *Мертвецов Н.П.* Исследование белково-пептидных гормонов методами генной инженерии. Новосибирск: Наука, 1999, 175 с.
28. *Analytical Biotechnology.* Eds. G.M. Thomas, T. Schalkhamer. Basel-Boston-Berlin, 2002, 344 p.
29. *Пустошилова Н.М., Афиногенова Г.Н., Денисова Л.Я. и др.* В: Сб. научн. тр. НИКТИ БАВ. Бердск Новосибирской обл., 1999, с. 52—55.
30. *Сергеев Н.В., Глухова Н.С., Назимов И.В. и др.* Биоорг. химия, 2000, т. 26, № 7, с. 516—521.
31. *Балакин К.В.* Мат. 2-го Съезда общества биотехнологов России. Москва, 13—15 октября, 2004, с. 29.
32. *Ашмарин И.П., Обухова М.Ф.* Биохимия, 1986, т. 51, № 4, с. 531—545.
33. *Гомазков О.А.* Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М.: Наука, 1992, с. 160.
34. *Полов Е.М., Ахмедов Н.А., Махмудова Т.А.* Биоорг. химия, 1992, т. 18, № 12, с. 1454—1463.
35. *Ткачук В.А.* Введение в молекулярную эндокринологию. М.: изд. МГУ, 1983, с. 74—81.
36. *Замятнин А.А.* Биохимия, 2004, т. 69, № 11, с. 1565—1573.
37. *Гомазков О.А.* Физиологически активные пептиды. Спр. рук. М.: ИПГМ, 1995, 142 с.
38. *Миргородская О.А., Козьмин Ю.П., Титов М.И. и др.* Биоорг. химия, 2000, т. 26, № 9, с. 662—671.
39. *Гудашева Т.А., Сколдинов А.П.* Эксперим. и клинич. фармакология, 2003, т. 66, с. 15—19.
40. *Мартынова Н.Б., Филимонов Д.А., Поройков В.В.* Биоорг. химия, 2000, т. 26, № 5, с. 330—339.
41. *Замятнин А.А.* Тез. докл. Рос. симп. по химии и биологии пептидов. Москва, 17—19 ноября, 2003, с. 3.
42. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства (пособие для врачей). М.: Медицина, 1993, ч. 1, с. 622—623.
43. *Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.* Справочник биохимика. М.: Мир, 1991, 543 с.
44. *Затевахин И.И., Шеолов А.А., Аль-Сабунч О.А., Волков Р.Ю.* Применение октреотида в гастроэнтерологии (пособие для врачей). М.: Медицина, 2000, с. 28.
45. *Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В.* Биохимия человека. М.: Мир, т. 2, 414 с.
46. *Эндокринология. Практика.* Под ред. Н.М. Лавина. 1999, 1128 с.
47. *Ашмарин И.П.* Вопр. мед. химии, 1984, № 3, с. 2—7.
48. *Peptides.* Frontiers of Peptide Science. Proc. of the 15-th Amer. Symp. 14—19 June 1997. USA, Nashville, 1998, LXI, 871 p.
49. *Скляров Л.Ю., Сбитнева И.Н., Копина Н.А., Сидорович И.Г.* Биоорг. химия, 2000, т. 26, № 4, с. 273—284.
50. *Аляутдин Р.Н., Кройтер Й., Харкевич Д.А.* Эксперим. и клинич. фармакология, 2003, т. 66, № 2, с. 65—68.
51. *Мясоедов Н.Ф.* Тез. докл. Рос. симп. по химии и биологии пептидов. Москва, 17—19 ноября, 2003, с. 38.
52. *Гуревич К.Г.* Качественная клинич. практика, 2002, № 1, с. 2—5.
53. *Варпаховская И.* Ремедиум, 1999, № 9, с. 22—24.
54. *Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Катлинский А.В.* Ведомости Науч. центра эксперт. и гос. контроля лекарств. средств МЗ РФ, 2001, № 1, с. 16—23.
55. *Отраслевой стандарт «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения»* ОСТ 91500.05.001-00 от 01.03.2000, утв. Приказом Минздрава РФ 388 от 01.11.2001.
56. *Государственная Фармакопея СССР, XI изд.* М.: Медицина, 1987, вып. 1, 334 с.; 1990, вып. 2, 398 с.
57. *Обеспечение качества фармацевтических препаратов. Сб. рекомендаций и тематических материалов.* Женева: изд. ВОЗ, 1998, т. 1, с. 50—72.
58. *Комитет экспертов ВОЗ по спецификациям для фармацевтических препаратов.* Сер. Техн. докл. ВОЗ, № 823. Женева: Медицина, 1995, докл. 32, с. 64—65.
59. *British Pharmacopeia.* London, 2003, Version 7.0.
60. *European Pharmacopeia,* 4 ed., Version 4.8, Strasbourg, 2003.
61. *The United States Pharmacopeia,* Philadelphia, (USP 27-NF 22), 2004.
62. *ФС 42-3874-99 «Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов».*
63. *«Инструкция по контролю на механические включения инъекционных лекарственных средств»* РД 42-501-98, утвержденная Минздравом России 07.07.1998.
64. *«Инструкция по контролю на механические включения глазных капель»* РДИ 42-504-00, утвержденная 1.01.2000.
65. *Ковалева Е.Л., Багирова В.Л., Шаназаров К.С.* Фармация, 2002, № 4, с. 4—8.
66. *Ковалева Е.Л., Багирова В.Л., Шаназаров К.С.* Хим.-фармацевт. ж., 2003, т. 37, № 11, с. 37—39.
67. *Арзамасцев А.П., Садчиков Н.П., Лутцева Т.Ю. и др.* Там же, 2003, т. 37, № 10, с. 40—45.
68. *HPLC of Peptides and Proteins. Methods and Protocols.* Ed. M.-I. Aguilar, in *Molecular Biology*, v. 251. Humana Press, 2004, 413 p.
69. *Эпштейн Н.А.* Хим.-фармацевт. ж., 2004, т. 38, № 4, с. 40—56.
70. *Эпштейн Н.А.* Там же, 2003, т. 37, № 11, с. 45—50.
71. *Воейков В.Л., Решетов П.Д., Набиев И.Р. и др.* Физико-химические методы исследования биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов. ИБХ им. М.М. Шемякина. М.: Наука, 1992.
72. *Чиргадзе Ю.Н.* Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков. М.: Наука, 1965, 135 с.
73. *Каширин Д.М., Сибилев А.В., Белобородов В.Л., Дейгин В.И.* Хим.-фармацевт. ж., 2000, т. 34, № 11, с. 48—51.
74. *Свергуни В.И., Смирнов М.Б., Карельский В.Н. и др.* Там же, 1980, т. 14, № 6, с. 97—101.
75. *Дэвени Т., Гергей Я.* Аминокислоты, пептиды и белки. М.: Мир, 1976, 364 с.
76. *Практическая химия белка.* Под ред. А. Ларбре. М.: Мир, 1989, с. 621.
77. *Handbook of Thin-Layer Chromatography.* 3-rd. ed. Eds. Sherma J., Fied B. N. Y.—Basel: Marsel Dekker, 2003, 1016 p.
78. *Int. Conf. on Harmonisation of Technical Requirements for registration of Pharmaceutical for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Specification: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/ Biological Products Q6B.* 10 March 1999. Publ. in Federal Register, 64 FR, 18 august 1999, p. 44—928.
79. *Ляшенко А.А., Уваров В.Ю., Маркин С.С.* В кн.: Доказательная медицина и молекулярная терапия в клинике внутренних болезней. Сб. научн. тр. под ред. Л.И. Ольбинской, С.С. Маркина. М., 1999, с. 213—240.
80. *Бектимиров Т.А.* Мат. Всес. научн. конф., Ленинград, 14—16 января 1987. М.: изд. ЦНИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, 1987, с. 51—52.
81. *Drug Biotechnology regulation: Sci basis a practices.* Eds. H. Chiu Yuan-yuan, J.L. Gueriguan, M. Deccer. N. Y.—Basel—Hong Kong, 1991, v. XXIII, p. 563.
82. *Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов. Серия техн. докладов ВОЗ.* Женева: Медицина, 1998, № 872. Доклад 46, 120 с.