

Оригинальная статья/Research article

## Результаты оценки биоподобия препаратов РинЛиз® (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумалог® («Лилли Франс», Франция) с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах

А. Ю. Майоров<sup>1</sup>, И. А. Федотов<sup>2,3</sup>, Р. В. Драй<sup>4</sup>, О. И. Авдеева<sup>4</sup>, И. Е. Макаренко<sup>4\*</sup>

1 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России), 117036, Россия, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11

2 – ООО «БиоЭк», 197342, Россия, г. Санкт-Петербург, Красногвардейский переулок, д. 23, лит. Ж

3 – ООО «Научно-исследовательский центр Эко-безопасность», 191119, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Достоевского, д. 44

4 – ООО «ГЕРОФАРМ», 191144, Россия, г. Санкт-Петербург, административно-деловой квартал «Невская Ратуша», Дегтярный переулок, д. 11Б

\*Контактное лицо: Макаренко Игорь Евгеньевич. E-mail: igor.makarenko@gropharm.com

Статья получена: 25.02.2020. Статья принята к печати: 08.04.2020

### Резюме

**Введение.** Инсулин является наиболее действенным гипогликемическим средством, применяемым в настоящее время в клинической практике. По сравнению с рекомбинантным человеческим инсулином, инсулин лизпро демонстрирует профиль уровня глюкозы в крови, значительно более близкий к физиологическому. В программу клинических исследований (КИ) биоаналогов инсулина входят исследования фармакологии: фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД), и исследование клинической безопасности.

**Цель.** Продemonстрировать, что препарат РинЛиз®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумалог®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) имеют сопоставимые ФК и ФД профили в условиях эугликемического гиперинсулинемического клэмпа на здоровых добровольцах.

**Материалы и методы.** Исследование было проведено как двойное слепое перекрестное исследование ФК и ФД с участием 28 здоровых добровольцев (NCT03604575). Исследуемые препараты (ИП) вводили перед клэмпом в дозе 0,3 МЕ/кг однократно подкожно в область подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки. В течение исследования проводили регулярный забор крови, в образцах определяли количество инсулина лизпро методом иммуноферментного анализа. Результаты определения использованы для расчета ФК параметров и построения кривых «концентрация – время». На основании измерения гликемии корректировали скорость инфузии глюкозы. Эти данные использованы для расчета ФД параметров. Сопоставимость ИП считалась доказанной, если 90%-ые доверительные интервалы (ДИ) для отношения геометрических средних ФК параметров  $C_{ins, max}$  и  $AUC_{ins, 0-8}$  и 95%-ые ДИ для отношения геометрических средних ФД параметров  $GIR_{max}$  и  $AUC_{GIR, 0-8}$  находились в пределах 80–125 %. Статистическая обработка данных и оформление результатов проводилось с помощью пакетов программного обеспечения R 3.4.2.

**Результаты и обсуждения.** В ходе проведенного КИ сравнительной ФК и ФД препаратов РинЛиз® и Хумалог® установлено, что они имеют сопоставимые ФК и ФД профили. ДИ для логарифмически преобразованных отношений значений ФК параметров составили  $C_{ins, max}$  85,99–96,85 % и  $AUC_{ins, 0-8}$  90,58–97,28 %, для ФД параметров 95,64–118,94 для  $GIR_{max}$  и 96,5–121,36 для  $AUC_{GIR, 0-8}$ . Все ДИ соответствуют заданным границам 80–125 % для установления сопоставимости между препаратом РинЛиз® и оригинальным препаратом.

**Заключение.** Полученные данные демонстрируют биосимилярность инсулина РинЛиз® оригинальному препарату Хумалог® по ФК, ФД показателям и по параметрам безопасности.

**Ключевые слова:** инсулин лизпро, биосимиляр, клиническое исследование, фармакокинетика, фармакодинамика, сопоставимость, клэмпа.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** А. Ю. Майоров осуществлял научное руководство клиническим исследованием. И. А. Федотов являлся главным исследователем. Все авторы проводили интерпретацию результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Благодарность.** Спонсор данного клинического исследования – ООО «ГЕРОФАРМ».

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, принципами Надлежащей клинической практики и локальными регуляторными требованиями. Протокол исследования был одобрен Министерством здравоохранения РФ (разрешение № 483 от 04.09.2015), а также независимым этическим комитетом при клиническом центре.

**Для цитирования:** Майоров А. Ю., Федотов И. А., Драй Р. В., Авдеева О. И., Макаренко И. Е. Результаты оценки биоподобия препаратов РинЛиз® (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумалог® («Лилли Франс», Франция) с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020; 9(2): 124–131.

## Results of the Estimation of Biosimilarity of RinLiz® (LLC «GEROPHARM», Russia) and Humalog® (Lilly France, France) Using the Method of the Hyperinsulinemic Eulglycemic Clamp on Healthy Voluntary

Alexander Yu. Mayorov<sup>1</sup>, Ivan A. Fedotov<sup>2,3</sup>, Roman V. Drai<sup>4</sup>, Olga I. Avdeeva<sup>4</sup>, Igor E. Makarenko<sup>3\*</sup>

1 – Endocrinology Research Centre, 11, Dmitry Ulyanov str., Moscow, 117036, Russia

2 – LLC «BioEk», 23Zh, Krasnogvardeysky lane, Saint-Petersburg, 197342, Russia

3 – LLC «Eco-Safety Research Center», 44, Dostoevsky str., Saint-Petersburg, 191119, Russia

4 – LLC «GEROPHARM», 11B, Degtyarny side str., administrative and business district «Nevskaya Ratusha», 191144, Russia

\*Corresponding author: Igor E. Makarenko. E-mail: igor.makarenko@gropharm.com

Received: 25.02.2020. Accepted: 08.04.2020

© Майоров А. Ю., Федотов И. А., Драй Р. В., Авдеева О. И., Макаренко И. Е., 2020

© Mayorov A. Yu., Fedotov I. A., Drai R. V., Avdeeva O. I., Makarenko I. E., 2020

## Abstract

**Introduction.** Insulin is the most effective hypoglycemic agent currently used in the clinical practice. Compared with recombinant human insulin, insulin lispro have a blood glucose profile that is much closer to physiological. The clinical trials program of insulin bioassays includes pharmacology studies: pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD), and a clinical safety study.

**Aim.** To compare PK and PD of RinLiz® U100, solution for intravenous and subcutaneous administration (LLC «GEROFARM», Russia) and Humalog® U100, solution for intravenous and subcutaneous administration (Lilly France, France) in hyperinsulinemic euglycemic clamp.

**Materials and methods.** This was randomized double-blind, two-arm crossover study in 28 healthy volunteers (NCT03604575). The studied preparations were injected before the clamp with a dose of 0.3 U/kg once subcutaneously in the area of subcutaneous fat in the anterior abdominal wall. During the study, regular blood sampling was performed; the amount of insulin lispro was determined by ELISA in the samples. The results of the determination were used to calculate the PK parameters and construct the curves «concentration – time». Based on the measurement of glycemia, the glucose infusion rate was adjusted. These data were used to calculate the PD parameters. The comparability of the studied drugs was considered proven if 90 % confidence intervals (CI) for the ratio of geometric mean PK parameters  $C_{ins, max}$  and  $AUC_{ins, 0-8}$  and 95 % CI for the ratio of geometric mean PD parameters  $GIR_{max}$  and  $AUC_{GIR0-8,5}$  were in the range of 80–125 %. Statistical data processing and presentation of the results was carried out using software packages R 3.4.2.

**Results and discussion.** In the course of CI comparative PK and PD of RinLiz® and Humalog®, it was revealed that they have comparable PK and PD profiles. The CI for the logarithmically converted ratios of the values of the PK parameters was  $C_{ins, max}$  85.99–96.85 % and  $AUC_{ins, 0-8}$  90.58–97.28 %, the PD of the parameters were 95.64–118.94 for  $GIR_{max}$  and 96.5–121.36 for  $AUC_{GIR0-8,5}$ , all the CIs correspond to the set the boundaries of 80–125 % to establish comparability between RinLiz® and the original drug.

**Conclusion.** The results demonstrated the high degree of similarity of RinLiz® U100 and Humalog® U100 in terms of PK, PD profiles and safety.

**Keywords:** Insulin lispro, biosimilar, clinical trials, pharmacokinetics, pharmacodynamics, comparability, clamp.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Alexander. Yu. Mayorov supervised the clinical study. Ivan A. Fedotov was the main researcher. All authors interpreted the results. All authors participated in the discussion of the results and the writing of the text of the article.

**Acknowledgment.** The sponsor of this clinical trial is LLC «GEROPHARM».

The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association, the principles of Good Clinical Practice and local regulatory requirements. The study protocol was approved by the Ministry of Health of the Russian Federation (permission No. 483 dated 09/04/2015), as well as by an independent ethics committee at the clinical center.

**For citation:** Mayorov A. Yu., Fedotov I. A., Drai R. V., Avdeeva O. I., Makarenko I. E. Results of the estimation of biosimilarity of RinLiz® (LLC «GEROPHARM», Russia) and Humalog® (Lilly France, France) using the method of the hyperinsulinemic euglycemic clamp on healthy voluntary. *Drug development & registration*. 2020; 9(2): 124–131.

## ВВЕДЕНИЕ

Инсулин лизпро является первым выведенным на фармацевтический рынок аналогом инсулина [1, 2]. Молекулярная структура инсулина лизпро идентична таковой для человеческого инсулина за исключением позиций 28 и 29 β-цепи молекулы, где лизин и пролин расположены в обратном порядке. Обратное расположение лизина и пролина позволяет молекуле инсулина лизпро диссоциировать в два раза быстрее чем человеческий инсулин, что обеспечивает более быстрое проникновение в кровь и, как следствие, начало действия. Таким образом, инсулин лизпро имеет кривую снижения уровня глюкозы в крови практически идентичную профилю активности эндогенного инсулина, поступающего в кровоток после приема пищи. Благодаря этому у пациентов оптимизируется гликемический контроль и снижается риск развития гипогликемии, которая наблюдается при использовании инсулина лизпро на 30 % реже по сравнению с рекомбинантными инсулинами [1, 2].

В связи с востребованностью данного инсулина, представляется целесообразным уделение особого внимания доказательству сопоставимости его биосимиляров. Одним из завершающих этапов программы оценки сопоставимости является проведение клинического исследования методом гиперинсулинемического эугликемического клэмпа (ГЭК) [3]. Этот метод по-

зволяет измерять количество глюкозы, необходимое для поддержания эугликемии после экзогенного введения инсулина. Фармакологическое действие препарата инсулина в этом методе определяют за счет анализа профиля «время – действие», базируясь на скорости инфузии глюкозы (СИГ – GIR – glucose infusion rate) как суррогатном показателе фармакодинамики (ФД), а также на основании профилей экзогенной концентрации препарата инсулина в плазме в качестве фармакокинетических (ФК) показателей [4–6].

Отечественное производство позволяет увеличить надежность обеспечения больных препаратами, увеличить конкуренцию производителей и, в итоге, повысить доступность препаратов инсулина для людей, страдающих сахарным диабетом. В связи с этим фармацевтическая компания ООО «ГЕРОФАРМ» разработала биоаналог оригинального препарата Хумалог®. Биоаналог – это биологический лекарственный препарат, идентичный по параметрам качества, эффективности и безопасности с референтным биологическим лекарственным препаратом в такой же лекарственной форме и имеющий идентичный способ введения [7].

В соответствии с российским законодательством и международными нормами [8–15] программа доказательства биосимилярности включает: исследования физико-химических свойств, *in vitro* биологическую активность (включая сравнительное исследование аффинности к обоим инсулиновым рецепторам), а также

клинические исследования ФК, и ФД, и исследования клинической безопасности (иммуногенности).

Для изучения фармакологических свойств препаратов инсулина в соответствии с российскими и международными рекомендациями [8, 14, 15] используется метод ГЭК. Это связано с тем, что сравнительное изучение ФК/ФД свойств с помощью ГЭК обладает высокой чувствительностью для выявления возможных различий оригинального препарата и его биоаналога [8, 9].

## ЦЕЛЬ

Продemonстрировать, что препарат РинЛиз®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумалог®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) имеют сопоставимые ФК и ФД профили в условиях ГЭК на здоровых добровольцах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на базе клинического центра ООО «БиоЭк», Санкт-Петербург.

Дизайн исследования: исследование было проведено как двойное слепое перекрестное исследование ФК и ФД с участием 28 здоровых добровольцев (NCT03604575).

Исследование было проведено на добровольцах мужского пола в возрасте от 18 до 50 лет (включительно) европеоидной расы, с индексом массы тела 18,5–27 кг/м<sup>2</sup> с верифицированным диагнозом «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования. Основными критериями не включения были: эпизоды гипогликемии в анамнезе или наличие в семейном анамнезе случаев верифицированного диагноза сахарный диабет у ближайших родственников; уровень глюкозы в плазме натощак  $\geq 6,1$  ммоль/л; уровень HbA<sub>1c</sub>  $> 6\%$ ; уровень глюкозы в плазме  $\geq 7,8$  ммоль/л через 2 часа после нагрузки глюкозой в ходе перорального глюкозотолерантного теста.

До начала процедур исследования (включая скрининг) каждый доброволец подписал информированное согласие. Добровольцы, соответствующие критериям включения/не включения, были рандомизированы в исследование.

Каждый доброволец прошел 5 визитов с периодом «отмывки». Визит 1 – скрининг. Визит 2 – исследовательский период I – ГЭК с подкожной инъекцией исследуемого препарата (ИП) в дозе 0,3 МЕ/кг. Период «отмывки» – 14 дней после окончания первого ГЭК. Визит 3 – повторный сокращенный скрининг – оценка пригодности пациента для второго периода исследования. Визит 4 – исследовательский период II – ГЭК с подкожной инъекцией ИП в дозе 0,3 МЕ/кг. Визит 5 – заключительный визит безопасности.

Рандомизацию осуществляли непосредственно на базе клинического центра с помощью метода кон-

вертов. Первая группа (TR) получила во время первого периода тестируемый препарат, а во время второго периода – препарат сравнения. Вторая группа (RT) наоборот – во время первого периода получила препарат сравнения, а во время второго периода – тестируемый препарат. Очередность периодов была неизвестна для добровольца и исследователей.

Процедуру ГЭК проводили натощак с периодом голодания не менее 12 часов до инъекции ИП. Перед началом процедуры ГЭК осуществляли физикальный осмотр добровольцев для выявления отклонений в состоянии здоровья и забирали кровь на ФК, и определение базального уровня глюкозы в крови. При соответствии уровня глюкозы в крови целевому диапазону (4,4–5,6 ммоль/л) в течение 1 часа до инъекции ИП такой доброволец проходил процедуру ГЭК после однократной подкожной инъекции ИП в дозе 0,3 МЕ/кг в область подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки. При регистрации начала действия препарата начинали управляемую инфузию раствора глюкозы для поддержания целевого уровня глюкозы в плазме 4,4–5,6 ммоль/л (80–100 мг/дл). Контроль и коррекцию СИГ производили каждые 5 минут в течение всего исследования.

**Фармакокинетика.** Для получения первичных данных по ФК отбор крови для определения концентрации инсулина лизпро в крови производили за 60, 30 минут непосредственно до введения ИП и после введения ИП по следующей схеме: до точки 3 часа отбор осуществляли каждые 15 минут, до точки 6 часов каждые 30 минут и до точки 8 часов (окончания ГЭК) каждый час. Общая продолжительность наблюдения составила 8 часов.

Количественное определение инсулина лизпро проводили методом ИФА, предполагающим использование технологии двойного измерения, включающей:

- 1) неспецифическое детектирование суммарного уровня инсулина лизпро и инсулина человеческого с помощью коммерчески доступных ИФА наборов Mercodia Isoinsulin ELISA;
- 2) специфическое детектирование инсулина человеческого с помощью коммерчески доступных ИФА наборов Mercodia Insulin ELISA.

Определение уровня С-пептида также проводили методом ИФА, используя коммерчески доступные наборы Mercodia C-peptide ELISA.

Предварительно аналитическая методика анализа была валидирована по следующим тестам: селективность, калибровочный график, правильность и прецизионность внутри и между испытаниями, внутрисерийная правильность образцов контроля качества, межсерийная прецизионность и правильность образцов контроля качества, допустимость разведения, параллелизм, специфичность, стабильность растворов.

Для сравнительной оценки ФК профилей ИП были проанализированы конечные точки. Первичные точки: суммарная площадь под кривой (AUC) «концентрация

исследуемого инсулина – время» в интервале времени от 0 до 8 ч ( $AUC_{ins, 0-8}$ ), максимальная концентрация инсулина в крови за период наблюдения ( $C_{ins, max}$ ). Вторичные точки:  $AUC_{ins, 0-2}$ ,  $AUC_{ins, 0-\infty}$ , время достижения максимальной концентрации инсулина ( $t_{max}$ ), период полувыведения инсулина ( $t_{1/2}$ ).

**Фармакодинамика.** Для получения первичных данных по ФД использовали определение СИГ (GIR). В свою очередь, уровень глюкозы в крови измеряли каждые 5 минут с помощью высокоточного глюкометра StatStrip производства Nova Biomedical [16, 17].

Оценивали: первичные конечные точки – суммарная площадь под кривой «скорость инфузии глюкозы – время» в интервале времени от 0 до 8,5 ч ( $AUC_{GIR 0-8,5}$ ) и максимальная СИГ за период исследования ( $GIR_{max}$ ), и вторичные точки: частичные площади под кривыми  $AUC_{GIR 0-1}$ ,  $AUC_{GIR 0-2}$ , время достижения максимальной СИГ ( $tGIR_{max}$ ), время между введением ИП и началом инфузии глюкозы ( $tGIR_{lag}$ ).

Для подтверждения факта угнетения выброса эндогенного инсулина на фоне подкожного введения ИП осуществляли отбор образцов крови на уровень С-пептида в плазме до введения ИП и далее каждые 2 часа.

**Безопасность.** Проводили оценку частоты и тяжести возникновения нежелательных явлений (НЯ), отклонения от нормы жизненно важных показателей (ЖВП): артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС), частоты дыхательных движений (ЧДД), температуры тела, частоты возникновения местных реакций в месте инъекции, уровня калия в крови, отклонения от нормы лабораторных показателей и ЭКГ.

**Методы статистического анализа данных.** Статистическая обработка данных и оформление результатов проведено с помощью пакетов программного обеспечения R 3.4.2. Площадь под кривой рассчитывали методом трапеций.

Дисперсионный анализ (ANOVA) был проведен для логарифмически преобразованных первичных ФК ( $C_{ins, max}$  и  $AUC_{ins, 0-8}$ ) и ФД ( $GIR_{max}$  и  $AUC_{GIR 0-8,5}$ ) параметров.

Вывод о биоподобии сравниваемых препаратов был сделан с использованием подхода, основанного на оценке 90%-ых и 95%-ых доверительных интервалов (ДИ) для отношений средних геометрических значений соответственно ФК и ФД параметров ИП. Препараты биоподобны, если границы оцененных ДИ интервалов находятся в пределах 80–125% [9, 14, 15].

Для первичных и вторичных ФК и ФД параметров, а также для показателей безопасности были рассчитаны и зарегистрированы показатели описательной статистики.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После прохождения скрининга в исследование было включено 28 здоровых добровольцев, соответствующих критериям включения/невключения. Характеристика группы представлена в таблице 1. Статистически значимых различий в демографических и антропометрических данных между рандомизированными группами на этапе включения выявлено не было. В анализ данных были включены данные всех добровольцев.

**Таблица 1.** Демографическая и антропометрическая информация о субъектах (среднее  $\pm$  стандартное отклонение)

**Table 1.** Demographic and anthropometric subject information (mean  $\pm$  standard deviation)

Показатель	Группа TR (N = 14)	Группа RT (N = 14)	Всего (N = 28)	p-value
Масса тела (кг)	78,71 $\pm$ 7,42	75,66 $\pm$ 6,16	77,18 $\pm$ 6,87	>0,05 <sup>a</sup>
Рост (см)	180,43 $\pm$ 8,42	176,29 $\pm$ 5,36	178,36 $\pm$ 7,24	>0,05 <sup>b</sup>
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	24,17 $\pm$ 1,44	24,33 $\pm$ 1,58	24,25 $\pm$ 1,49	>0,05 <sup>a</sup>
Возраст (лет)	23,29 $\pm$ 2,33	24,57 $\pm$ 3,63	23,93 $\pm$ 3,07	>0,05 <sup>b</sup>

**Примечания:** <sup>a</sup>t-критерий Стьюдента; <sup>b</sup>U-критерий Манна – Уитни.

**Notes:** <sup>a</sup>Student's t-test; <sup>b</sup>Mann-Whitney U-test.

Динамика изменений уровня С-пептида для подтверждения подавления выработки эндогенного инсулина в ответ на внутривенное введение раствора глюкозы была проанализирована для каждой группы в оба периода ГЭК (таблица 2).

**Таблица 2.** Динамики уровня С-пептида [рМ, медиана (межкварт. интервал)]

**Table 2.** The dynamics of the level of C-peptide [pM, median (interquart. Interval)]

Период	Группа	0 мин	120 мин	240 мин	360 мин	480 мин
1	TR	339 [266; 401]	404 [334; 487]	519 [294; 765]	482 [358; 744]	308,5 [266; 458]
	RT	410 [396; 433]	475 [196; 643]	585 [236; 711]	415 [327; 551]	390 [304; 449]
Сравнение групп TR – RT: p-value (тест Манна – Уитни)		0,19	0,88	0,92	0,39	0,64
2	TR	385 [302; 439]	344 [244; 524]	509,5 [306; 567]	450 [289; 499,5]	323 [274; 384,5]
	RT	392,5 [284; 466]	418 [336; 575]	613 [511; 666]	551 [459; 665]	385 [298; 512]
Сравнение групп TR – RT: p-value (тест Манна – Уитни)		0,94	0,39	0,13	0,03	0,24

Результаты измерения уровня С-пептида, полученные до введения ИП и после введения во всех временных точках, предусмотренных протоколом, были сопоставимы между исследуемыми группами добровольцев, за исключением точки 360 мин во время 2-го периода ( $p\text{-value} = 0,03$ , медиана составила 450 [289; 499,5] в группе TR и 551 [459; 665] в группе RT). Оценка полученных результатов позволила предположить клиническую незначимость выявленных межгрупповых и внутригрупповых различий, так как показатели обеих групп во всех временных точках в оба периода ГЭК находились в пределах нормальных значений 298–2350 pM, кроме того индивидуальные значения добровольцев не превысили верхней границы нормы, что позволило сделать заключение об отсутствии выработки эндогенного инсулина в ответ на внутривенное введение раствора глюкозы, тем самым подтверждая удовлетворительное качество проведения ГЭК.

На рисунке 1 и в таблице 3 представлены усредненные ФК кривые «концентрация – время» тестируемого и референтного препарата в плазме крови добровольцев.

Отношения средних значений логарифмически преобразованных основных ФК параметров ИП,  $C_{ins\_max}$  и  $AUC_{ins\_0-8}$  составили 91,3 [85,99–96,85] % и 93,9 [90,58–97,28] %, соответственно. Оба параметра находятся в пределах допустимых границ 80–125 %, что говорит о биосимильности ИП по данному показателю.

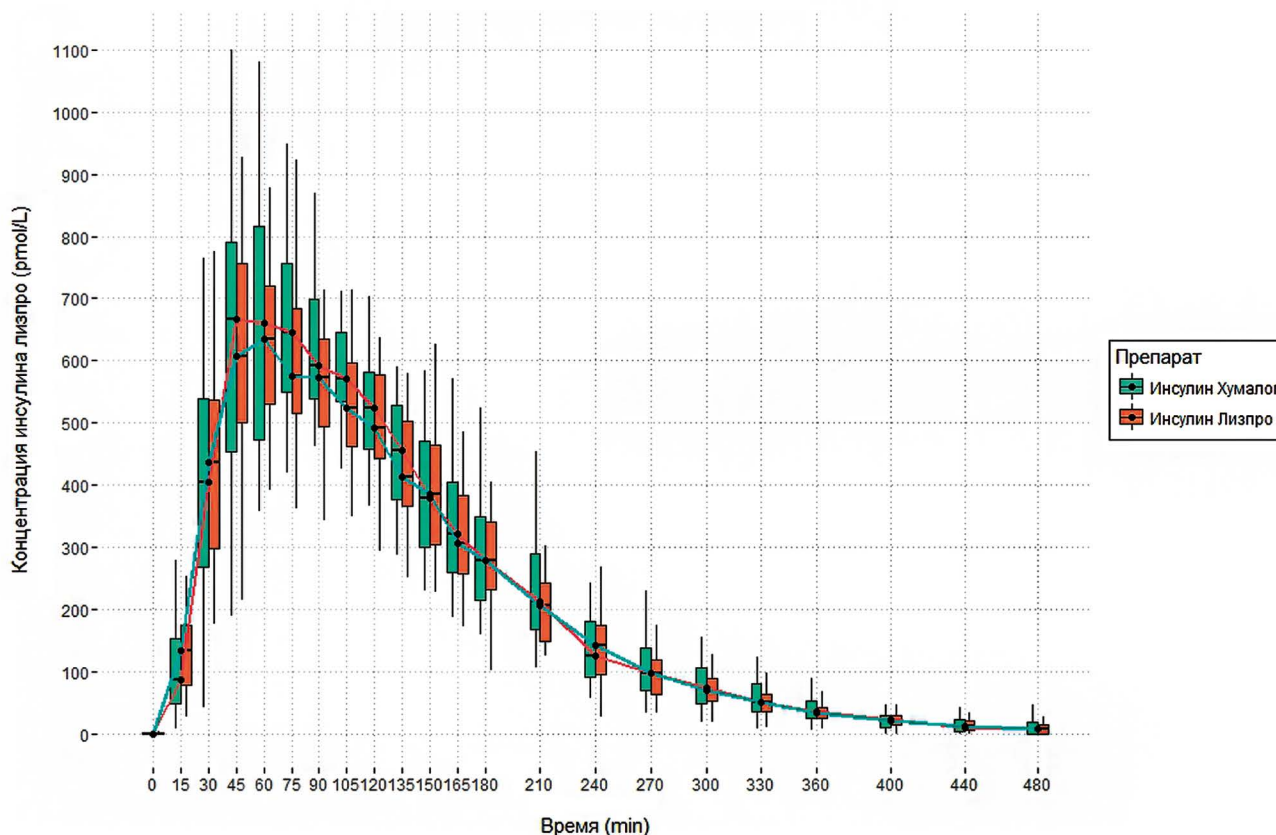
На рисунке 2 и в таблице 4 представлены усредненные ФД кривые «скорость инфузии глюкозы – время».

В ходе оценки ФД показателей была отмечена сопоставимость параметров действия тестируемого и референтного препаратов.

Отношения средних значений логарифмически преобразованных основных ФД параметров ИП,  $GIR_{max}$  и  $AUC_{GIR\ 0-8,5}$  составили 1,067 [95,64–118,94] % и 1,082 [96,5–121,36] % соответственно. Оба параметра находятся в пределах допустимых границ 80–125 %, что говорит о биосимильности ИП по данному показателю.

В отношении вторичных ФД показателей также были получены аналогичные результаты. Так, время между введением ИП и началом инфузии глюкозы ( $tGIR_{lag}$ )

## График концентраций



**Рисунок 1.** Усредненные фармакокинетические кривые «концентрация – время» тестируемого препарата РинЛиз® (Инсулин Лизпро) и препарата сравнения Хумалог®

**Figure 1.** Averaged pharmacodynamic curves «concentration – time» of the test drug RinLiz® (Insulin Lizpro) and the comparison drug Humalog®

**Таблица 3. Фармакокинетические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности**

**Table 3. Pharmacokinetic parameters of the studied drugs, the results of the equivalence assessment**

	РинЛиз® (Т) <sup>а</sup> n = 28	Хумалог® (R) <sup>а</sup> n = 28	Отношение Т/R [90 % ДИ] <sup>б</sup>
C <sub>ins, max</sub> , пмоль/л	678,43 ± 141,83	748,61 ± 182,61	91,3 [85,99–96,85]
AUC <sub>ins, 0-8ч</sub> (пмоль/л) × мин	104802,59 ± 18271,68	111029,38 ± 15312,75	93,9 [90,58–97,28]
AUC <sub>ins, 0-2ч</sub> (пмоль/л) × мин	57241,88 ± 11421,43	60001,07 ± 14334,43	
AUC <sub>0-8ч</sub> (пмоль/л) × мин	105900,22 ± 18269,16	112233,13 ± 15614,12	
t <sub>max</sub> , мин	67,5 ± 26,61	75,54 ± 26,29	
t <sub>1/2</sub> , мин	58,21 ± 12,08	56,95 ± 19,31	

**Примечания:** <sup>а</sup> результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение; <sup>б</sup> представлено отношение геометрических средних, для отношения ФК параметров приведен 90%-ый ДИ, для ФД – 95%-ый ДИ; с – результаты сравнения с помощью парного двустороннего t-критерия Стьюдента, для показателей t<sub>max</sub> и t<sub>1/2</sub> применялся парный двусторонний критерий Вилкоксона; различия между группами считали достоверными при p-value < 0,05.

**Notes.** <sup>а</sup> the results are presented as mean ± standard deviation; <sup>б</sup> the ratio of geometric means is presented, for the ratio of the FC parameters, a 90 % CI is given, for a FD – 95 % CI; c – comparison results using a paired two-tailed student t-test, for the indices t<sub>max</sub> and t<sub>1/2</sub>, a paired two-sided Wilcoxon test was used; differences between groups were considered significant at p-value < 0.05.

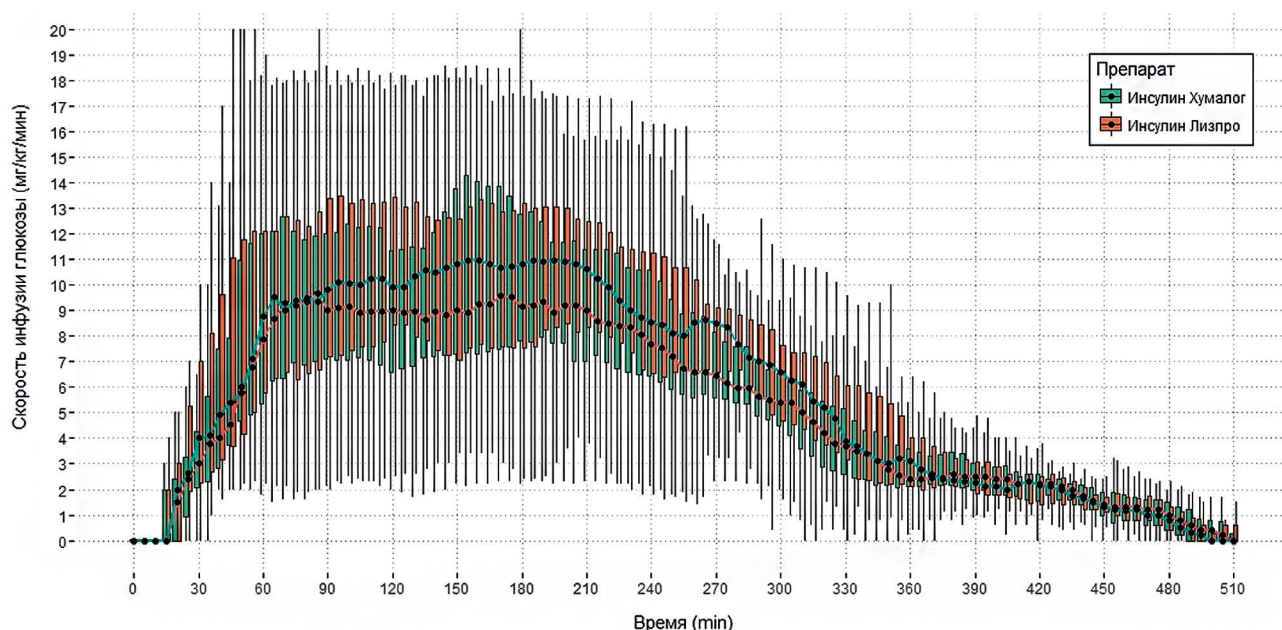
составило 18,75 ± 7,41 и 20,71 ± 9,50 минут соответственно. Также сопоставимыми были время достижения максимальной СИГ (tGIR<sub>max</sub>) – т. е. время наступления максимального эффекта, изучаемых инсулинов и максимальная СИГ (GIR<sub>max</sub>) – собственно максимальный эффект. tGIR<sub>max</sub> составил 121,96 ± 61,32 и 135,54 ± 57,74 мин, GIR<sub>max</sub> – 12,62 ± 4,61 и 12,09 ± 4,58 мг/кг/мин соответственно для тестируемого препарата и препарата сравнения.

В ходе проведения исследования серьезных нежелательных явлений не наблюдалось. Выявлено одно нежелательное явление, которое было классифицировано с помощью словаря MedDRA в группу нарушений «Инфекции неясной этиологии» (код

10021879). Нежелательное явление было оценено врачом-исследователем как легкой степени тяжести, завершилось полным выздоровлением. Связи нежелательного явления с препаратом исследователем установлено не было.

Отклонения в показателях клинического анализа крови [скорость оседания эритроцитов (СОЭ), количество лейкоцитов, нейтрофилы, лимфоциты] и жизненно важных показателей (тахикардия и повышение температуры тела) отмечены у одного добровольца и были обусловлены выявленным НЯ.

Уровень ионов калия в крови оставался стабильным в течение исследования. Местных реакций на введение ИП не обнаружено.



**Рисунок 2. Усредненные фармакодинамические кривые «скорость инфузии глюкозы – время» тестируемого препарата РинЛиз® (Инсулин Лизпро) и препарата сравнения Хумалог®**

**Figure 2. Averaged pharmacodynamic curves «glucose infusion rate – time» of the tested drug RinLiz® (Insulin Lizpro) and the comparison drug Humalog®**

**Таблица 4. Фармакодинамические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности**

**Table 4. Pharmacodynamic parameters of the studied drugs, the results of the equivalence assessment**

	РинЛиз® (Т) <sup>а</sup> n = 28	Хумалог® (R) <sup>а</sup> n = 28	Отношение Т/R [95 % ДИ] <sup>б</sup>
GIR <sub>max</sub> , мг/кг/мин	12,62 ± 4,61	12,09 ± 4,58	1,067 [95,64–118,94]
AUC <sub>GIR 0-8,5</sub> , мг/кг	3076,91 ± 1086,49	2850,64 ± 996,67	1,082 [96,5–121,36]
AUC <sub>GIR 0-17</sub> , мг/кг	259,3 ± 148,3	226,81 ± 126,15	
AUC <sub>GIR 0-27</sub> , мг/кг	868,17 ± 387,11	790,52 ± 372,72	
tGIR <sub>max</sub> , мин	121,96 ± 61,32	135,54 ± 57,74	
tGIR <sub>lag</sub> , мин	18,75 ± 7,41	20,71 ± 9,50	

**Примечания:** <sup>а</sup> результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение; <sup>б</sup> представлено отношение геометрических средних, для отношения ФК параметров приведен 90%-ый ДИ, для ФД – 95%-ый ДИ; с – результаты сравнения с помощью парного двустороннего t-критерия Стьюдента, для показателей t<sub>max</sub> и t<sub>1/2</sub> применялся парный двусторонний критерий Вилкоксона; различия между группами считали достоверными при p-value < 0,05.

**Notes.** <sup>a</sup> the results are presented as mean ± standard deviation; <sup>b</sup> the ratio of geometric means is presented, for the ratio of the FC parameters, a 90 % CI is given, for a FD – 95 % CI; c – comparison results using a paired two-tailed student t-test, for the indices t<sub>max</sub> and t<sub>1/2</sub>, a paired two-sided Wilcoxon test was used; differences between groups were considered significant at p-value < 0.05.

ГЭК – классический метод изучения фармакологии оригинальных и биоаналогичных препаратов инсулина [14, 18]. При данном исследовании на одной популяции одновременно анализируют зависимости «концентрация препарата – время» (ФК) и «скорость инфузии глюкозы – время» (эффект – время) (ФД), что позволяет сделать вывод о подобии или различии двух изучаемых препаратов инсулина.

При этом, стоит отметить, что СИГ – общепринятый суррогатный маркер, который непосредственно измеряет эффект препарата инсулина, заключающийся в утилизации экзогенно поступившей глюкозы [4–6, 19, 20]. Данный метод является высокочувствительным к возможным отличиям между препаратами. Прогностическая ценность определения СИГ на потенциальные клинические различия инсулинотерапии является выше, чем у гликированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) [8, 9, 14].

В ходе проведенного клинического исследования были оценены ФК и ФД показатели тестируемого препарата РинЛиз® в сравнительном аспекте с оригинальным препаратом Хумалог® в условиях ГЭК на здоровых добровольцах.

В соответствии с регуляторными требованиями [8, 9, 14, 15] статистическая оценка эквивалентности препаратов была проведена на основании соответствия 90%-ого ДИ отношения первичных ФК-конечных точек и 95%-ых ДИ отношения первичных ФД-параметров тестируемого препарата к препарату сравнения заранее определенным границам эквивалентности. Границами эквивалентности служили рекомендованные европейскими и отечественными требованиями к изучению биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный инсулин и аналоги инсулина 80–125 %. По результатам определения было установлено, что отношения средних значений логарифмически преобразованных основных ФК параметров ИП, C<sub>ins. max</sub> и AUC<sub>ins. 0-8</sub> составили 91,3 [85,99–96,85] % и 93,9 [90,58–97,28] %

соответственно. Для основных ФД показателей, GIR<sub>max</sub> и AUC<sub>GIR 0-8,5</sub> составили 1,067 [95,64–118,94] % и 1,082 [96,5–121,36] % соответственно. Нахождение данных внутри допустимых интервалов 80–125 % свидетельствует о сопоставимости ФК и ФД профилей ИП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании проведенного двойного слепого, рандомизированного, сравнительного, перекрестного исследования ФК и ФД препаратов РинЛиз®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумалог®, раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) с использованием метода ГЭК на здоровых добровольцах тестируемый препарат РинЛиз® и препарат сравнения Хумалог® являются эквивалентными.

## ЛИТЕРАТУРА

- Campbell R. K., Campbell L. K., White J. R., Insulin lispro: its role in the treatment of diabetes mellitus. *Ann Pharmacother.* 1996; 30(11): 1263–1271.
- White J. R., Campbell R. K., Hirsch I. Insulin analogues: new agents for improving glycemic control. *Postgrad Med.* 1997; 101(2): 58–70.
- DeFronzo R. A., Tobin J. D., Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979; 237(3): E214–E223.
- Heinemann L., Anderson J. H. Measurement of insulin absorption and insulin action. *Diabetes Technol Ther.* 2004; 6(5): 698–718.
- Heinemann L. Overcoming obstacles: new management options. *Eur J Endocrinol.* 2004; 151: T23–T30.
- Roden M. Blocking Fatty Acids' Mystery Tour: A Therapy for Metabolic Syndrome? *Cell Metabolism.* 2007: 89–91.
- Федеральный закон № 61 «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 (ред. от 29.12.2015). Available at: <http://www.pravo.gov.ru>.
- Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues. 26 February 2015, EMEA/CHMP/BMWP/32775/2005\_Rev. 1.

9. Guideline on similar biological medicinal products (CHMP/437/04 Rev. 1).
10. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev. 1).
11. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (EMA/CHMP/ 89249/2004).
12. Guideline on the investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98).
13. Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins (EMA/CHMP/BMWP/14327/2006).
14. Решение № 89 от 3 ноября 2016 года «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза», глава 15.7 «Доклиническая и клиническая разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный инсулин и аналоги инсулина».
15. Разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции генно-инженерный инсулин человека или аналоги инсулина человека // Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том IV. – М.: Полиграф-плюс. 2014: 172. Глава 3. «Разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции генно-инженерный инсулин человека или аналоги инсулина человека».
16. Rabiee A., Magruder J. T., Grant C., Salas-Carrillo R., Gillette A., DuBois J., Shannon R. P., Andersen D. K., Elahi D. Accuracy and reliability of the Nova StatStrip® glucose meter for real-time blood glucose determinations during glucose clamp studies. *J Diabetes Sci Technol*. 2010; 4(5): 1195–11201.
17. Lindquist K. A., Chow K., West A., Pyle L., Isbell T. S., Cree-Green M., Nadeau K. J. The StatStrip Glucose Monitor Is Suitable for Use During Hyperinsulinemic Euglycemic Clamps in a Pediatric Population. *Diabetes Technol Ther*. 2014; 16(5):298–302.
18. Linnebjerg H., Lam E. C., Seger M.E., Coutant D., Chua L., Chong C. L., Ferreira M. M., Soon D., Zhang X. Comparison of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of LY2963016 Insulin Glargine and EU- and US-Approved Versions of Lantus Insulin Glargine in Healthy Subjects: Three Randomized Euglycemic Clamp Studies. *Diabetes Care*. 2015; 38: 2226–2233.
19. Heise T., Zijlstra E., Nosek L., Heckermann S., Plum-Mörschel L., Forst T. Euglycaemic glucose clamp: what it can and cannot do, and how to do it. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2016; 18(10): 962–972. Doi: 10.1111/dom.12703. Epub 2016 Jul 13.
20. Singh B., Saxena A. Surrogate markers of insulin resistance. *World J Diabetes*. 2010; 1(2): 36–47.
9. Guideline on similar biological medicinal products (CHMP/437/04 Rev. 1).
10. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev. 1).
11. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (EMA/CHMP/ 89249/2004).
12. Guideline on the investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98).
13. Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins (EMA/CHMP/BMWP/14327/2006).
14. Decision No. 89 of November 3, 2016 «On approval of the rules for conducting research on biological drugs of the Eurasian Economic Union», chapter 15.7 «Preclinical and clinical development of bio-analogous (biosimilar) drugs containing recombinant insulin and insulin analogues» (in Russ.).
15. Development of bio-analogous (biosimilar) medicines containing human engineering insulin or analogues of human insulin as a pharmaceutical substance // Guidelines for the Expertise of Medicines. Volume IV – M.: Polygraph-plus. 2014: 172. Chapter 3. «Development of bio-analogous (biosimilar) drugs containing, as a pharmaceutical substance, genetically engineered human insulin or analogues of human insulin» (in Russ.).
16. Rabiee A., Magruder J. T., Grant C., Salas-Carrillo R., Gillette A., DuBois J., Shannon R. P., Andersen D. K., Elahi D. Accuracy and reliability of the Nova StatStrip® glucose meter for real-time blood glucose determinations during glucose clamp studies. *J Diabetes Sci Technol*. 2010; 4(5): 1195–11201.
17. Lindquist K. A., Chow K., West A., Pyle L., Isbell T. S., Cree-Green M., Nadeau K. J. The StatStrip Glucose Monitor Is Suitable for Use During Hyperinsulinemic Euglycemic Clamps in a Pediatric Population. *Diabetes Technol Ther*. 2014; 16(5):298–302.
18. Linnebjerg H., Lam E. C., Seger M.E., Coutant D., Chua L., Chong C. L., Ferreira M. M., Soon D., Zhang X. Comparison of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of LY2963016 Insulin Glargine and EU- and US-Approved Versions of Lantus Insulin Glargine in Healthy Subjects: Three Randomized Euglycemic Clamp Studies. *Diabetes Care*. 2015; 38: 2226–2233.
19. Heise T., Zijlstra E., Nosek L., Heckermann S., Plum-Mörschel L., Forst T. Euglycaemic glucose clamp: what it can and cannot do, and how to do it. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2016; 18(10): 962–972. Doi: 10.1111/dom.12703. Epub 2016 Jul 13.
20. Singh B., Saxena A. Surrogate markers of insulin resistance. *World J Diabetes*. 2010; 1(2): 36–47.

## REFERENCES

1. Campbell R. K., Campbell L. K., White J. R., Insulin lispro: its role in the treatment of diabetes mellitus. *Ann Pharmacother*. 1996; 30(11): 1263–1271.
2. White J. R., Campbell R. K., Hirsch I. Insulin analogues: new agents for improving glycemic control. *Postgrad Med*. 1997; 101(2): 58–70.
3. DeFronzo R. A., Tobin J. D., Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979; 237(3): E214–E223.
4. Heinemann L., Anderson J. H. Measurement of insulin absorption and insulin action. *Diabetes Technol Ther*. 2004; 6(5): 698–718.
5. Heinemann L. Overcoming obstacles: new management options. *Eur J Endocrinol*. 2004; 151: T23–T30.
6. Roden M. Blocking Fatty Acids' Mystery Tour: A Therapy for Metabolic Syndrome? *Cell Metabolism*. 2007: 89–91.
7. Federal Law No. 61 «On the Circulation of Medicines» dated April 12, 2010 (as amended on December 29, 2015). Available at: <http://www.pravo.gov.ru> (in Russ.).
8. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues// 26 February 2015, EMA/CHMP/BMWP/32775/2005\_Rev. 1.