

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

# Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба при однократном внутривенном введении яванским макакам

В.М. Косман<sup>1</sup>, М.В. Карлина<sup>1</sup>, Т.Н. Барыбина<sup>1</sup>, Н.М. Фаустова<sup>1</sup>, А.А. Матичин<sup>1</sup>, В.Г. Макаров<sup>1</sup>, М.Н. Макарова<sup>1</sup>, А.А. Дмитриева<sup>2</sup>, Е.В. Шипаева<sup>2</sup>, А.И. Подолякина<sup>2</sup>, О.В. Филон<sup>2</sup>, М.Ю. Самсонов<sup>2</sup>, В.Г. Игнатьев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>АО «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»; Россия, 188663 Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмолковский, Заводская ул., 3, корп. 245;

<sup>2</sup>АО «Р-Фарм»; Россия, 123154 Москва, ул. Берзарина, 19, корп. 1

**Контакты:** Вера Михайловна Косман [kosman.v.m@doclinika.ru](mailto:kosman.v.m@doclinika.ru)

**Введение.** Пембролизумаб является противоопухолевым средством биологического происхождения класса моноклональных антител. При создании воспроизведенных биологических лекарственных средств необходима оценка сопоставимости фармакокинетики разрабатываемого препарата и оригинального (референтного) лекарственного препарата на релевантных видах животных.

**Цель исследования** – сравнительная оценка фармакокинетики двух препаратов с международным непатентованным названием (МНН) «пембролизумаб», концентратов для приготовления раствора для инфузий при однократном внутривенном введении обезьянам *Macaca fascicularis*.

**Материалы и методы.** Объекты исследования – биоаналогичный препарат RPH-075 (МНН пембролизумаб, АО «Р-Фарм», Россия) и препарат сравнения Китруда® (МНН пембролизумаб, МСД Интернэшнл ГмбХ, Ирландия) вводили однократно внутривенно самцам яванских макак (2 группы по 4 самца в каждой) в дозе 30 мг/кг. Отбор образцов крови макак для анализа проводили до введения и через 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 ч после введения. Концентрацию действующего вещества в плазме крови определяли методом мостикового иммуноферментного анализа с использованием коммерчески доступных антител с последующим расчетом основных параметров фармакокинетики ( $C_{max}$ , AUC, MRT,  $V_{ss}$ ,  $T_{1/2\alpha}$ , Cl).

**Результаты.** С использованием антител более доступных, чем коммерческие наборы реагентов, воспроизведенная методика анализа пембролизумаба в биоматериале, рекомендованная производителем антител. Методика валидирована и применена к анализу биопроб, полученных при проведении сравнительного доклинического исследования. Показано отсутствие влияния тестируемого препарата и препарата сравнения при однократном внутривенном введении яванским макакам на общее состояние и массу тела животных; установлено, что препараты обладали сопоставимыми фармакокинетическими профилями.

**Закключение.** Создание биоаналогичного препарата в Российской Федерации позволит совершенствовать лечение пациентов с онкологическими заболеваниями, снизить стоимость лечения и увеличить число получающих качественную медицинскую помощь.

**Ключевые слова:** пембролизумаб, биоаналог, фармакокинетический профиль, сыворотка крови, иммуноферментный анализ

**Для цитирования:** Косман В.М., Карлина М.В., Барыбина Т.Н. и др. Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба при однократном внутривенном введении яванским макакам. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):49–60.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

## Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to *Macaca fascicularis*

Vera M. Kosman<sup>1</sup>, Marina V. Karlina<sup>1</sup>, Tatyana N. Barybina<sup>1</sup>, Natalia M. Faustova<sup>1</sup>, Aleksandr A. Matichin<sup>1</sup>, Valery G. Makarov<sup>1</sup>, Marina N. Makarova<sup>1</sup>, Anastasia A. Dmitrieva<sup>2</sup>, Elena V. Shipaeva<sup>2</sup>, Anna I. Podolyakina<sup>2</sup>, Olga V. Filon<sup>2</sup>, Mikhail Yu. Samsonov<sup>2</sup>, Vasily G. Ignatiev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY”; 3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky urban-type settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russia;

<sup>2</sup>Joint-Stock Company “R-Pharm”, Bld 1, 19 Berzarin St., Moscow 123154, Russia

**Contacts:** Vera Mikhailovna Kosman [kosman.vm@doclinika.ru](mailto:kosman.vm@doclinika.ru)

**Background.** Pembrolizumab belongs to a fundamentally new class of antitumor agents with biological source – monoclonal antibodies. When creating generic biological medicinal products, it is necessary to assess the comparability of the pharmacokinetics of the developed drug and the original (reference) drug product in relevant animal species.

**Aim.** To compare the pharmacokinetics of two drugs with INN pembrolizumab, concentrate for solution for infusion, administered once intravenously to *Macaca fascicularis*.

**Materials and methods.** Biosimilar RPH-075 (INN pembrolizumab, JSC R-Pharm, Russia) and reference drug Keytruda® (INN pembrolizumab, MSD International GmbH) were administered once intravenously to male monkeys (2 groups of 4 males each) at a dose of 30 mg/kg. Macaque blood samples were collected for analysis before administration and at 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 h after administration. Plasma concentrations of the active ingredient were determined by bridging ELISA using commercially available antibodies, followed by calculation of the main pharmacokinetic parameters ( $C_{max}$ , AUC, MRT,  $V_{ss}$ ,  $T_{1/2}$ , Cl).

**Results.** Using antibodies more available than commercial reagent kits, the pembrolizumab assay method recommended by the antibody manufacturer has been replicated. The method has been validated and applied to the analysis of biosamples obtained in the preclinical study. There was no effect of the test drug and the reference drug upon single intravenous administration to monkeys condition and animals body weigh; drugs were found to have comparable pharmacokinetic profiles.

**Conclusion.** The creation of a biosimilar drug in the Russian Federation will improve the treatment of patients with cancer, reduce the cost of treatment and increase the number of patients receiving high-quality medical care.

**Keywords:** pembrolizumab, biosimilar, pharmacokinetic profile, blood serum, enzyme immunoassay

**For citation:** Kosman V.M., Karlina M.V., Barybina T.N. et al. Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to *Macaca fascicularis*. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):49–60. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

## Введение

Одним из активно производимых в настоящее время классов биологических лекарственных препаратов являются моноклональные антитела (monoclonal antibodies, mAbs), в частности ингибиторы иммунной контрольной точки, используемые против отрицательных иммунологических регуляторов для восстановления иммунного ответа против рака [1, 2]. К этому принципиально новому классу противоопухолевых средств относят пембролизумаб, лечебный эффект которого основан на реактивации противоопухолевого иммунного механизма.

Препарат Китруда® (международное непатентованное название – МНН: пембролизумаб) представляет собой высокоселективное гуманизированное mAb изотипа иммуноглобулина (Ig) подкласса G4-каппа, которое блокирует взаимодействие между рецептором programmed cell death 1 (PD-1) на поверхности Т-клеток и PD-L1- и PD-L2-лигандами, находящимися на клетках опухоли и ее микроокружения [3–5]. Пембролизумаб успешно применяют в 1-й и последующих линиях терапии метастатической меланомы кожи вне зависимости от наличия активиру-

ющих мутаций в гене *BRAF* и других молекулярных маркеров [5–8]. В исследованиях также подтверждена эффективность пембролизумаба в лечении немелкоклеточного рака легких, рака эндометрия, рака молочной железы [7–12]. Показаниями к применению этого препарата являются также рак головы и шеи [13], классическая лимфома Ходжкина [14], уротелиальный рак [15], злокачественные новообразования с высоким уровнем микросателлитной нестабильности [16], рак шейки матки [11], почечно-клеточный рак [17]. Разработкой биоаналогов препарата Китруда® занимаются во многих странах мира [3, 18, 19]<sup>1</sup>. Воспроизведенные (подобные) биологические лекарственные средства (биоаналоги, биосимиляры, biosimilars, similar biological medicinal products) являются аналогами биофармацевтических лекарственных средств с близкой, но не идентичной исходной молекулой [20, 21]. Действующие вещества таких препаратов представляют собой белки, полученные путем биологического синтеза в клетках дрожжей и бактерий. Различные организмы, используемые в синтезе целевого протеина, дальнейшие методы получения, очистки и гликозилирования обуславливают

<sup>1</sup>Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 89 от 03.11.2016. URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0089/?ysclid=m3phv2ntxz415188816>

неполную идентичность действующих веществ оригинальных биопрепаратов и биоаналогов, что может оказать влияние на фармакологическую активность, безопасность, фармакокинетику и иммуногенность биоаналогов [20, 21]. Оценку сопоставимости фармакокинетики разрабатываемого препарата и оригинального (референтного) лекарственного препарата на релевантных видах животных проводят в связи с тем, что биотехнологические препараты ввиду своей специфики могут опосредовать эффекты *in vivo*, которые нельзя полностью охарактеризовать в исследованиях *in vitro*<sup>2</sup>.

**Цель исследования** — сравнительная оценка фармакокинетики двух препаратов с МНН «пембролизумаб», концентратов для приготовления раствора для инфузий при однократном внутривенном введении обезьянам *Macaca fascicularis*.

### Материалы и методы

**Объектами исследования** служили тестируемый препарат RPH-075 (МНН пембролизумаб), концентрат для приготовления растворов для инфузий, 25 мг/мл (производитель АО «Р-Фарм», Россия), и препарат сравнения Китруда® (МНН пембролизумаб), концентрат для приготовления растворов для инфузий, 25 мг/мл (производитель МСД Интернэшнл ГмбХ, торгующий как МСД Ирландия (Карлоу), Ирландия, держатель регистрационного удостоверения (РУ) ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия). Тестируемый препарат является биоаналогом препарата сравнения.

**Животные.** В экспериментах использованы половозрелые самцы яванских макаков (*Macaca fascicularis*), полученные из 3 источников: ИП Хачатурян Э.С. (Россия); ИП Фисенко А.И. (Россия); хозяйствующий субъект (владелец продукции) Батчаева А.Ю. (Россия). Планируемая работа рассмотрена и одобрена для проведения на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»» (протокол № 1.34/22 от 29.07.2022). Исследование спланировано и выполнено с соблюдением принципов «Трех R» (Replacement, Reduction, Refinement: замещение, сокращение, совершенствование), после окончания эксперимента животные были возвращены в ветеринарную службу.

Приматы поступили в исследовательское учреждение в транспортировочных клетках. При поступлении животным присваивали новые клички и осуществляли проверку на наличие или отсутствие чипа заводчика и его работоспособность (происходит ли

считывание номера) при наличии. В случае отсутствия или несчитывания чипа заводчика производили чипирование животного. Для каждого поступившего животного оформляли карточку *Curriculum Vitae*, куда вносили информацию о поступлении (номер ветеринарного сопроводительного документа), массе тела животного и всех манипуляциях, происходивших на протяжении всей жизни объекта. После поступления в исследовательское учреждение животных до начала эксперимента содержали 45 дней для карантина и адаптации к условиям содержания и персоналу, допущенному к работе с приматами. На протяжении карантина у животных каждый день контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Животных во время периода адаптации приучали садиться на весы путем тренинга с положительным подкреплением.

В эксперименте задействовано 8 животных (самцов), еще 1 самец яванской макаки был доступен в течение периода адаптации на случай необходимой замены. После окончания периода адаптации незадействованное животное выполняло роль сентинельного, т. е. его содержали в одинаковых условиях с экспериментальными животными до окончания экспериментальной части исследования, после чего возвратили в ветеринарную службу.

В исследовании использованы клинически здоровые яванские макаки, свободные от туберкулеза и прочих заболеваний (*Rabies lyssavirus*, гепатита A, B, C, Retrovirus SIV, SRV, STLV, *Mycoplasma* spp., *Yersinia* spp., *Salmonella* spp., *Endoparasites*, *Ectoparasites*).

Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Макаков содержали в металлических клетках группового содержания, минимальная площадь пола клетки содержания на 1 животное соответствовала регламентирующим стандартам<sup>3</sup>. В условиях исследования были удовлетворены минимальные физические и интеллектуальные потребности приматов. Для обеспечения физической активности животных в клетках содержания были натянута веревочные качели и кольца, для поддержания познавательной и тактильной потребностей животных проводили тренинги.

Животные ежедневно получали 100 г запаренного гранулированного корма ЛБК-120 (производитель ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия), кроме случаев лишения корма, указанных далее.

<sup>2</sup>Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 89 от 03.11.2016. URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0089/?ysclid=m3phv2ntxz415188816>.

<sup>3</sup>Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. Под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. СПб., 2012. 48 с.

В качестве дополнения к рациону ежедневно давали 100 г бананов, 50 г отварной моркови, 10 г салата. Два раза в неделю животные получали 3 вареных яйца, 50 г вареного куриного филе, 1 яблоко, 5 фиников, и один раз в неделю — 35 г изюма. Кормление животных осуществляли 5 раз в день. Воду животные получали *ad libitum*.

**Оценка фармакокинетики.** Для выполнения эксперимента сформировано 2 группы животных по 4 самца в каждой, возраст животных составил 3–7 лет, масса 4,85–7,25 кг. В исследовании использованы животные одного пола (самцы), поскольку для оригинального препарата Китруда® известно, что пол животных не влияет на параметры фармакокинетики пембролизумаба<sup>4</sup>. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли при помощи стратификации по массе тела таким образом, чтобы на начало эксперимента масса тела статистически значимо не отличалась между группами. По данным литературы, рандомизация для приматов не является обязательной процедурой [22].

Объекты исследования вводили однократно внутривенно (болюсно, согласно регуляторным документам<sup>5</sup> должен быть выбран способ введения, соответствующий клиническому применению исследуемых препаратов). В данном случае для введения животным использовано не инфузионное, а болюсное внутривенное введение (поскольку такой способ предпочтительнее для дальнейшего отбора биоматериала при исследовании фармакокинетики, и он указан в разделе по доклиническим исследованиям регистрационного досье оригинального препарата) в дозе 30 мг/кг с помощью трехкомпонентного шприца с иглой диаметром 25G. Объем для внутривенного введения макакам массой тела 4 кг составил 4,8 мл, что не превышало максимально допустимый объем для данного вида животных — 3 мл/кг [23]. Выбранная доза препаратов, равная 30 терапевтическим дозам<sup>6</sup>, позволила достоверно определить в сыворотке крови приматов концентрацию пембролизумаба для

дальнейшей оценки его фармакокинетических параметров. Кроме того, выбранная доза (30 мг/кг) не вызвала токсических эффектов при оценке токсичности оригинального препарата в доклинических исследованиях на приматах.

В 1-й день эксперимента перед отбором крови для временной точки «до введения» и введением объектов исследования животные были лишены утренней раздачи корма. После введения исследуемых препаратов животных лишали корма и воды на 6 ч. Доступ животных к корму и воде в остальные дни эксперимента не был ограничен. Манипуляции по забору крови начиная со 2-го дня эксперимента производили до утренней раздачи корма и воды.

Для оценки фармакокинетических параметров образцы крови отбирали из вены в следующие временные точки — до введения, непосредственно после введения, через 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 ч после введения.

Отбор образцов крови выполняли в пробирки с активатором свертывания и гелем IMPROVACUTER® (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай, кат. № 623060112). Для получения сыворотки кровь предварительно инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем образцы центрифугировали при скорости 2000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге CM-6MT (ELMI Ltd., Латвия). Полученную сыворотку хранили при температуре  $-70 \pm 10$  °C в 2 аликвотах (основной и запасной, или арбитражной) объемом не менее 1,0 мл каждая.

**Анализ проб.** Для количественного определения пембролизумаба применяли метод мостикового иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерчески доступных антител согласно протоколу<sup>7</sup>.

В качестве стандартного образца пембролизумаба для получения калибровочных растворов использовали препарат RPH-075, концентрат для приготовления раствора для инфузий 25 мг/мл (серия 0010922, производитель АО «Р-Фарм», Россия).

<sup>4</sup>Инструкция по медицинскому применению препарата Китруда®. URL: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914); EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf); CDER-FDA. Application number: 125514Orig1s000. Pharmacology Review(s). URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf).

<sup>5</sup>Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические, токсикологические и фармакокинетические исследования безопасности: ГОСТ Р 56702-2015 от 01.07.2016. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126924>; Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть вторая. Под ред. А.Н. Миронова и др. М.: Гриф и К. 2012. 536 с.

<sup>6</sup>Инструкция по медицинскому применению препарата Китруда®. URL: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914); EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf); CDER-FDA. Application number: 125514Orig1s000. Pharmacology Review(s). URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf).

<sup>7</sup>Protocol: PK Bridging ELISA for Use with Anti-Pembrolizumab Antibodies. URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/protocol-pk-bridging-elisa-pembrolizumab-antibodies.html>.

**Обработка результатов.** Параметры фармакокинетики (максимальная концентрация —  $C_{\max}$ , площадь под кривой «концентрация — время» — AUC, среднее время удерживания — MRT, стационарный объем распределения —  $V_{ss}$ , период полувыведения —  $T_{1/2}$ , клиренс — Cl) рассчитаны внемоделным методом статистических моментов [24] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. Для всех данных применена описательная статистика, рассчитаны средние арифметические значения ( $M$ ), соответствующие им стандартные отклонения ( $SD$ ) и стандартные ошибки среднего значения ( $SEM$ ). Для статистической оценки различий между фармакокинетическими параметрами, полученными для тестируемого препарата и препарата сравнения, применены параметрические (двухвыборочный  $t$ -тест для средних) и непараметрические (тест Манна–Уитни) методы в зависимости от типа распределения данных (критерий Шапиро–Уилка). Различия определены при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Статистический анализ выполнен с помощью лицензированного программного обеспечения (GraphPad Prism 9, GraphPad Software, США).

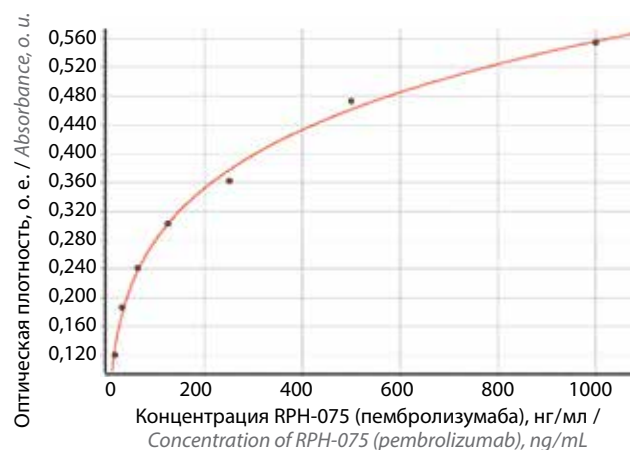
## Результаты и обсуждение

**Разработка и валидация биоаналитической методики.** Пембролизумаб является IgG4 каппа с молекулярной массой примерно 149 кДа. Для его количественного определения в биологическом материале можно использовать метод мостикового ИФА с помощью коммерчески доступных наборов реагентов (например, представленных ниже<sup>8</sup>) или отдельных антител<sup>9</sup>. В данной работе вместо дорогостоящих наборов реагентов использованы более доступные антитела и воспроизведена методика анализа пембролизумаба в биоматериале, рекомендованная их производителем.

Методика определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян валидирована надлежащим образом в соответствии с рекомендациями<sup>10</sup> по следующим

параметрам: минимально необходимое разведение, селективность, нижний предел количественного определения (НПКО), калибровочный диапазон, правильность (точность) и прецизионность, стабильность аналита. В табл. 1 представлены итоговые результаты валидации методики количественного определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян, на рис. 1 — пример калибровочной зависимости оптической плотности растворов от концентрации пембролизумаба (при дальнейшей обработке использовали 4-параметрическую модель обработки данных ИФА).

Получены удовлетворительные результаты по всем необходимым валидационным параметрам, что свидетельствовало о пригодности методики количественного определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян методом мостикового ИФА для дальнейшего изучения фармакокинетики исследуемых препаратов пембролизумаба.



**Рис. 1.** Пример типичной калибровочной зависимости оптической плотности от концентрации RPH-075 (пембролизумаба) в сыворотке крови, полученной в ходе валидации методики

**Fig. 1.** Example of typical calibration dependence of absorbance on RPH-075 concentration (pembrolizumab) in serum obtained during method validation

<sup>8</sup>Pembrolizumab (Keytruda) Pharmacokinetic ELISA Kit. URL: <https://www.mybiosource.com/elisa-kits/pembrolizumab-keytruda-pharmacokinetic/378270>; KRIBIOLISA™ Pembrolizumab ELISA (KEYTRUDA). <https://www.krishgen.com/product/details/Pembrolizumab-ELISA-KEYTRUDA>; Pembrolizumab ELISA Kit (ab237652). URL: <https://www.abcam.com/products/elisa/pembrolizumab-elisa-kit-ab237652.html>; Pembrolizumab ELISA Kit (Keytruda®) Free drug. <https://www.assaygenie.com/pembrolizumab-keytruda-elisa-kit/>.

<sup>9</sup>Pembrolizumab antibody (AbD30689). URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/monoclonal/pembrolizumab-antibody-abd30689-hca296.html?f=purified>; Pembrolizumab antibody (AbD30685\_hlgG1). URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/monoclonal/pembrolizumab-antibody-abd30685-higg1-hca297.html?f=hrp>; Protocol: PK Bridging ELISA for Use with Anti-Pembrolizumab Antibodies. URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/protocol-pk-bridging-elisa-pembrolizumab-antibodies.html>.

<sup>10</sup>Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine, 2018. 41 p.; Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. 22 p.; Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 85 от 03.11.2016. Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов». URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0085/?ysclid=m3psu1gzgk113838509>.

Таблица 1. Результаты валидации методики определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян

Table 1. Result of assay validation for pembrolizumab determination in monkey blood serum

| Валидационный параметр<br>Validation parameter            | Уровень концентрации<br>Concentration level                                                                                                     | Критерий приемлемости<br>Acceptance criteria                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Результат<br>Result                                                                                                                                                                              | Вывод<br>Conclusion                                     |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Селективность<br>Selectivity                              | Бланк-сыворотка (n = 10), НПКО*<br>Blank-plasma (n = 10), LQL*                                                                                  | Правильность для образцов уровня НПКО должна находиться в пределах $\pm 25$ % от номинальной концентрации по меньшей мере для 80 % изученных биологических образцов<br>Accuracy for LQL level samples should be within $\pm 25$ % of the nominal concentration for at least 80 % of the biological samples studied                                              | 79,5–122,0 %<br>для 85 % биологических образцов<br>For 85 % of biological samples                                                                                                                | Соответствует<br>Corresponds                            |
| НПКО<br>LQL                                               | НПКО<br>LQL                                                                                                                                     | Точность – отклонения менее 25 %<br>(75–125 %)<br>Accuracy – deviations less than 25 %<br>(75–125 %)<br>Прецизионность – менее 25 %<br>Precision – less than 25 %                                                                                                                                                                                               | 15,6 нг/мл<br>15,6 ng/mL<br>78 нг/мл с учетом минимального разведения<br>78 ng/mL taking into account the minimum dilution<br>94,9<br>13,9                                                       | Установлен<br>Estimated<br>Соответствует<br>Corresponds |
| Калибровочный диапазон<br>Calibration range               | Калибровочные стандарты не менее чем 6 концентраций, не менее 3 серий<br>Calibration standards of at least 6 concentrations, at least 3 batches | Коэффициент корреляции (r), отклонения экспериментально рассчитанных значений концентраций от номинальных не более 20 % (25 % для НПКО) для не менее чем 75 % стандартов<br>Correlation coefficient (r), deviations of experimentally calculated concentration values from nominal values not more than 20 % (25 % for LQL) for not less than 75 % of standards | 15,6–1000 нг/мл<br>15,6–1000 ng/mL<br>$r = 0,9978–0,9988$<br>отклонения менее 20 % (25 % для НПКО) для 79–100 % стандартов<br>deviations less than 20 % (25 % for LQL) for 79–100 % of standards | Установлен<br>Estimated<br>Соответствует<br>Corresponds |
| Правильность в одном цикле, %<br>Accuracy intra-run, %    | ВПКО<br>UQL                                                                                                                                     | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 85,7–114,6                                                                                                                                                                                       | Соответствует<br>Corresponds                            |
|                                                           | Верхний КК<br>High QC                                                                                                                           | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 83,7–118,5                                                                                                                                                                                       |                                                         |
|                                                           | Средний КК<br>Average QC                                                                                                                        | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 82,4–115,1                                                                                                                                                                                       |                                                         |
|                                                           | Низкий КК<br>Low QC                                                                                                                             | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 83,8–114,1                                                                                                                                                                                       |                                                         |
|                                                           | НПКО<br>LQL                                                                                                                                     | 75–125                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 75,9–120,2                                                                                                                                                                                       |                                                         |
| Правильность между циклами, %<br>Accuracy inter-run, %    | ВПКО<br>UQL                                                                                                                                     | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 95,0                                                                                                                                                                                             | Соответствует<br>Corresponds                            |
|                                                           | Верхний КК<br>High QC                                                                                                                           | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 93,3                                                                                                                                                                                             |                                                         |
|                                                           | Средний КК<br>Average QC                                                                                                                        | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 101,4                                                                                                                                                                                            |                                                         |
|                                                           | Низкий КК<br>Low QC                                                                                                                             | 80–120                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 100,4                                                                                                                                                                                            |                                                         |
|                                                           | НПКО<br>LQL                                                                                                                                     | 75–125                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 94,9                                                                                                                                                                                             |                                                         |
| Прецизионность в одном цикле, %<br>Precision intra-run, % | ВПКО<br>UQL                                                                                                                                     | <20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 7,6–10,4                                                                                                                                                                                         | Соответствует<br>Corresponds                            |
|                                                           | Верхний КК<br>High QC                                                                                                                           | <20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 10,0–11,5                                                                                                                                                                                        |                                                         |
|                                                           | Средний КК<br>Average QC                                                                                                                        | <20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 5,4–11,3                                                                                                                                                                                         |                                                         |
|                                                           | Низкий КК<br>Low QC                                                                                                                             | <20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 6,4–9,2                                                                                                                                                                                          |                                                         |
|                                                           | НПКО<br>LQL                                                                                                                                     | <25                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 9,2–14,6                                                                                                                                                                                         |                                                         |

Окончание табл. 1  
End of table 1

| Валидационный параметр<br>Validation parameter                                                                                                                                     | Уровень концентрации<br>Concentration level                                                            | Критерий приемлемости<br>Acceptance criteria                                                                                                                                                 | Результат<br>Result                   | Вывод<br>Conclusion          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| Прецизионность между циклами, %<br>Precision inter-run, %                                                                                                                          | ВПКО<br>UQL<br>Верхний КК<br>High QC<br>Средний КК<br>Average QC<br>Низкий КК<br>Low QC<br>НПКО<br>LQL | <20<br><20<br><20<br><20<br><25                                                                                                                                                              | 9,1<br>11,1<br>9,7<br>8,2<br>13,9     | Соответствует<br>Corresponds |
| Минимально необходимое разведение<br>Minimum necessary dilution                                                                                                                    | —                                                                                                      | Наименьшее разведение, до которого следует развести образец для оптимизации правильности и прецизионности<br>Least dilution to which to dilute the sample to optimize accuracy and precision | 5                                     | Установлено<br>Estimated     |
| Краткосрочная стабильность аналита в сыворотке крови при 2–8 °С, % (24 ч)<br>Short-term stability in serum at 2–8 °С, % (24 h)                                                     | ВПКО<br>UQL<br>Верхний КК<br>High QC<br>Средний КК<br>Average QC<br>Низкий КК<br>Low QC<br>НПКО<br>LQL | <20<br><20<br><20<br><20<br><25                                                                                                                                                              | 104,8<br>90,0<br>91,8<br>90,6<br>86,0 | Соответствует<br>Corresponds |
| Стабильность аналита в матрице, хранящейся в условиях заморозки при температуре не выше –78 °С<br>Analyte stability in frozen matrix keeping at temperature not higher than –78 °С | ВПКО<br>UQL<br>Средний КК<br>Average QC<br>Низкий КК<br>Low QC<br>НПКО<br>LQL                          | <20<br><20<br><20<br><25                                                                                                                                                                     | 105,1<br>84,8<br>104,7<br>98,3        | Соответствует<br>Corresponds |

\*Для оценки валидационных параметров использовали образцы контроля качества (КК) (модельные смеси, полученные на основе сыворотки крови интактных животных) со следующими концентрациями пембролизумаба: 1000 нг/мл (5000 нг/мл с учетом разбавления) — верхний предел количественного определения (ВПКО); 750 нг/мл (3750 нг/мл с учетом разбавления) — высокий КК (75 % от ВПКО); 500 нг/мл (с учетом разбавления 2500 нг/мл) — средний КК; 30 нг/мл (с учетом разбавления 150 нг/мл) — низкий КК; 15,6 нг/мл (с учетом разбавления 78 нг/мл) — нижний предел количественного определения (НПКО). Образцы КК готовили независимо от калибровочных образцов, используя предварительно приготовленные сток-растворы пембролизумаба.

\*Quality control (QC) samples (model mixtures derived from intact animal serum) with the following concentrations of pembrolizumab were used to evaluate the validation parameters: 1000 ng/mL (5000 ng/mL including dilution) — upper quantification limit (UQL); 750 ng/mL (3750 ng/mL including dilution) — high QC (75 % of UQL); 500 ng/mL (2500 ng/mL including dilution) — average QC; 30 ng/mL (150 ng/mL including dilution) — low QC; 15.6 ng/mL (78 ng/mL including dilution) — lower quantification limit (LQL). QC samples were prepared independently of calibration samples using pre-prepared pembrolizumab stock solutions.

**Оценка фармакокинетики.** Широко известно, что филогенетическое родство представителей отряда приматов делает обезьян релевантной моделью для воспроизведения на них различных патологических состояний человека [25–29], а также оценки

фармакокинетики и иммуногенности биологических препаратов [30, 31]. Данные, полученные в экспериментах с участием обезьян, наиболее адекватно отражают аналогичные процессы у человека, а *Macaca fascicularis* является релевантным видом животных

для изучения фармакокинетических параметров препаратов на основе mAbs<sup>11</sup>.

На протяжении всего эксперимента после однократного внутривенного введения тестируемого препарата и препарата сравнения в дозе 30 мг/кг у животных не наблюдали клинических признаков интоксикации, а также видимых изменений в месте введения исследуемых объектов. Общее состояние и поведение животных соответствовало норме. На основании данных, полученных при еженедельной регистрации массы тела животных, не выявлено влияния однократного внутривенного введения сравниваемых препаратов на этот показатель (табл. 2).

Разработанная и валидированная методика определения концентрации пембролизумаба применена для анализа биопроб, полученных при проведении фармакокинетического эксперимента. Концентрации ниже НПКО принимали равными нулю. На рис. 2 приведены кривые «концентрация — время» пембролизумаба в сыворотке крови яванских макаков после однократного внутривенного введения тестируемого препарата и препарата сравнения.

В табл. 3 представлены основные фармакокинетические параметры исследуемых препаратов. При сопоставлении данных, полученных для тестируемого препарата и препарата сравнения, не выявлено статистически значимых различий ни для одного из сравниваемых фармакокинетических параметров —  $C_{\max}$  (рассчитанные как среднее значение наибольших измеренных значений),  $AUC_{0-1320}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ ,  $Cl$  (критерий Стьюдента,  $p > 0,05$ ),  $V_{ss}$ ,  $MRT$  и  $T_{1/2}$  (критерий Манна–Уитни,  $p > 0,05$ ).

Полученные значения основных фармакокинетических параметров для сравниваемых препаратов сопоставимы с данными литературы [32]<sup>12</sup> (см. табл. 3).

На основании полученных результатов показана сопоставимость фармакокинетических профилей тестируемого препарата RPH-075 (пембролизумаб) и препарата сравнения Китруда®.

### Заключение

На основании результатов сравнительного доклинического исследования фармакокинетики показано отсутствие влияния тестируемого препарата RPH-075 (Пембролизумаб), концентрат для приготовления раствора для инфузий (АО «Р-Фарм», Россия), в дозе 30 мг/кг и препарата сравнения Китруда®, концент-

Таблица 2. Масса тела животных ( $n = 4$ ,  $M \pm SEM^*$ )

Table 2. Animals body weight ( $n = 4$ ,  $M \pm SEM^*$ )

| День эксперимента<br>Day of experiment | Масса тела, кг<br>Body weight, kg                 |                                                         |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                        | объект исследования<br>study object               |                                                         |
|                                        | тестируемый препарат RPH-075<br>test drug RPH-075 | препарат сравнения Китруда®<br>reference drug Keytruda® |
| 1                                      | 6,0 ± 0,44                                        | 5,9 ± 0,54                                              |
| 7                                      | 5,9 ± 0,39                                        | 5,5 ± 0,57                                              |
| 14                                     | 5,9 ± 0,40                                        | 5,6 ± 0,59                                              |
| 21                                     | 5,9 ± 0,40                                        | 5,9 ± 0,77                                              |
| 28                                     | 6,1 ± 0,56                                        | 5,6 ± 0,60                                              |
| 38                                     | 6,0 ± 0,52                                        | 5,4 ± 0,57                                              |
| 42                                     | 6,1 ± 0,54                                        | 5,5 ± 0,58                                              |
| 49                                     | 6,2 ± 0,54                                        | 5,5 ± 0,58                                              |
| 56                                     | 6,1 ± 0,54                                        | 5,4 ± 0,59                                              |

\*Данные соответствовали закону нормального распределения. Дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA) не выявил влияния факторов «группа» и «повторность измерений» ( $p > 0,05$ ).

\*The data complied with the law of normal distribution. Analysis of variance with repeated measurements (ANOVA) did not reveal the influence of the “group” and “repetition of measurements” ( $p > 0.05$ ) factors.

рат для приготовления раствора для инфузий (ПУ: ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия), в такой же дозе при однократном внутривенном введении яванским макакам (*Macaca fascicularis*) на общее состояние и массу тела животных. Установлено, что тестируемый препарат RPH-075 (Пембролизумаб, АО «Р-Фарм», Россия) и препарат сравнения Китруда® (ПУ: ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия) обладали сопоставимыми фармакокинетическими профилями.

Создание биоаналогичного препарата в Российской Федерации позволит совершенствовать лечение пациентов с онкологическими заболеваниями, снизить стоимость лечения и увеличить число пациентов, получающих качественную медицинскую помощь.

<sup>11</sup>Australian Public Assessment Report for Denosumab Proprietary Product Name: Prolia. URL: <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/auspar-prolia.pdf>; CHMP assessment report for Prolia. International Nonproprietary Name denosumab. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/prolia-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/prolia-epar-public-assessment-report_en.pdf).

<sup>12</sup>EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf).

Таблица 3. Средние значения основных фармакокинетических параметров пембролизумаба при однократном внутривенном введении обезьянам исследуемых объектов в дозе 30 мг/кг (n = 4, M ± SD)

Table 3. Mean values of the main pharmacokinetic parameters of pembrolizumab after single intravenous administration in dose of 30 mg/kg to monkeys (n = 4, M ± SD)

| Фармакокинетический параметр<br>Pharmacokinetic parameter               | Тестируемый препарат<br>RPH-075<br>(пембролизумаб)<br>Test drug RPH-075<br>(pembrolizumab) | Препарат сравнения Китруда®<br>Reference drug Keytruda®       |                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
|                                                                         |                                                                                            | собственные экспериментальные данные<br>own experimental data | данные литературы [32] <sup>13</sup><br>literature data [32] <sup>13</sup> |
| C <sub>max</sub> , мкг/мл<br>C <sub>max</sub> , µg/mL                   | 1567 ± 405                                                                                 | 1541 ± 415                                                    | 1265 ± 73                                                                  |
| AUC <sub>0–1320</sub> , ч × мкг/мл<br>AUC <sub>0–1320</sub> , h × µg/mL | 156903 ± 47703                                                                             | 156879 ± 36461                                                | 152976 ± 18408                                                             |
| AUC <sub>0–∞</sub> , ч × мкг/мл<br>AUC <sub>0–∞</sub> , h × µg/mL       | 158127 ± 48439                                                                             | 158294 ± 36930                                                | 194976 ± 9984                                                              |
| V <sub>ss</sub> , мл/кг<br>V <sub>ss</sub> , mL/kg                      | 36,4 ± 8,8                                                                                 | 42,7 ± 8,4                                                    | 54,8 ± 5,7                                                                 |
| MRT, ч<br>MRT, h                                                        | 191 ± 62                                                                                   | 218 ± 18                                                      | Нет данных<br>No data                                                      |
| T <sub>1/2</sub> , ч<br>T <sub>1/2</sub> , h                            | 324 ± 169                                                                                  | 350 ± 133                                                     | 254,4 ± 9,6                                                                |
| Cl, мл/кг × ч<br>Cl, mL/kg × h                                          | 0,20 ± 0,07                                                                                | 0,20 ± 0,05                                                   | 0,15 ± 0,00                                                                |

Примечание. C<sub>max</sub> — максимальная концентрация; AUC — площадь под кривой «концентрация — время»; V<sub>ss</sub> — стационарный объем распределения; MRT — среднее время удерживания; T<sub>1/2</sub> — период полувыведения; Cl — клиренс.  
Note. C<sub>max</sub> — maximum concentration; AUC — area under the curve «concentration — time»; V<sub>ss</sub> — steady-state volume of distribution; MRT — mean residence time; T<sub>1/2</sub> — elimination half-life; Cl — clearance.

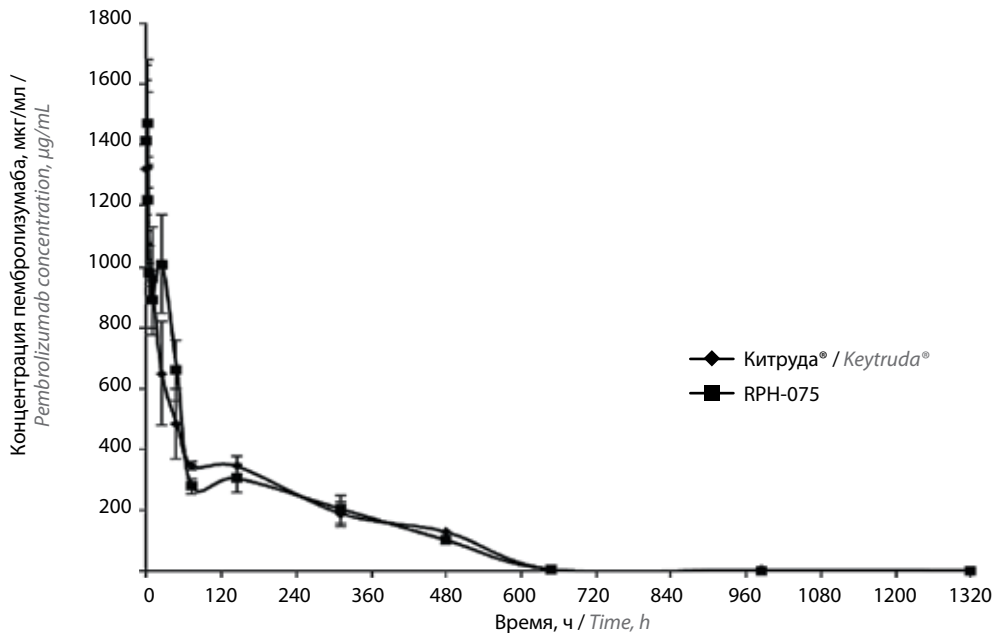


Рис. 2. Кривые «концентрация — время» пембролизумаба в сыворотке крови яванских макак после однократного внутривенного введения тестируемого препарата RPH-075 (пембролизумаб) и препарата сравнения Китруда® в дозе 30 мг/кг в линейных координатах (n = 4, M ± SEM)  
Fig. 2. Concentration — time curves of pembrolizumab in Macaca fascicularis serum after single intravenous administration of test drug RPH-075 (pembrolizumab) and reference drug Keytruda® 30 mg/kg at linear coordinates (n = 4, M ± SEM)

<sup>13</sup>EMA assessment report for Keytruda.

## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Centanni M., Moes D.J.A.R., Trocóniz I.F. et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of immune checkpoint inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2019;58(7):835–57. DOI: 10.1007/s40262-019-00748-2
- Desnoyer A., Broutin S., Delahousse J. et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of therapeutic monoclonal antibodies used in oncology: Part 2, immune checkpoint inhibitor antibodies. *Eur J Cancer* 2020;128:119–28. DOI: 10.1016/j.ejca.2020.01.003
- Jaffar-Aghaei M., Khanipour F., Maghsoudi A. et al. QbD-guided pharmaceutical development of Pembrolizumab biosimilar candidate PSG-024 propelled to industry meeting primary requirements of comparability to Keytruda®. *Eur J Pharm Sci* 2022;173:106171. DOI: 10.1016/j.ejps.2022.106171
- Ahamadi M., Freshwater T., Prohn M. et al. Model-based characterization of the pharmacokinetics of pembrolizumab: a humanized anti-PD-1 monoclonal antibody in advanced solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2017;6(1):49–57. DOI: 10.1002/psp4.12139
- Raedler L.A. Keytruda (pembrolizumab): first PD-1 inhibitor approved for previously treated unresectable or metastatic melanoma. *Am Health Drug Benefits*. 2015;8(Spec Feature):96–100.
- Longoria T.C., Tewari K.S. Evaluation of the pharmacokinetics and metabolism of pembrolizumab in the treatment of melanoma. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2016;12(10):1247–53. DOI: 10.1080/17425255.2016.1216976
- Гуторов С.Л., Борисова Е.И., Абрамов М.Е. и др. Немелкоклеточный рак легкого. Расширяя терапевтические возможности: пембролизумаб при ряде злокачественных опухолей. *Фарматека* 2017;8(341):71–5. Gutorov S.L., Borisova E.I., Abramov M.E. et al. Non-small cell lung cancer. Expanding therapeutic possibilities: pembrolizumab in a number of malignant tumors. *Farmateka = Pharmateca* 2017;8(341):71–5. (In Russ.).
- Самойленко И.В., Демидов Л.В. Пембролизумаб в лечении метастатической меланомы. *Медицинский совет* 2017;(6):8–23. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-6-8-23 Samoilenko I.V., Demidov L.V. Pembrolizumab in the treatment of metastatic melanoma. *Medsitskiy sovet = Medical Council* 2017;(6):8–23. (In Russ.). DOI: 10.21518/2079-701X-2017-6-8-23
- Румянцев А.А. Ленватиниб и пембролизумаб в лечении метастатического рака эндометрия: обзор литературы и клинический случай. *Медицинский совет* 2021;(20):124–28. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-20-124-128 Rumyantsev A.A. Lenvatinib and pembrolizumab in the treatment of metastatic endometrial cancer: literature review and case report. *Medsitskiy sovet = Medical Council* 2021;(20):124–28. (In Russ.). DOI: 10.21518/2079-701X-2021-20-124-128
- Кедрова А.Г., Беришвили А.И., Греян Т.А. Ленватиниб и пембролизумаб у больных распространенным раком тела матки. Опухоли женской репродуктивной системы 2020;16(3):72–80. DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-3-72-80 Kedrova A.G., Berishvili A.I., Greyan T.A. Lenvatinib and pembrolizumab in patients with advanced uterine cancer. *Oukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of female reproductive system* 2020;16(3):72–80. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-3-72-80
- Гафанов Р.А., Дзидзария А.Г., Кравцов И.Б., Фастовец С.В. Комбинация пембролизумаб + акситиниб: новый «золотой стандарт» в 1-й линии при метастатическом светлоклеточном почечно-клеточном раке? *Онкоурология* 2020;16(3):29–37. DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-3-29-37
- Gafanov R.A., Dzidzaria A.G., Kravtsov I.B., Fastovets S.V. Combination of pembrolizumab and axitinib: a new gold standard in the first-line therapy for metastatic clear-cell renal-cell carcinoma? *Onkourologiya = Cancer Urology* 2020;16(3):29–37. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-3-29-37
- Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J. et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013;49(6):1374–403. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.12.027
- Seiwert T.Y., Burtress B., Mehra R. et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016;17(7):956–65. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30066-3
- Kuruvilla J., Armand P., Hamadan M. et al. Pembrolizumab for patients with non-Hodgkin lymphoma: phase 1b KEYNOTE-013 study. *Leuk Lymphoma* 2023;64(1):130–9. DOI: 10.1080/10428194.2022.2136956
- Suzman D.L., Agrawal S., Ning Y-M et al. FDA approval summary: atezolizumab or pembrolizumab for the treatment of patients with advanced urothelial carcinoma ineligible for cisplatin containing chemotherapy. *Oncologist* 2019;24(4):563–9. DOI: 10.1634/theoncologist.2018-0084
- Diaz L.A. Jr, Shiu K.K., Kim T.W. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer (KEYNOTE-177): final analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2022;23(5):659–70. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00197-8
- Протасова А.Э., Страх Л.В., Ландо Е.И., Сидоркина Е.В. Метастатический рак шейки матки: клинический опыт применения пембролизумаба. *Современная онкология* 2021;23(2):340–4. DOI: 10.26442/18151434.2021.2.201009 Protasova A.E., Strakh L.V., Lando E.I., Sidorkina E.V. Metastatic cervical cancer: clinical experience with pembrolizumab application. Case report. *Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology* 2021;23(2):340–4. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2021.2.201009
- Bachu R.D., Abou-Dahech M., Balaji S. et al. Oncology biosimilars: New developments and future directions. *Cancer Rep (Hoboken)* 2022;5(11):e1720. DOI: 10.1002/cnr2.1720
- Федянин М.Ю., Снеговой А.В., Бредер В.В. и др. Токсичность, ассоциированная с ингибиторами иммунных контрольных точек: анализ иммуноопосредованных нежелательных явлений при применении биоаналога пембролизумаба (Пемброриа). *Безопасность и риск фармакотерапии* 2023;11(2):215–30. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-360 Fedyanin M.Yu., Snegovoy A.V., Breder V.V. et al. Toxicity associated with immune checkpoint inhibitors: analysis of immune-related adverse events with a pembrolizumab biosimilar (Pembroria). *Bezopasnost y risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2023;11(2):215–30. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-360
- Шестакова М.В., Викулова О.К. Биосимиляры: презумпция виновности? *Сахарный диабет* 2011;14(4):91–9. DOI: 10.14341/2072-0351-5825 Shestakova M.V., Vikulova O.K. Biosimilars: presumption of guilt. *Sakharniy diabet = Diabetes mellitus* 2011;14(4):91–9. (In Russ.). DOI: 10.14341/2072-0351-5825
- Ельцова Е.А., Раменская Г.В., Смолярчук Е.А., Бушманова А.В. Биосимиляры — препараты будущего. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015;(1):12–5.

- Eltsova E.A., Ramenskaya G.V., Smolyarchuk E.A., Bushmanova A.V. Biosimilars – drugs of the future. *Farmakokinetika i Farmakodinamika = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* 2015;(1):12–5. (In Russ.).
22. Watanabe T., Kiso M., Fukuyama S. et al. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. *Nature* 2013;501(7468):551–5. DOI: 10.1038/nature12392
  23. Hobson W. Safety assessment studies in nonhuman primates. *Int J Toxicol* 2000;19(2):141–7. DOI:10.1080/109158100224962
  24. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed* 2010;99(3):306–14. DOI: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007
  25. Долгов В.В., Морозова В.Т., Марцишевская Р.Л. Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей. М.: Центр, 1995. 214 с.  
Dolgov V.V., Morozova V.T., Marcishevskaya R.L. Clinical and diagnostic value of laboratory parameters. Moscow: Centr, 1995. 214 p. (In Russ.).
  26. Куксова М.И. Кроветворная система обезьян в норме и патологии. М.: Медицина, 1972. 128 с.  
Kuksova M.I. The hematopoietic system of monkeys is normal and pathological. Moscow: Medicina, 1972. 128 p. (In Russ.).
  27. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Крылова Р.И. и др. Проблемы инфекционной патологии обезьян. М.: Изд-во РАМН, 2004. 140 с.  
Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Krylova R.I. et al. Problems of infectious pathology of monkeys. Moscow: Izd-vo RAMN, 2004. 140 p. (In Russ.).
  28. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Фридман Э.П. Руководство по медицинской приматологии. М.: Медицина, 1987. 192 с.  
Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Fridman E.P. A guide to medical primatology. Moscow: Medicina, 1987. 192 p. (In Russ.).
  29. Wang H.W., Ying N., Wei S. et al. Reference data of clinical chemistry, haematology and blood coagulation parameters in juvenile cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Vet Med* 2018;57(5):233–8. DOI: 10.17221/5953-VETMED
  30. Fu J., Wang F., Dong L.H. et al. Preclinical evaluation of the efficacy, pharmacokinetics and immunogenicity of JS-001, a programmed cell death protein-1 (PD-1) monoclonal antibody. *Acta Pharmacol Sin* 2017;38(5):710–8. DOI: 10.1038/aps.2016.161
  31. Lopes J.E., Sun L., Flick H.L. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of nemvaleukin alfa, a selective agonist of the intermediate-affinity IL-2 receptor, in cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 2021;379(2):203–10. DOI: 10.1124/jpet.121.000612
  32. Hutchins B., Starling G.C., McCoy M.A. et al. Biophysical and immunological characterization and *in vivo* pharmacokinetics and toxicology in nonhuman primates of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab. *Mol Cancer Ther* 2020;19(6):1298–307. DOI: 10.1158/1535-7163

#### Вклад авторов

В.М. Косман: обсуждение результатов, подготовка текста публикации и иллюстраций;  
 М.В. Карлина: расчет фармакокинетических параметров, обсуждение результатов;  
 Т.Н. Барыбина: экспериментальная работа по валидации методики и анализу биопроб;  
 Н.М. Фаустова: курирование валидации методики и анализа биопроб;  
 А.А. Матичин: планирование и координация экспериментальной работы с животными;  
 В.Г. Макаров: утверждение финального текста статьи;  
 М.Н. Макарова: критический пересмотр публикации и иллюстраций;  
 А.А. Дмитриева: анализ данных литературы и планирование исследований; организация и координация исследования, обсуждение результатов исследования, редактирование текста рукописи;  
 Е.В. Шипаева: координация исследования, редактирование текста рукописи;  
 А.И. Подолькина: редактирование текста рукописи;  
 О.В. Филон: анализ данных литературы, планирование исследований, редактирование текста рукописи;  
 М.Ю. Самсонов: организация исследования, редактирование текста рукописи;  
 В.Г. Игнатьев: утверждение финального текста статьи.

#### Author's contributions

V.M. Kosman: results discussion, illustrations preparing;  
 M.V. Karlina: pharmacokinetic parameters calculation, results discussion;  
 T.N. Barybina: experimental work on assay validation and biosamples analysis;  
 N.M. Faustova: validation and analysis supervision;  
 A.A. Matichin: planning and coordination of experimental work with animals;  
 V.G. Makarov: approval of the final text of the article;  
 M.N. Makarova: critical revision of the publication and illustrations;  
 A.A. Dmitrieva: analysis of literature data and study planning, organization and coordination of the study, discussion of study results, editing of the manuscript text;  
 E.V. Shipaeva: study coordination, manuscript text editing;  
 A.I. Podolyakina: editing of the manuscript text;  
 O.V. Filon: analyzing literature data, planning studies, manuscript text editing;  
 M.Yu. Samsonov: study organization, manuscript text editing;  
 V.G. Ignatiev: approval of the final article text.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

В.М. Косман / V.M. Kosman: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>  
 М.В. Карлина / M.V. Karlina: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>  
 Т.Н. Барыбина / T.N. Barybina: <https://orcid.org/0000-0002-7428-9092>  
 Н.М. Фаустова / N.M. Faustova: <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>  
 А.А. Матичин / A.A. Matichin: <https://orcid.org/0000-0001-7478-4942>

В.Г. Макаров / V.G. Makarov: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>  
М.Н. Макарова / M.N. Makarova: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>  
А.А. Дмитриева / A.A. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0003-4743-6189>  
Е.В. Шипаева / E.V. Shipaeva: <https://orcid.org/0000-0002-5953-984X>  
А.И. Подолькина / A.I. Podolyakina: <https://orcid.org/0009-0002-5602-7926>  
О.В. Филон / O.V. Filon: <https://orcid.org/0000-0002-8735-7429>  
М.Ю. Самсонов / M.Yu. Samsonov: <https://orcid.org/0000-0003-2685-1623>  
В.Г. Игнатьев / V.G. Ignatiev: <https://orcid.org/0000-0003-2818-6583>

**Соответствие принципам этики.** Все исследования были выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Проведение исследований было одобрено на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», протокол заседания от 29.07.2022 № 1.34/22.

**Conformity of the principles of ethics.** All the experiments were performed according to the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The study was approved by the Bioethics Committee of the research-and-manufacturing company "HOME OF PHARMACY" (Approval No. 1.34/22 of 29.07.2022).

**Конфликт интересов.** Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией АО «Р-Фарм». Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

**Conflict of interest.** There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by JSC "R-Pharm", Russia. However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

**Финансирование.** Работа выполнена без государственного бюджетного финансирования при финансовой поддержке АО «Р-Фарм», Россия.

**Funding.** The study received no government budget funding; the work was supported by JSC "R-Pharm", Russia.

Статья поступила: 16.01.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: \*\*.2024.

Article received: 16.01.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: \*\*.2024.