

Подходы к фармацевтическому анализу современных пептидных и олигонуклеотидных препаратов на примере инновационного препарата на основе малой интерферирующей РНК для лечения бронхиальной астмы

Л. М. Красных¹, В. В. Смирнов^{1,2,*}, Г. В. Раменская¹, Г. Ф. Василенко¹, И. П. Шиловский², М. Р. Хаитов²

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

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России Каширское шоссе, д. 24, Москва, 115478, Российская Федерация

Используемые методы для контроля качества лекарственных средств пептидной природы зависят от уровня развития аналитической и биоорганической химии и развития приборной базы. Анализ подлинности пептида представляет собой непростую задачу и во многом зависит от сложности его структуры. Не существует однозначного и достаточного простого теста, за исключением ЯМР, который, однако, является дорогостоящим и длительным методом со сложной интерпретацией данных. Причем этот метод не позволяет однозначно установить чистоту и формулу пептида (аминокислотный состав, последовательность, хиральность аминокислотных остатков). По этой причине нередко используется комбинация методов, включая аминокислотный анализ, ТСХ/ВЭЖХ и масс-спектрометрию и, более редко, секвенирование. В мировой практике для исследования пептидов наиболее распространен метод ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрическим, преимущественно tandemным (ВЭЖХ-МС/МС) детектированием. Для установления аминокислотной последовательности линейных пептидов описано применение различных ферментов с последующей идентификацией продуктов протеолиза масс-спектрометрически. В данной статье представлены подходы к разработке методик определения подлинности и чистоты инновационного лекарственного препарата пептидной природы на основе малой интерферирующей РНК с целью стандартизации и контроля качества на производстве.

Ключевые слова: малая интерферирующая РНК (миРНК); бронхиальная астма; пептид; стандартизация; ТСХ; ВЭЖХ-МС/МС; MALDI-TOF

Для цитирования: Красных ЛМ, Смирнов ВВ, Раменская ГВ, Василенко ГФ, Шиловский ИП, Хаитов МР. Подходы к фармацевтическому анализу современных пептидных и олигонуклеотидных препаратов на примере инновационного препарата на основе малой интерферирующей РНК для лечения бронхиальной астмы. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(3):184–190. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-184-190>

* Контактное лицо: Смирнов Валерий Валерьевич; vall@mail.mipt.ru

Approaches to Pharmaceutical Analysis of Modern Peptide and Oligonucleotide Products as Illustrated by a Small Interfering RNA-Based Novel Therapeutic for the Treatment of Bronchial Asthma

L. M. Krasnykh¹, V. V. Smirnov^{1,2,*}, G. V. Ramenskaya¹, G. F. Vasilenko¹, I. P. Shilovsky², M. R. Haitov²

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

² National Research Centre «Institute of Immunology» of the Federal Medical-Biological Agency of Russia 24 Kashirskoe highway, Moscow 115478, Russian Federation

Methods used to control the quality of peptide products depend on the level of development of analytical and bioorganic chemistry, and the level of instrumentation. Peptide identification is a difficult task and largely depends on the complexity of its structure. There does not exist a comprehensive and simple test, except for NMR, which, however, is rather expensive and time-consuming and involves complex data interpretations. Moreover, it does not allow for unambiguous determination of the peptide purity and formula (amino acid composition, sequence, chirality of amino acid residues). For this reason, a combination of methods is often used, including amino acid analysis, TLC/HPLC and mass spectrometry, and, less frequently, sequencing. Current international practice of peptide analysis is to use HPLC in combination with mass spectrometric, mainly tandem (HPLC-MS/MS), detection. According to literature sources the amino acid sequence of linear peptides can be analysed using various enzymes and subsequent identification of proteolysis products by mass spectrometry. This article presents ap-

proaches to the development of test methods for analysis of purity and identification testing of a small interfering RNA-based novel medicinal product, which will help standardise and control the quality of the production process.

Key words: small interfering RNA (siRNA); bronchial asthma; peptide; standardisation; TLC; HPLC-MS/MS; MALDI-TOF

For citation: Krasnykh LM, Smirnov VV, Ramenskaya GV, Vasilenko GF, Shilovsky IP, Haitov MR. Approaches to pharmaceutical analysis of modern peptide and oligonucleotide products as illustrated by a small interfering RNA-based novel therapeutic for the treatment of bronchial asthma. *BIОpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIОpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(3):184–190. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-184-190>

Corresponding author: Valery V. Smirnov; vall@mail.mipt.ru

Одним из наиболее перспективных подходов для лечения аллергических заболеваний, в том числе бронхиальной астмы, считается РНК-интерференция. Под интерференцией РНК понимают естественный механизм регуляции экспрессии генов в клетке с участием фермента Dicer и молекул малых интерферирующих РНК (миРНК) [1]. Как было изначально установлено, этот механизм выполняет важную функцию в клетках растений и животных, а именно — защищает их от генетически чужеродных агентов, таких как вирусы и транспозоны [2]. Методы, основанные на использовании механизмов интерференции РНК, входят сегодня в число основных методов молекулярной биологии, используемых для регуляции активности генов. Суть феномена интерференции РНК заключается в подавлении экспрессии гена на стадии транскрипции или трансляции при активном участии молекул миРНК. Механизм интерференции РНК заключается в том, что при введении в клетку короткой двухцепочечной РНК (дцРНК) происходит специфическое разрушение гомологичной мРНК.

К настоящему времени показана принципиальная возможность использования технологии РНК-интерференции для подавления генов, участвующих в патогенезе аллергопатологий, как в экспериментах *in vitro* [3], так и *in vivo* [4].

Главными преимуществами использования препаратов на основе миРНК являются высокая специфичность подавления экспрессии генов, вовлеченных в патогенез, а также высокая эффективность их подавления (до 90 %), так как вводимые миРНК способны действовать в крайне низких концентрациях. Кроме того, привлекательной является сравнительная дешевизна методики. Синтез олигонуклеотидов в настоящее время вполне доступен и прост в масштабировании. Этот факт дает препаратам, созданным на базе миРНК, важное конкурентное преимущество, например, по сравнению с моноклональными антителами.

Открытие РНК-интерференции [5] как способа регуляции генной экспрессии дало мощный толчок для исследователей, а также фармацевтическим компаниям к разработке генотерапевтических препаратов на основе молекул миРНК. Подобные препараты проявляют свою биологическую активность после их проникновения в цитоплазму или ядро клетки. Однако самопроизвольно нуклеиновые кислоты не способны преодолевать цитоплазматические и ядерные барьеры. Поэтому главным препятствием для внедрения подобных препаратов в медицинскую практику является отсутствие эффективных и нетоксичных средств доставки генетических конструкций в клетки-мишени. Исследованиям по созданию систем доставки уделяется большое внимание [6].

В результате проведенных исследований был выбран комплекс вспомогательного вещества-носителя — катионного дендримерного пептида b-LTP в основной форме и фармацевтической субстанции — молекул миРНК (siL4-153 и siL13-395). Пептид b-LTP имеет характерную разветвленную, дендримерную структуру, поэтому он содержит не только природные,

α-амидные, но и ε-амидные связи (преимущественно). Такие связи не подвергаются протеолизу стандартными ферментами, применяемыми для ограниченной деградации пептида для установления его структуры. В этой связи для анализа b-LTP из доступных методов пригодны хроматографический и масс-спектрометрический [7].

Для определения качества молекул миРНК наиболее технологичным методом, подтверждающим не только структуру нуклеотидной последовательности, но также и отсутствие негидролизированных защитных групп, является метод масс-спектрометрии.

Традиционными методами контроля качества олигонуклеотидов можно назвать методы гель-электрофореза и ВЭЖХ, однако по точности данные методы уступают методу масс-спектрометрии MALDI-TOF. Точность определения массы синтезированного олигонуклеотида методом MALDI-TOF — не ниже 0,1 %. Данный метод позволяет определять практически все ошибки синтеза олигонуклеотида, который включает непосредственно синтез и снятие защитных групп.

Цель работы — разработка и валидация методик фармацевтического анализа препарата пептидной природы на основе миРНК для лечения бронхиальной астмы.

Материалы и методы

Лекарственное средство (ЛС) представляет собой комплекс вспомогательного вещества (ВВ) — катионного дендримерного пептида b-LTP в основной форме и фармацевтической субстанции (ФС) — молекул миРНК (siL4-153 и siL13-395) в массовом соотношении 12,5/1. ФС содержит молекулы миРНК состава 5-AAAGAUGUCUGUUACGGUctt-3 (для siL4-153) и 5-UGCUCUUAUUAAGAAtt-3 (для siL13-395); вспомогательное вещество содержит катионный дендримерный пептид b-LTP в основной форме, отвечающий химическому строению (Arg)8 (Lys)4 (Lys)2 Lys-Ala-Cys-NH₂.

Вспомогательное вещество. Для подтверждения структуры полученного пептида использовали метод масс-спектрометрии (масс-спектрометр Microflex LT (Bruker, Daltonics)), основанный на матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации анализируемого вещества с времяпролетным детектором. В данном методе ионизация аналита происходит через матрицу, которая поглощает энергию лазера и передает ее анализируемому веществу. В качестве матрицы применяли α-циано-4-гидроксициннамовую кислоту (HCCA), которая наиболее приемлема для MS-анализа пептидов и белков. **Приготовление матрицы и образца:** готовят раствор 1,4 мг/мл HCCA в системе ацетонитрил — вода — трифторуксусная (85:15:0,1), пептид растворяют в деионизированной воде. На планшет для MALDI наносят 0,5 мкл образца и 0,5 мкл раствора матрицы.

В качестве метода оценки чистоты использовали обращенно-фазовую хроматографию с УФ-детектированием с использованием прибора (жидкостной хроматограф Agilent 1200), оснащенного фотодиодноматричным детектором (Agilent Tech-

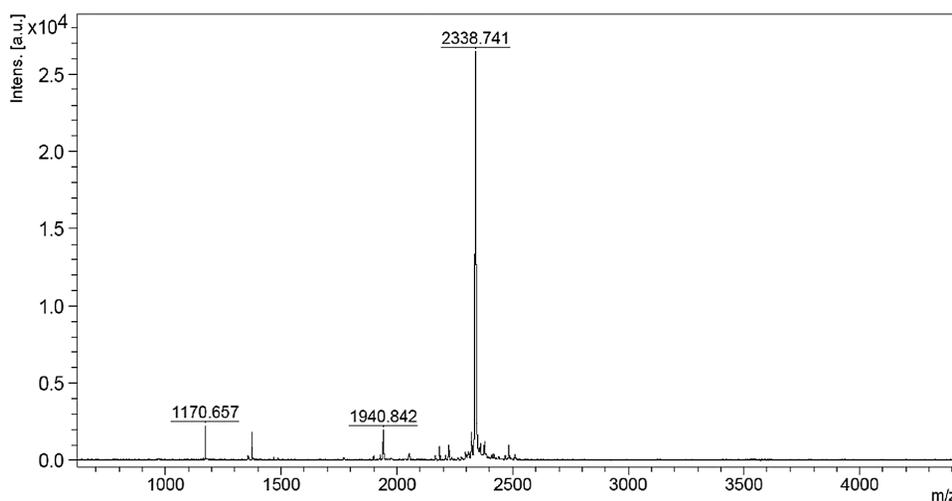


Рис. 1. Масс-спектр b-LTP, снятый в режиме MALDI-TOF.
Fig. 1. MALDI-TOF mass spectrum of b-LTP.

pologies, США). Неподвижная фаза — С18 как наиболее подходящая для анализа катионного пептида b-LTP, исходя из его физико-химических свойств. Состав подвижной фазы — фосфатный буфер (рН 7,4) — ацетонитрил в соотношении 25:75. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Колонка С18 150 × 4,6 мм; 5 мкм. Детектирование проводят при длине волны 220 нм. Время хроматографирования — 4 мин.

Фармацевтическая субстанция. Для подтверждения структуры полученной фармацевтической субстанции — молекул мРНК применили метод матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI) с использованием масс-спектрометра Bruker Microflex LT (матрица 3-НРА). **Приготовление матрицы и образца:** готовят раствор 3-гидрокси-пиколиновой кислоты 30 мг/мл с цитратом аммония 0,5 мг/мл. На планшет для MALDI наносят 0,5 мкл образца и 0,5 мкл раствора матрицы.

В качестве метода оценки чистоты ФС использовали обращенно-фазовую хроматографию с УФ-детектированием с использованием прибора — жидкостной хроматограф Agilent 1200, оснащенный фотодиодноматричным детектором (Agilent Technologies, США). Неподвижная фаза — С18 как наиболее подходящая для анализа катионного пептида b-LTP, исходя из его физико-химических свойств. Состав подвижной фазы — фосфатный буфер (рН 7,4) — ацетонитрил в соотношении 25:75. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Колонка: С18 150 × 4,6 мм 5 мкм. Детектирование проводили при длине волны 220 нм. Время хроматографирования — 4 мин.

Лекарственное средство. Для одновременной оценки подлинности таких химически разнородных соединений оптимально подходит методика, основанная на ВЭЖХ-УФ. В данном случае подлинность оценивают по времени удерживания основных пиков, соответствующих ВВ и ФС. Для одновременной оценки чистоты ВВ и ФС оптимально подходит методика на основе ВЭЖХ-УФ, где чистота оценивается по площади основных пиков, соответствующих ВВ и ФС.

В качестве метода оценки чистоты и подлинности использовали обращенно-фазовую хроматографию с УФ-детектированием с использованием прибора — жидкостной хроматограф Agilent 1200, оснащенный фотодиодноматричным детектором, (Agilent Technologies, США). Неподвижная фаза — С18 как наиболее подходящая для анализа катионного пептида b-LTP, исходя из его физико-химических свойств. Состав подвижной фазы — фосфатный буфер (рН 7,4) — ацето-

нитрил в соотношении 25:75. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Колонка: С18 150 × 4,6 мм, 5 мкм. Детектирование проводят при длине волны 220 нм. Время хроматографирования — 4 мин.

Результаты и обсуждение

Катионный пептид b-LTP

Данные масс-спектрометрии подтверждают структуру LTP как в солевой форме, так и в основной форме, b-LTP. Спектр MALDI (позитивная мода) для обоих вариантов свидетельствует о наличии мажорного пика при m/z 2338 (± 1 за счет протонирования), соответствующего молекулярной массе чистого пептида. Масс-спектр приведен на рисунке 1. В процессе разработки методики был проверен еще один тип ионизации — ионизация электроспреем при атмосферном давлении (Electrospray Ionization, ESI). Данный метод рассматривался одновременно как альтернативный MALDI-TOF и в то же время выступал контрольным, подтверждая результат. Контрольный спектр в режиме «электроспрей» (ESI) также подтверждает структуру LTP (рис. 2). В спектре присутствуют следующие пики ионов: m/z 390,6 — шестизарядный ион пептида, m/z 468,5 — пятизарядный ион пептида, m/z 585,3 — четырехзарядный ион пептида, m/z 780,3 — трехзарядный ион пептида. Из этого следует, что молекулярная масса пептида составляет 2338 Да, что соответствует расчетным данным. Однако в качестве аналитического метода был выбран метод ионизации MALDI-TOF как наиболее информативный.

В результате анализа чистоты методом ВЭЖХ-УФ на представленной хроматограмме четко виден пик, соответствующий катионному пептиду b-LTP. Значение процентного содержания пептида в навеске испытуемого пептида находилось в пределах от 95 до 105 %. Прочие пики или пики несимметричной формы отсутствовали. Типичная хроматограмма приведена на рисунке 3.

Была проведена валидация разработанной методики. Валидация выполнена в соответствии с нормами GCP/GLP, руководством FDA для предприятий «Bioanalytical method validation» (май 2001 г.), руководством EMEA «Guideline on bioanalytical method validation» (2011 г.), ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений», Государственной фармакопеей РФ XIII издания (ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик»), а также стандартными операционными процедурами (СОП) иссле-

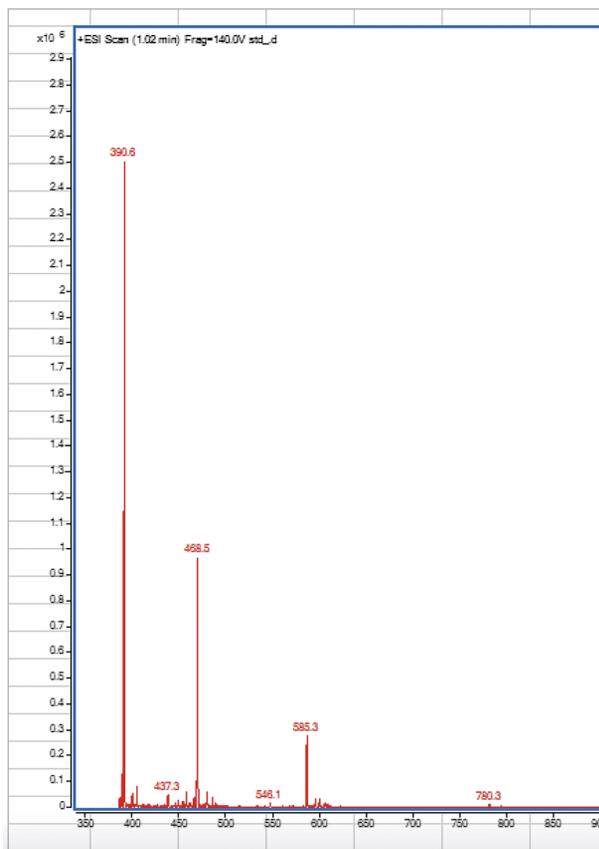


Рис. 2. Масс-спектр b-LTP, снятый в режиме «электроспрей» (ESI).

Fig. 2. ESI mass spectrum of b-LTP.

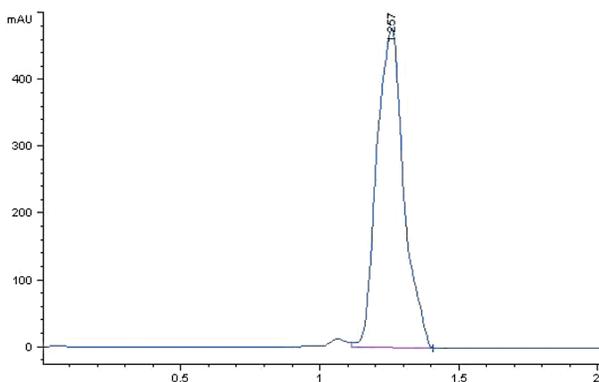


Рис. 3. Хроматограмма вспомогательного вещества — катионного пептида b-LTP.

Fig. 3. Chromatogram of the excipient — cationic peptide of b-LTP.

довательской организации. Методика удовлетворяла основным критериям приемлемости по разделам специфичность, линейность, предел обнаружения, предел количественного определения, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность, точность, аналитическая область методики, стабильность, устойчивость.

Молекулы миРНК

В результате проведенного анализа подлинности миРНК методом MALDI-TOF полученные значения масс анализируемых образцов сопоставляются с расчетными массами для соответствующих олигонуклеотидов. В масс-спектре должны присут-

ствовать пики молекулярных ионов $m/z = 6671 \pm 7$ и 6618 ± 7 для siL4-153 (для смысловой и антисмысловой последовательности соответственно) и $m/z = 6630 \pm 7$ и 6689 ± 7 для siL13-395 (для смысловой и антисмысловой последовательности соответственно). При соответствии расчетных и наблюдаемых масс в рамках погрешности методики (не более 0,1 %) делается вывод о подлинности компонентов ФС (молекул миРНК siL4-153 и siL13-395). Полученные спектры приведены на рисунках 4 и 5.

При подборе хроматографических условий для определения чистоты миРНК в составе ФС представленные хроматографические условия не являются идеальными, в частности, достичь хроматографического разделения молекул миРНК (siL4-153 и siL13-395) не удалось. Однако в этом случае методика определения чистоты молекул миРНК полностью совпадает с методикой определения ВВ, что делает ее очень удобной для использования в качестве методики определения чистоты и подлинности готового ЛС. В результате анализа чистоты ФС методом ВЭЖХ-УФ на представленной хроматограмме четко видны пики, соответствующие siL4-153 и siL13-395. Значение процентного содержания миРНК в навеске испытуемой ФС находилось в пределах от 95 до 105 %. Прочие пики или пики несимметричной формы отсутствовали. Типичная хроматограмма приведена на рисунке 6. Методика удовлетворяла основным валидационным критериям приемлемости по разделам специфичность, линейность, предел обнаружения, предел количественного определения, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность, точность, аналитическая область методики, стабильность, устойчивость.

Лекарственное средство

Основная проблема при совместном присутствии в составе лекарственного средства ФС и ВВ — достичь наилучших значений параметров пригодности хроматографической системы. В первую очередь — разрешения. Кроме того, пики, соответствующие ФС и ВВ, должны быть легко идентифицируемы на хроматограммах. В связи с этим были испытаны различные хроматографические системы и сравнены параметры их пригодности.

Основным параметром хроматографической системы, влияющим на разрешение, число теоретических тарелок и асимметрию пика, является состав подвижной фазы. Были разработаны несколько хроматографических систем с различным составом подвижной фазы. В результате выбор был сделан в пользу состава фосфатный буфер (pH 7,4) — ацетонитрил в соотношении 25:75, так как именно при этих условиях возможно достичь разделения компонентов ВВ и ФС, что необходимо для использования разработанного метода для стандартизации и контроля качества готового ЛС на этапе производства. В результате анализа чистоты ЛС методом ВЭЖХ-УФ на представленной хроматограмме четко видны пики, соответствующие компонентам ВВ и ФС. Значение процентного содержания компонентов в навеске испытуемого ЛС находилось в пределах от 95 до 105 %. Прочие пики или пики несимметричной формы отсутствовали. Типичная хроматограмма приведена на рисунке 7. Методика удовлетворяла основным валидационным критериям приемлемости по разделам специфичность, линейность, предел обнаружения, предел количественного определения, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность, точность, аналитическая область методики, стабильность, устойчивость.

Заключение

Для контроля качества лекарственных средств на основе пептидных соединений необходимо разработать комплексный

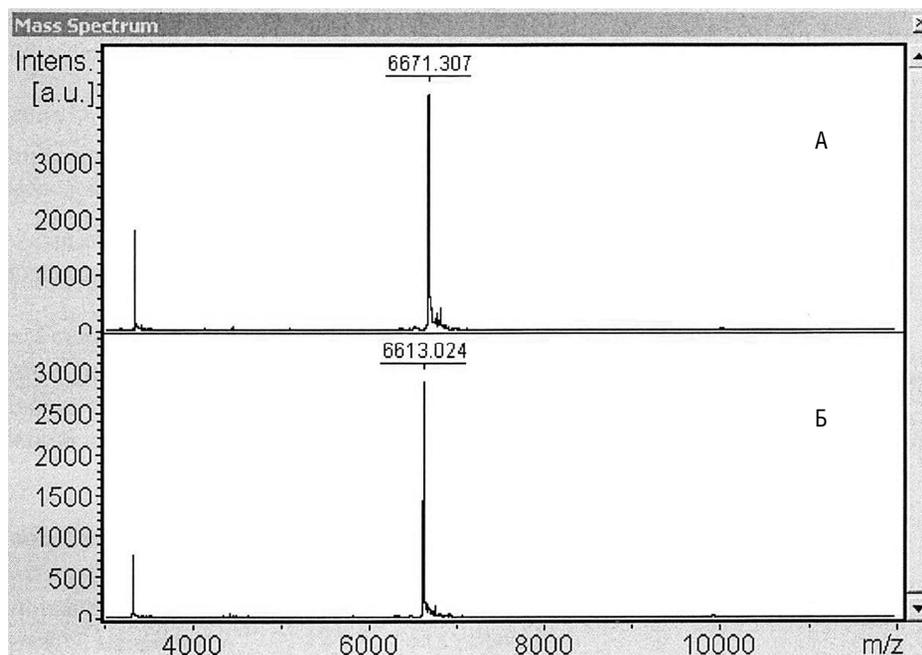


Рис. 4. Масс-спектрометрический анализ siL4-153: А — анализ смысловой цепи siL4-153, Б — анализ антисмысловой цепи siL4-153.

Fig. 4. Mass-spectrometric analysis of siL4-153: А — analysis of the sense chain of siL4-153, Б — analysis of the antisense chain of siL4-153.

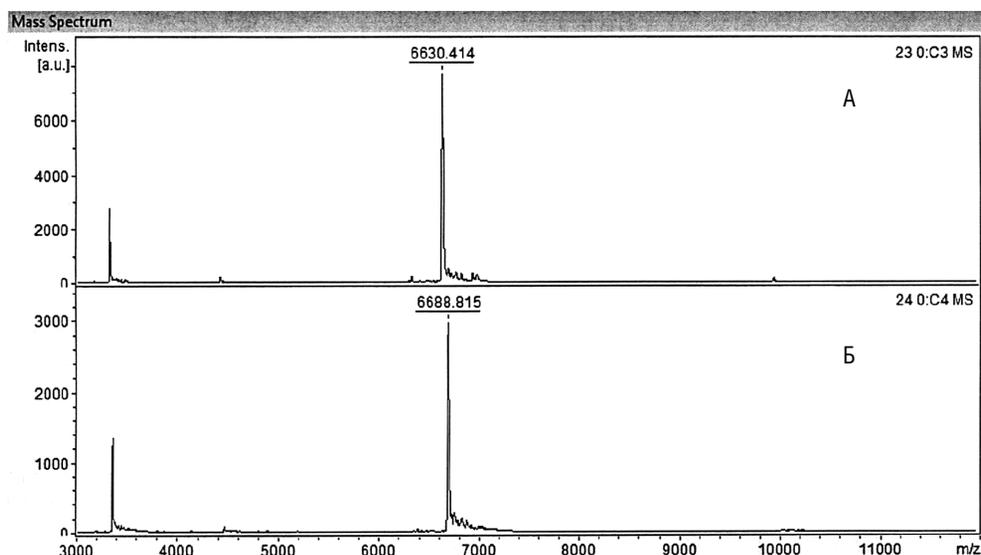


Рис. 5. Масс-спектрометрический анализ siL13-395: А — анализ смысловой цепи siL13-395, Б — анализ антисмысловой цепи siL13-395.

Fig. 5. Mass-spectrometric analysis of siL13-395: А — analysis of the sense chain of siL13-395, Б — analysis of the antisense chain of siL13-395.

подход с использованием современных инструментальных методов. Разработанные методики должны быть точны и воспроизводимы с целью использования в лабораторной практике для постоянного контроля на производстве. Ввиду большей селективности и точности для определения подлинности ВВ — пептида b-LTP в основной форме использовали методику на основе масс-спектрометрии. Проведена валидация разработанной методики. Также была разработана методика определения чистоты ВВ, которая основана на методе ВЭЖХ с УФ-детекцией.

Разработана методика определения подлинности ФС, основанная на методе масс-спектрометрии. В ходе разработки методики был осуществлен подбор параметров сокристаллизации матрицы и исследуемых образцов ФС при проведении масс-спектрометрии. Разработана методика определения чистоты ФС. В ходе разработки методики был проведен подбор условий хроматографирования.

Была создана методика анализа ЛС на основе метода ВЭЖХ с УФ-детектированием. Выбор данного метода анализа ЛС обусловлен удобством, заключающимся в одновременном

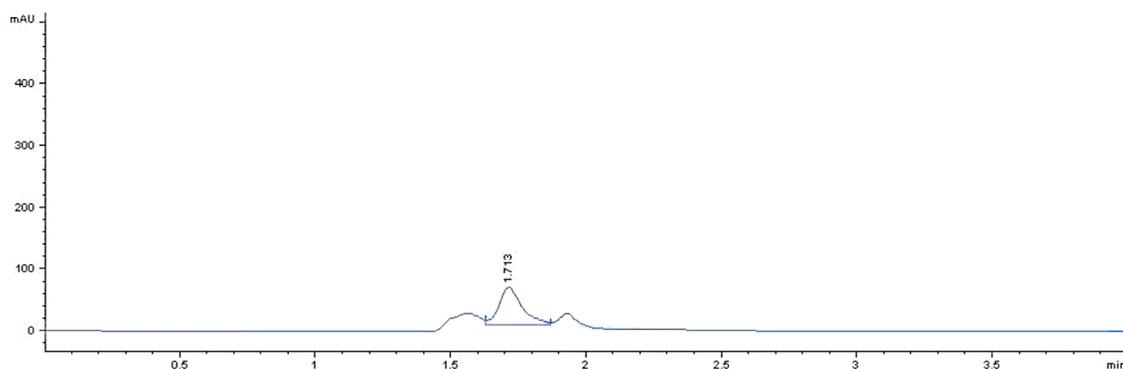


Рис. 6. Хроматограмма образца фармацевтической субстанции, содержащего siL4-153 и siL13-395.
Fig. 6. Chromatogram of an API sample containing siL4-153 and siL13-395.

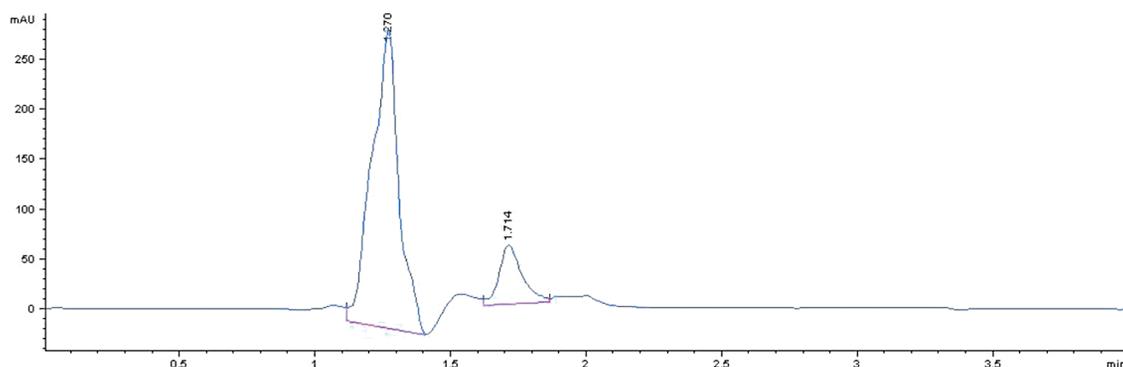


Рис. 7. Хроматограмма образца лекарственного средства.
Fig. 7. Chromatogram of a medicinal product sample.

детектировании подлинности и чистоты обоих компонентов ЛС (ФС — молекул миРНК и ВВ — катионного пептида b-LTP). При этом подлинность оценивалась по времени удерживания основных пиков, соответствующих ВВ и ФС, а чистота оценивалась по площади основных пиков, соответствующих ВВ и ФС.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

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

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / Reference

1. Whangbo JS, Hunter CP. Environmental RNA interference. *Trends Genet.* 2008;24(6):297–305. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.03.007>
2. Rosenthal JJ. The emerging role of RNA editing in plasticity. *J Exp Biol.* 2015;218(Pt 12):1812–21. <https://doi.org/10.1242/jeb.119065>

3. Шиловский ИП, Мазуров ДВ, Шершакова НН, Гасанов ВА, Хаитов МР. Синтетические siRNA эффективно подавляют экспрессию провоспалительного цитокина интерлейкина-4 мыши *in vitro*. *Иммунология.* 2012;2:66–70. [Shilovskiy IP, Mazurov DV, Shershakova NN, Gasanov VA, Khaitov MR. siRNA suppresses the expression of murine proinflammatory interleukine-4 *in vitro*. *Immunologiya = Immunology.* 2012;2:66–70 (In Russ.)]
4. Khaitov MR, Shilovskiy IP, Nikonova AA, Shershakova NN, Kamyshnikov OY, Babakhin AA, et al. Small interfering RNAs targeted to interleukin-4 and respiratory syncytial virus reduce airway inflammation in a mouse model of virus-induced asthma exacerbation. *Hum Gene Ther.* 2014;25(7):642–50. <https://doi.org/10.1089/hum.2013.142>
5. Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature.* 2004;431(7006):343–9. <https://doi.org/10.1038/nature02873>
6. Manjila SB, Baby JN, Bijin EN, Constantine I, Pramod K, Valsalakumari J. Novel gene delivery systems. *Int J Pharm Investig.* 2013;3(1):1–7. <https://doi.org/10.4103/2230-973X.108958>
7. Кутин АА, Мастеркова ТВ, Яшкир ВА, Меркулов ВА, Ваганова ОА. Хромато-масс-спектрометрия: использование для идентификации лекарственных субстанций и примесей. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2013;(2):12–4. [Kutin AA, Masterkova TV, Yashkir VA, Merkulov VA, Vaganova OA. UPLC/MS/MS method for identification of drug substances and impurities. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2013;(2):12–4 (In Russ.)]

Об авторах

Красных Людмила Михайловна, канд. биол. наук, начальник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3650-6014>

Смирнов Валерий Валерьевич, канд. фарм. наук, ведущий аналитик отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; заведующий лабораторией № 73 клинической фармакологии ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8232-6682>

Раменская Галина Владиславовна, д-р фарм. наук, ведущий аналитик отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8779-3573>

Василенко Галина Федоровна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7940-1664>

Шиловский Игорь Петрович, д-р биол. наук, заведующий лабораторией № 75 противовирусного иммунитета ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, **ORCID:** <http://orcid.org/>

Хаитов Муса Рахимович, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, **ORCID:** <http://orcid.org/>

Поступила 04.07.2018

Принята к публикации 09.08.2018

Authors

Lyudmila M. Krasnykh, Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3650-6014>

Valeriy V. Smirnov, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Leading Analyst of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia; Head of Laboratory No. 73 for Clinical Pharmacology of the FSBI NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8232-6682>

Galina V. Ramenskaya, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Leading Analyst of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8779-3573>

Galina F. Vasilenko, Candidate of Biological Sciences, Leading Research Associate of the Department of Clinical Pharmacokinetics of the Clinical Pharmacology Centre of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7940-1664>

Igor P. Shilovsky, Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory No. 75 for Antiviral Immunity of the FSBI NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/>

Musa R. Haitov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the FSBI NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/>

Received 4 July 2018

Accepted 9 August 2018