

Метрология, стандартизация, контроль

УДК 61.615.11

Актуальные вопросы стандартизации в РФ биотехнологических лекарственных препаратов на основе моноклональных антител

© 2017 г. И.Г. ОСИПОВА*, О.А. ВАГАНОВА, Е.И. САКАНЯН

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения РФ, Москва 127051

e-mail: osipova@expmed.ru

Поступила в редакцию 17.05.2016

Принята в печать 13.07.2016

Обзор посвящен положению дел в области стандартизации ЛС и ЛП на основе моноАТ за рубежом и в России. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано или находится в процессе регистрации около 10 фармацевтических субстанций и 40 лекарственных препаратов моноклональных антител, которые успешно внедряются в современную медицинскую практику. Ведущие зарубежные фармакопеи (Европейская, Американская, Британская и др.) содержат монографии на эту группу лекарственных средств, однако в Государственной фармакопее Российской Федерации общие фармакопейные и фармакопейные статьи на лекарственные средства, содержащие моноклональные антитела, отсутствуют. В связи с этим представляются актуальными проведенные и описанные в настоящем обзоре исследования по разработке проекта ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения», предназначенной для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации. Этот проект учитывает особенности национальных производственных процессов, с одной стороны, и современные гармонизированные требования к лекарственным препаратам, содержащим моноклональные антитела, с другой.

Ключевые слова: общая фармакопейная статья, лекарственный препарат, моноклональные антитела, производство биотехнологических лекарственных препаратов, лекарственная форма, показатели качества.

doi: 10.1016/0234-2758-2017-33-1-80-90

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ НА ОСНОВЕ моноАТ

Открытия последних десятилетий в молекулярной генетике, биологии и химии позволили разработать и внедрить в практику методы идентификации изменения и переноса из одного организма в другой генов, кодирующих природные биологически активные вещества белкового происхождения. Использование экспрессии в различ-

ных биологических системах (бактериях, дрожжах, трансформированных клеточных линиях млекопитающих, в том числе, и человеческого происхождения, клетках насекомых и растений, а также трансгенных животных и растений) привело к созданию новых биотехнологических лекарственных препаратов, полученных с применением технологий рекомбинантных ДНК (rDNA) [1].

Гибридная технология получения моноклональных антител (моноАТ) отмеченная Нобе-

Список сокращений: ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств РФ; ГФ – Государственная фармакопея РФ; ЛП – лекарственный препарат; ЛС – лекарственное средство; МНН – международное непатентованное название; моноАТ – моноклональные антитела; ОФС – общая фармакопейная статья; CDR (Complementarity-Determining Region) – участок, определяющий комплементарность; EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines) – Европейский директорат по качеству лекарственных средств; EMA (European Medicines Agency) – Европейское агентство по лекарственным препаратам; FDA (Food and Drug Administration) – Управление по контролю пищевых продуктов и лекарств, США; ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) – Международный совет по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека; WHO (World Health Organization) – Всемирная организация здравоохранения.

левской премией (Kuhler and Milstein, 1984)¹, явилась новым этапом в развитии биотехнологии и медицины [2]. С применением моноклональных антител, как высокоспецифичных терапевтических агентов в медицинской практике появились новые возможности в области лечения многих заболеваний.

Особый интерес для медицинского применения представляют лекарственные средства, содержащие иммуноглобулины или их фрагменты [3].

Антигенсвязывающая активность антител обусловлена тремя «гипервариабельными» участками (CDR), расположенными в вариабельных участках легкой и тяжелой цепи (рис. 1).

Готовые лекарственные формы моноАТ (например, F(ab')₂, фрагмент иммуноглобулина), продуцируемые одним клоном клеток и характеризующиеся строгой специфичностью по отношению к конкретной антигенной детерминанте, могут быть изменены путем химических модификаций, таких, как включение радиоактивной метки, конъюгация с токсином, присоединение специфических веществ для доставки их к соответствующей мишени, химическое связывание двух молекул антител или их производных для создания антител с двойной специфичностью и т.п. Источником этих препаратов могут быть иммортализованные («бессмертные») В-лимфоциты в перевиваемой культуре клеток, а также клеточные линии, полученные на основе технологии рекомбинантной ДНК. Так, в химерных моноАТ константная часть мышиных антител замещена соответствующей константной областью иммуноглобулина человека, в результате чего данные антитела содержат в своей структуре более 65% последовательности человеческого иммуноглобулина (рис. 2)².

Поиски путей уменьшения доли «мышинного» белка в молекуле антитела привели к созданию так называемых гуманизированных антител, в которых мышьяная часть молекулы сокращена до антигенсвязывающих участков в вариабельной части иммуноглобулина. В результате гуманизированные антитела содержат примерно 90% человеческого иммуноглобулина. Более того, рекомбинантные (трансгенные) технологии (фаговый дисплей) были использованы для создания полностью человеческих моноклональных антител (fully human monoclonal antibodies) (см. рис. 2).

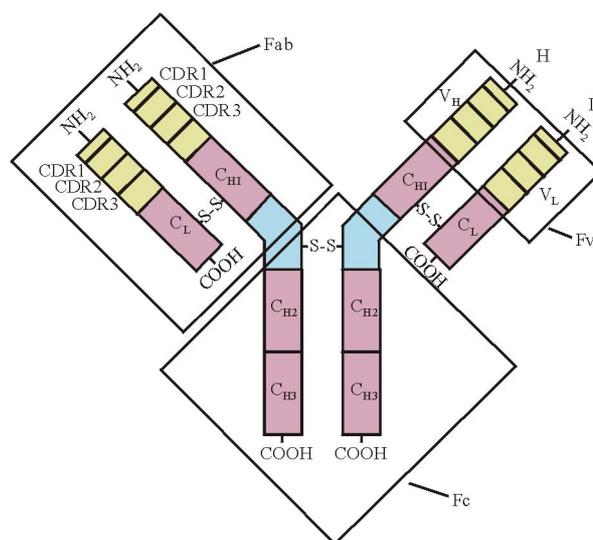


Рис. 1. Схема строения моноАТ: Н – тяжелая цепь; L – легкая цепь; CDR – гипервариабельные участки; Fab – антигенсвязывающие фрагменты; Fc – кристаллизирующийся фрагмент; V_H и V_L – вариабельные домены; Fv-фрагмент – N-концевая часть Fab-фрагмента, обладающая антигенсвязывающей активностью

Fig. 1. Scheme of mAb structure: H, heavy chain; L, light chain; CDR, hypervariable sites; Fab, antigen-binding fragments; Fc, crystallizing fragment; V_H and V_L, variable domains; Fv fragment, Fab fragment N-terminal portion with antigen-binding activity.

Согласно основным принципам выбора МНН для биологических и биотехнологических препаратов, все названия данного типа для соответствующих препаратов на основе моноАТ оканчиваются на «-mab» (-маб) (от *monoclonal antibody*). Если антителу получено от мыши, добавляется буква «o», и такие антитела получают окончание «-omab» (-омаб). Химерные антитела имеют окончание «-ximab» (-ксимаб). Гуманизированным антителам присвоено окончание «-zumab» (-зумаб), а полностью человеческим – «-umab» (-умаб) [4]. Все вышеуказанные разновидности моноАТ, продуцируемые клеточными линиями, модифицированы с использованием технологии рекомбинантной ДНК. Лекарственные препараты моноАТ, зарегистрированные или находящиеся на стадии регистрации в РФ³, представлены всеми группами указанной выше классификации (табл. 1).

¹ http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1984/press.html

² http://www.austroipa-interconvention.at/congress/esact2011_abstract/downloads/

³ <http://grls.rosminzdrav.ru/>

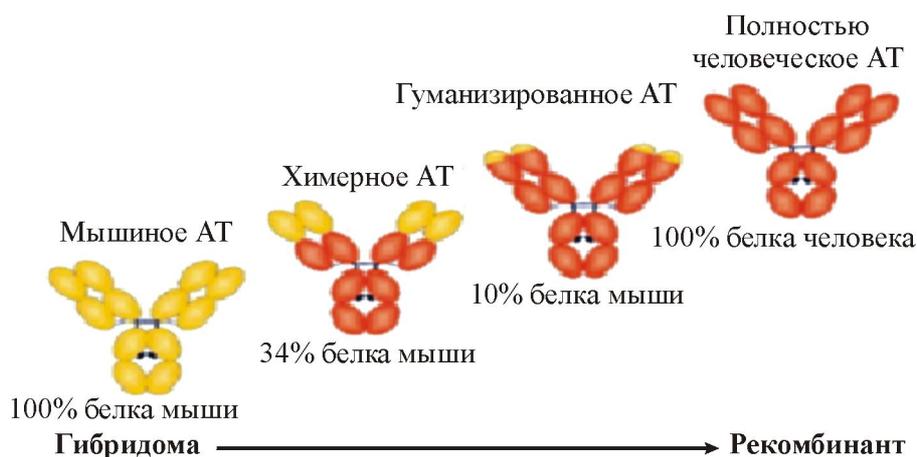


Рис. 2. Схема строения мышиных, химерных, гуманизованных и полностью человеческих антител

Fig. 2. Scheme of the structures of murine, chimerical, humanized and fully human antibodies

Биотехнологические препараты, и, в частности, лекарственные, являются в настоящее время наиболее активно развивающимся сегментом фармацевтического рынка России и зарубежных стран [5]. Интерес к ним отечественных производителей в немалой степени обусловлен тем обстоятельством, что в 2015 г. истекли сроки патентной защиты на большое количество лекарственных препаратов на основе моноАТ. Таким образом, в ближайшие годы на отечественный фармацевтический рынок ожидается выход значительного

числа воспроизведенных медикаментозных средств, содержащих моноклональные антитела.

На сегодняшний день в Российской Федерации зарегистрировано³ или находится в процессе регистрации около 10 фармацевтических субстанций и 40 лекарственных препаратов на основе моноАТ, которые успешно применяются в медицинской практике для лечения онкологических, аутоиммунных и аллергических заболеваний, а также в трансплантологии для профилактики и подавления реакции отторжения.

Таблица 1

Классификация МНН по происхождению моноклональных антител, зарегистрированных или находящихся в процессе регистрации в РФ

Classification by origin of INN for mAbs whose registration have been completed or is in progress in Russia

Название антитела	Международное непатентованное название*
Мышиное	Ибритумаб тиуксетан, Катумаксомаб
Химерное	Абциксимаб, Базиликсимаб, Брентуксимаб ведотин, Инфликсимаб, Ритуксимаб, Цетуксимаб
Гуманизованное	Алемтузумаб, Бевацизумаб, Ведолизумаб, Даклизумаб, Меполизумаб, Нимотузумаб, Натализумаб, Омализумаб, Паливизумаб, Пембролизумаб, Пертузумаб, Ранибизумаб, Респизумаб, Тоцилизумаб, Трастузумаб, Трастузумаб эмтанзин, Цертолизумаб пэгол, Экулизумаб, Эфализумаб
Полностью человеческое	Адалимумаб, Белимумаб, Голимумаб, Даратумаб, Деносумаб, Ипилимумаб, Канакинумаб, Ниволумаб, Офатумаб, Панитумаб, Секукинумаб, Устекинумаб, Эвалокумаб

*International Nonproprietary Names (INN) for biological and biotechnological substances // WHO/EMP/RHT/TSN/2016.1/<http://www.who.int/medicines/services/inn/BioReview2016.pdf?ua=1>

Увеличение номенклатуры лекарственных препаратов потребует создания фармакопейных стандартов качества и унификации требований, предъявляемых к их структуре и содержанию. Согласно Федеральному закону № 61 (ФЗ–61) «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 г. (с изменениями и дополнениями вступил в силу с 24.07.2015) «качество лекарственного средства – это соответствие лекарственного средства требованиям фармакопейной статьи либо в случае ее отсутствия нормативной документации или нормативного документа». Требования Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ) обязательны для всех организаций, занимающихся на территории России производством, изготовлением, хранением и применением лекарственных средств. В этой связи создание и утверждение Российских фармакопейных стандартов качества к лекарственным средствам, охватывающих все этапы их жизненного цикла, является чрезвычайно актуальной задачей. Рассмотрению данного вопроса и посвящен настоящий обзор.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ моноАТ ЗАРУБЕЖНЫМИ ФАРМАКОПЕЯМИ

В настоящее время ведущими мировыми контролирующими организациями, такими, как WHO, ICH, EMA, EDQM и FDA, разработаны основные регулирующие документы, которые одновременно носят общий характер (содержат требования и рекомендации ко всему жизненному циклу биотехнологических лекарственных средств – от разработки до обращения на рынке) и затрагивают отдельные, узкоспецифические вопросы производства, контроля качества, оценки биоаналогичности и сопоставимости биотехнологических препаратов. основополагающими считают документы ICH, поскольку на них в большинстве случаев ссылаются FDA и EMA в своих общих руководствах.

Только FDA выпущено более сотни различных общих и специализированных руководств, правил, отчетов и других документов различного уровня, посвященных биотехнологическим препаратам. В данном исследовании авторами прове-

ден анализ основных актуальных зарубежных документов, регламентирующих требования в области разработки, производства и контроля качества биотехнологических лекарственных средств.

При разработке препаратов на основе моноклональных антител и родственных им продуктов (фрагментов антител, гибридных белков, конъюгированных антител, биоспецифичных антител и др.) рекомендуется в первую очередь опираться на требования руководства EMA. Данное руководство включает информацию о необходимых объемах исследований, которые должны быть проведены в ходе разработки и характеристики лекарственного средства.

Общие требования к разработке фармацевтических субстанций, содержащих моноАТ, представлены также в руководстве⁴, где отдельные подразделы посвящены специфическим особенностям биотехнологических и биологических субстанций.

К комплексу документов, описывающих требования к разработке лекарственных препаратов на основе моноАТ, относятся также руководства^{5,6}, посвященные специальным вопросам использования биомаркеров при разработке лекарственного средства или биотехнологического препарата и методологии отбора геномных образцов для будущего использования.

FDA регламентировало требования к фармацевтическим разработкам биотехнологических и биологических лекарственных средств в специализированном руководстве⁷.

Технология производства и способы очистки лекарственных средств определяют структуру (в том числе и структуру высокого порядка) и функцию целевого продукта (например, фолдинг белка и взаимодействие с рецепторами), а также качественный и количественный состав родственных соединений и примесей в нем. При этом биотехнологический способ получения целевого препарата, подразумевающий использование живых систем, не предназначенных по природе своей для продукции абсолютно идентичных объектов, не позволяет воспроизводить абсолютно точную копию ЛС от серии к серии. Указанные особенности требуют крайне внимательного отношения к процессу производства ЛС на основе моноАТ, его

⁴ ICH Q11: Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological / biological entities)

⁵ ICH E16: Biomarkers related to drug or biotechnology product development: Context, structure and format of qualification (submissions)

⁶ ICH E18: Genomic sampling methodologies for future use

⁷ Development pharmaceuticals for biotechnological and biological products – Development pharmaceuticals for biotechnological and biological products – Annex to Note for Guidance on Development Pharmaceuticals.

обязательной валидации и постоянного совершенствования методов внутрипроизводственного контроля качества⁸.

Применение надлежащих мер контроля по отношению к технологическому процессу и качеству исходных материалов, используемых для производства лекарственных средств, играет не менее важную роль в обеспечении их воспроизводимого качества, чем всестороннее аналитическое исследование характеристик указанных препаратов.

Данный подход к контролю производства ЛС и других биотехнологических препаратов отражен в руководстве WHO⁸, новая, значительно обновленная и расширенная версия которого опубликована в 2014 г. и резюмирует тридцатилетний практический опыт специалистов в области производства и контроля биотехнологических препаратов.

Документ включает рекомендации, касающиеся всех аспектов жизненного цикла биотехнологических препаратов: производства и контроля качества, комплексной характеристики фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, внутрипроизводственного контроля, стабильности, доклинической и клинической оценки. Руководство служит в качестве дополнения к требованиям и положениям, изложенным в более ранних документах ICH, EMA и FDA.

Общие рекомендации WHO к производству лекарственных средств и других биологических ЛП включены также в документ «Надлежащая производственная практика производства биологических лекарственных препаратов»⁹.

Вышеупомянутое руководство WHO⁸ наряду с указанными документами является одним из важнейших руководств, содержащих требования к производству и контролю качества лекарственных средств. Кроме указаний по разработке документ включает требования к качеству

моноклональных антител, устанавливаемые на различных этапах производства. В руководстве также содержатся рекомендации по методам испытаний, описаны требования к чистоте лекарственных средств, содержанию в них примесей и контаминантов, а также к их вирусной безопасности.

Требования ЕМА к производству и контролю качества лекарственных средств изложены в руководстве¹⁰, а также трехстороннем гармонизированном руководстве ICH Q11⁴. В первом документе указано, что особое внимание следует уделять ключевым стадиям производственного процесса, несоблюдение режимов которых приводит к потере однородности, безопасности и эффективности ЛП. В руководстве¹¹ приведены требования к анализу используемого генетического материала, контролю банков клеток, очистке продукта, характеристике и чистоте действующего вещества, серийному контролю готового продукта; рассматриваются также вопросы подготовки спецификаций и стандартных образцов готового продукта.

В руководстве ICH Q11⁴ регламентированы различные вопросы производства фармацевтических субстанций, а именно, необходимость введения производственных этапов, позволяющих снижать содержание примесей, и проблемы валидации процесса производства и управления продуктом в течение его жизненного цикла. В документе обозначены критические характеристики качества фармацевтической субстанции и регламентированы требования к исходным материалам и исходному сырью.

Наряду со специализированным документом для лекарственных средств ЕМА¹² создан ряд общих руководств¹³ по субстанциям биологического происхождения, в которых содержатся требования к их производству, характеристике и контролю. Процесс валидации изготовления актив-

⁸ Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology/ Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, No. 814 – 2013

⁹ WHO GMP for Biological Products//http://www.who.int/biologicals/GMP_for_Biologicals_Draft3-V2_20150218.pdf

¹⁰ Process validation for the manufacture of biotechnology-derived active substances and data to be provided in the regulatory submission EMA/CHMP/BWP/187338/2014//

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/04/WC500205447.pdf

¹¹ Production and quality control of medicinal products derived by recombinant DNA technology (3AB1a)

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003433.pdf

¹² Guideline on development, production, characterisation and specification for monoclonal antibodies and related products // EMA/CHMP/BWP/532517/2008/

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/08/WC500211640.pdf

¹³ Guideline on the declaration of the quantitative composition / potency labelling of biological medicinal products that contain modified proteins as active substance/ EMA/CHMP/BWP/85290/2012//

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/03/WC500163595.pdf

ных субстанций, полученных биотехнологическим путем, и перечень информации, необходимой для включения в досье при подаче в регуляторный орган, рассмотрены в документе ЕМА¹⁰.

Вопросы качества биологически активных субстанций, полученных путем трансгенной экспрессии у животных, описаны в руководстве¹⁴.

Требования к использованию исходных материалов и промежуточных продуктов, полученных из различных источников, при производстве биологических лекарственных средств изложены в документе «Use of starting materials and intermediates collected from different sources in the manufacturing of biological medicinal products»¹⁵.

Детализации требований к клеточным линиям и банкам клеток, экспрессирующей системе, составу и свойствам исходного сырья и контролю качества экспрессирующей конструкции посвящено несколько отдельных регламентирующих изданий, раскрывающих и уточняющих требования, изложенные в общих руководствах. К таким специализированным документам относятся гармонизированные трехсторонние руководства ICH «Q5A–Q5E».

В руководстве ICH Q5A(R1)¹⁶ «Оценка вирусной безопасности биотехнологических продуктов, полученных из клеточных линий человеческого или животного происхождения» представлены подходы к оценке риска вирусной контаминации и элиминации вирусов из продукта, способствующие безопасности биотехнологических продуктов, получаемых из клеточных линий животного или человеческого происхождения.

Требования к определению характеристик экспрессионных конструкций, предназначенных для синтеза белковых продуктов и клеточных субстратов, используемых для производства ЛС, изложены в руководствах ICH Q5B¹⁷ и Q5D¹⁸, соответственно. В первом представлен анализ экспрессионной конструкции, применяемой в производстве белкового продукта и полученной методом рекомбинантной ДНК; определены характеристики конечного очищенного белка; регламентированы общие требования к системе банков

клеток и клеточному возрасту *in vitro*. Отдельный акцент в документе сделан на необходимости оценки аналитических данных по структуре нуклеиновых кислот и конечного очищенного белка для обеспечения надлежащего качества этого продукта.

Руководство ICH Q5D¹⁸ «Получение и характеристика клеточных субстратов, используемых для производства биотехнологических/биологических препаратов», дополняющее другие документы, регламентирующие производство лекарственных препаратов, содержит требования к представлению данных об источнике, истории и получении клеточного субстрата, о создании банка клеток и общих принципах характеристики и тестирования банков клеток.

Лекарственные препараты, содержащие в качестве действующего вещества белки и/или полипептиды, особенно чувствительны к окислению, действию света, различным факторам среды и других факторов, способных влиять на их биологическую активность, чистоту и качество. Поэтому для оценки стабильности биотехнологических препаратов утверждено отдельное руководство ICH Q5C¹⁹ «Испытания на стабильность биотехнологических/биологических препаратов», регламентирующее такие вопросы, как отбор серий, необходимых для создания репрезентативной выборки при контроле стабильности, а также перечень показателей качества биотехнологических продуктов, подлежащих проверке для подтверждения срока годности и оценки влияния различных факторов на биологическую активность, чистоту и молекулярные характеристики продукта.

В процесс производства ЛС, как на этапе разработки, так и после утверждения производственных регламентов, часто вносятся изменения, направленные на улучшение процесса, увеличение его масштабов, повышение стабильности продукта и др. Все они подлежат обязательному отслеживанию и наблюдению. Руководство Q5E²⁰ «Сопоставимость биотехнологических/биологических препаратов, которые подвержены изменениям в процессе их производства» формулирует принципы оценки биотехнологических продук-

¹⁴Quality of biological active substances produced by transgene expression in animals, CHMP/BWP/151897/2013// http://www.ema.europa.eu/ema//index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000864.jsp&mid

¹⁵http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/07/WC500145739.pdf

¹⁶ICH (Q5A(R1): Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin.

¹⁷ICH Q5B: Analysis of the expression construct in cells used for production of r-DNA derived protein products

¹⁸ICH Q5D: Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products.

¹⁹ICH Q5C: Stability testing of biotechnological/biological products

²⁰ICH Q5E: Comparability of biotechnological/biological products subject to changes in their manufacturing process.

тов, получаемых до и после внесения изменений в производство лекарственной субстанции или лекарственного препарата, с целью подтверждения того, что изменение процесса производства не оказало неблагоприятного воздействия на качество, эффективность и безопасность ЛС.

В ходе создания и стандартизации ЛС проводятся множественные физико-химические, биологические и иммунохимические исследования, на основе которых устанавливается диапазон изменения каждой характеристики фармацевтической субстанции и лекарственного препарата. В совокупности с данными по доклиническим и клиническим исследованиям они служат для определения допустимых норм изменения свойств данного препарата. Требования к процедуре испытаний и критериям приемлемости для биотехнологических/биологических препаратов содержатся в гармонизированных трехсторонних руководствах ИСН, содержащих описание спецификаций^{21,22}. Эти спецификации представляют собой список тестов, аналитических методик и критериев приемлемости, являющихся количественно выраженными допустимыми значениями, диапазонами значений и иными критериями для исследуемых характеристик.

ПЕРСПЕКТИВЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛП НА ОСНОВЕ моноАТ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Известно, что национальная фармакопея устанавливает стандарты качества ЛС данной страны, которые являются индикатором уровня развития и состояния национальной фармацевтической науки и промышленности. Проведенный анализ монографий зарубежных фармакопей показал, что Европейская, Украинская и Британская фармакопеи содержат монографию «Моноклональные антитела для применения человеком». При этом в Монографии Британской фармакопей указано, что ее требования соответствуют Статье 2031 Европейской фармакопей. В восьмом издании последней и в Британской фармакопее представлены следующие общие монографии: «Моноклональные антитела для медицинского применения» и «Генно-инженерные рекомбинантные лекарственные средства».

В фармакопее же США (USP 34) моноклональные антитела рассматриваются как фармакопейные продукты в монографии «Биотехнологические препараты» параллельно с лекарственными средствами, получаемыми методами рекомбинантных ДНК (rDNA).

Анализ европейского и мирового опыта в области регулирования обращения биотехнологических лекарственных средств позволил сформировать базис для создания национальных стандартов качества ряда стран. Однако до настоящего времени в Государственной фармакопее Российской Федерации общие фармакопейные статьи и фармакопейные статьи на биотехнологические лекарственные средства, в том числе на лекарственные препараты моноклональных антител и методы их анализа, не представлены.

В отличие от зарубежных стран в России стандартизация биотехнологических препаратов, в том числе содержащих моноклональные антитела, получила активное развитие только в последние годы. Самоопределение биотехнологических препаратов официально введено в законодательную практику только с 1 июля 2015 г. дополнительными положениями ФЗ–61. Согласно статье 4 указанного закона, «биотехнологические лекарственные препараты – лекарственные препараты, производство которых осуществляется с использованием биотехнологических процессов и методов (в том числе ДНК-рекомбинантной технологии, технологии контролируемой экспрессии генов, кодирующих биологически активные белки в прокариотах и эукариотах, включая измененные клетки млекопитающих), гибридного метода и метода моноклональных антител».

До 2015 г. на фармацевтическом рынке России, не считая отечественного препарата Ацеллбия (МНН Ритуксимаб, производства ЗАО «БИОКАД», Россия), присутствовали в основном лекарственные препараты на основе моноАТ зарубежного производства. Соответственно, при их регистрации и утверждении стандартов качества производителям приходилось ориентироваться на европейские и американские руководства и инструкции, регулирующие разработку, производство и контроль качества ЛС указанной группы. Следует отметить, что данные документы не имеют законодательной силы в России и носят исключитель-

²¹ ИСН Q6A: Примечания к руководству по спецификациям: процедуры испытаний и критерии приемлемости для биотехнологических/биологических продуктов («Note for guidance on specifications: test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products»).

²² ИСН Q6B: Тестирование образцов биологического происхождения («Tests on samples of biological origin»).

но рекомендательный характер [6]. Это не позволяло российским регулирующим органам настаивать на повышении уровня требований к лекарственному средству в случае возникновения разногласий по данному вопросу с производителем.

Вместе с тем, наличие препаратов данной группы на отечественном фармацевтическом рынке и их востребованность в медицинской практике делают актуальными исследования по разработке общей фармакопейной статьи (ОФС) «Моноклональные антитела для медицинского применения», предназначенной к использованию в отечественной практике и составленной с учетом особенностей национального производственного процесса и современных гармонизированных требований к лекарственным средствам. Проект ОФС проходит обсуждение в Фармакопейном Совете Минздрава РФ.

Как правило, официальные требования к лекарственному препарату определяются требованиями к лекарственной форме этого ЛП и включенной в его состав фармацевтической субстанции, а также общими требованиями к перечню показателей качества, регламентируемых ФС и/или нормативной документацией на ЛП. Необходим довольно продолжительный временной период, прежде чем будут выработаны, согласованы и официально приняты специфические требования к новой группе ЛС. Это обусловлено необходимостью накопления данных, связанных с медицинским применением и обращением нового ЛП.

Для решения задачи создания ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения» кроме обобщения требований зарубежных фармакопей был проведен анализ требований нормативной документации на лекарственные препараты, представленные на фармацевтическом рынке Российской Федерации и включенные в Государственный реестр ЛС (ГРЛС). Выяснилось, что фармакологическая группа «Антитела моноклональные» используется только в лекарственных формах для парентерального применения, таких, как концентрат для приготовления раствора для инфузий, растворы для инъекций, лиофилизаты, порошки для приготовления раствора для инъекций и наборы для приготовления радиофармацевтических растворов (табл. 2).

Необходимо отметить, что в отличие от самих ЛП и ЛС, которые не имеют полноценного представления в Государственной фармакопее РФ (за исключением ОФС «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК»²³, включенной в последнюю версию ГФ 13-го издания 2015 г. и создающей базу для разработки узкоспецифического стандарта качества для лекарственных средств), практически все лабораторные методы анализа для полноценного и эффективного контроля качества ЛП указанной группы содержатся в ГФ в виде ОФС. Многие из них включены в 13-е издание ГФ впервые: это ОФС «Хроматография», «Высокоэффективная жидкостная хроматография», «Капиллярный электрофорез», «Электрофорез в полиакриламидном геле», «Изоэлектрическое фокусирование» и др. Введение этих ОФС сделало не только актуальным, но и осуществимым на практике следующий шаг в стандартизации лекарственных средств на основе моноАТ – создание ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения».

Согласно ОФС «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК»²³, в фармакопейную статью и нормативную документацию на моноАТ были введены следующие показатели качества и методы анализа: «Описание», «Подлинность», «Чистота. Родственные соединения и посторонние примеси», «Гликановый профиль», «Специфическая активность», «Белок», «Полисорбат», «Количественное определение связанного с антителом фрагмента», «Стерильность», «Бактериальные эндотоксины», «Остаточные белки штамма–производителя» и «Остаточная ДНК штамма–производителя», а также «Осмолярность» и «Аномальная токсичность». Показатели качества «Гликановый профиль», «Полисорбат», «Остаточные белки штамма–производителя» и «Остаточная ДНК штамма–производителя» вводятся в фармакопейную статью и/или нормативную документацию на ЛП в случае, если фармацевтическая субстанция, используемая для его производства, не включена в ГРЛС РФ.

В соответствии с общими требованиями ГФ²⁴ в нормативную документацию на лекарственный препарат для парентерального применения также должны быть включены показатели, обязательные для растворов, концентратов, лио-

²³ Общая фармакопейная статья 1.7.1.0007.15 «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК», ГФ XIII Т.2, 2015, <http://femb.ru>

²⁴ Общая фармакопейная статья 1.4.1.0007.15 «Лекарственные формы для парентерального применения», ГФ. XIII Т.2, 2015, URL: <http://femb.ru>

Лекарственные формы препаратов, созданных на основе моноАТ и зарегистрированных в РФ**Dosage forms of mAbs registered in Russia**

Лекарственная форма	Назначение	Препараты
Лиофилизат - концентрат	Раствор для инфузий	Герцептин, Кадсила
	Раствор для внутривенного введения или инфузий	Бенлиста Герцептин, Ремикейд Симулект
	Раствор для подкожного введения	Иларис, Ксолар, Раптив
	Раствор для внутримышечного введения	Синагис
Порошок	Концентрат для инфузионного раствора	Адцетрис Энтивио
Концентрат	Раствор для инфузий	Авастин Актепра, Арзерра, Ацеллбия, Вектибикс, Зенапакс Кэмпас Мабтера, Перьета, Ремоваб, Солирис, Тизабри
Раствор	Инфузии	Ервой, Эрбитукс
	Подкожное введение	Герцептин, Мабтера, Пролиа Симпони Стелара, Симзия, Эксджива Хумира
	Внутривенное введение	РеоПро
	Внутриглазное введение	Луцентис
Набор для радиофармацевтического раствора	Внутривенное введение	Зевалин

филизатов (восстановленный раствор) и порошков: «Прозрачность», «Цветность», «рН», «Механические включения», «Осмоляльность». Для лекарственных препаратов, выпускаемых в форме лиофилизатов, введены такие показатели качества, как «Время восстановления препарата», «Вода», «Средняя масса и отклонения от средней массы»; для лекарственных препаратов, выпускаемых в форме растворов – «Извлекаемый объем».

ЛС имеют несколько разнонаправленных источников появления примесей и родственных соединений, что приводит к образованию сложного профиля чистоты.

В процессе биосинтеза живыми организмами ЛС могут приобретать характерную структурную гетерогенность и представлять собой смесь предполагаемых посттрансляционно модифици-

рованных форм. Гетерогенность также может формироваться в процессе производства и/или хранения лекарственного препарата. Источниками гетерогенности в лекарственных средствах могут являться процессинг С–концевого лизина, N–концевого пироглутамата, дезамидирование, окисление, изомеризация, фрагментация, несоответствие расположения дисульфидной связи, гликирование и др. Поэтому во всех стандартах качества на ЛС, содержащие моноАТ²⁵, показатели, регламентирующие их чистоту, значительно более многочисленны, чем в аналогичных стандартах качества на соединения других групп. Кроме того, оценка чистоты ЛС всегда включает использование комбинации независимых методов.

Согласно проекту ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения», родст-

²⁵ Production and quality control of monoclonal antibodies and related substances, EMEA/CHMP/BWP/157653/2007

венные соединения, родственные и посторонние примеси контролируются по таким показателям качества, как «Чистота. Родственные соединения и посторонние примеси», «Гликановый профиль» (контроль изоформенного состава, модификаций, отличающихся зарядами, содержания кислотных и основных форм белка, фрагментов, образовавшихся в результате действия гидролитических ферментов или химических соединений на пептидные связи, мультимеры и агрегаты), «Остаточные белки клетки-хозяина»; «Остаточная ДНК штамма-продуцента».

Чистота препарата и содержание родственных соединений оцениваются с помощью комплекса методов: электрофореза в полиакриламидном геле в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях; капиллярного электрофореза; изоэлектрофокусирования; высокоэффективной жидкостной хроматографии (оценка содержания кислотных и основных форм белка, основного компонента, агрегатов и фрагментов, модифицированных форм) и др.

Все случайно занесенные в целевой продукт объекты, не используемые в процессе производства (например, микробные протеазы и/или микроорганизмы, вирусы, микоплазмы, эндотоксины, пептидогликаны и др.) контролируются при испытании по показателям «Механические включения», «Стерильность», «Бактериальные эндотоксины», «Аномальная токсичность».

Аномальная токсичность²⁶ определяется во всех биологических препаратах, полученных с использованием методов рекомбинантных ДНК. Метод определения аномальной токсичности является биологическим и наиболее чувствительным методом оценки безопасности ЛП и отсутствия нежелательных примесей, идентификация которых иными методами затруднена.

В проект ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения» введен также показатель качества **«Вспомогательные вещества»**. Обычно в фармакопейные статьи и нормативные документы на другие группы ЛС не включаются разделы, посвященные контролю вспомогательных веществ. Контроль качества этой группы соединений осуществляется на внутрипроизводственном этапе. Однако для лекарственных средств на основе моноАТ наличие в их составе вспомогательных веществ (в том числе **полисорбатов**) принципиально и обусловлено способностью последних снижать абсорбцию белка на по-

верхности первичной упаковки (флакона, шприца или ампулы), уменьшать поверхностное натяжение между фазами воздух-жидкость и поддерживать третичную структуру белка при хранении и транспортировке. Вместе с тем, не только концентрация полисорбата, но и концентрация продуктов его распада может оказывать существенное влияние на качество и безопасность применения лекарственных препаратов.

В последние годы появились данные о проявлении реакции гиперчувствительности к различным препаратам при введении в их состав полисорбатов. Можно предположить, что подобную реакцию вызывают не сами полисорбаты, а их пероксидные производные и некоторые другие примеси [7,8]. Указанные данные, а также общая тенденция повышения требований приводят к тому, что определение содержания вспомогательных соединений, а также оценка их состава (в случае использования полисорбатов) является неотъемлемой частью раздела ОФС «Вспомогательные вещества» как процедура рутинного контроля.

Перечисленные показатели качества были включены в проект ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения», отражающей комплексный подход к обеспечению качества и стандартизации лекарственных препаратов на основе, с одной стороны, национальных требований, сформированных с учетом состояния системы обеспечения качества лекарственных средств в РФ, и гармонизации с международными требованиями, с другой стороны.

Таким образом, разработка фармакопейных требований к оценке качества лекарственных средств на основе моноАТ обеспечила комплексный подход к вопросам их стандартизации на основании национальных требований, сформированных с учетом системы обеспечения качества лекарственных средств в РФ. Материалы выполненных исследований включены в проект ОФС «Моноклональные антитела для медицинского применения» вошедший в 13-е издание ГФ. Внедрение результатов настоящего исследования существенно улучшит конкурентоспособность отечественных лекарственных средств и позволит обеспечить их соответствие требованиям мировых стандартов, а также будет способствовать повышению качества экспертизы ЛС при их регистрации и последующем обращении на фармацевтическом рынке РФ.

²⁶ Общая фармакопейная статья 1.2.4.0004.15 «Аномальная токсичность». ГФ XIII Т.1, 2015, <http://femb.ru>

ЛИТЕРАТУРА

1. Breedveld F. Therapeutic monoclonal antibodies. *Lancet*, 2000, 355, 735–740.
2. Kohler G., and Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *J. Immunol.*, 2005, 174, 2453–2455.
3. Carter P.J. Introduction to current and future protein therapeutics: a protein engineering perspective. *Exp. Cell Res.*, 2011, 317(9), 1261–1269.
4. International Nonproprietary Names (INN) for Biological and Biotechnological Substances. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya* (Clinical Microbiology and Antimicrobial Therapy), 2007, 9(2), 121–132.
5. Vaganova O.A., Efremova T.A., Mironov A.N. et al. Directions for improving of medicines of monoclonal antibodies. *Vedomosti Nauchnogo Tsentra Ekspertisy Sredstv Meditsinskogo Primeneniya* (Journal of the Research Center of Medical Preparations Expertise), 2014, 1, 32–39.
6. Assessment of quality of biological medicines obtained by the methods of recombinant DNA. A guidebook for medicine expertise, Moscow: Poligraf-Plus. 2014, 3(1), 4–24.
7. Dao T., Yan S., Veomett N., et al. Targeting the Intracellular WT1 Oncogene Product with a Therapeutic Human Antibody. *Science Translational Medicine*. 2013, 5 (176), 176ra33 DOI:10.1126/scitranslmed.3005661
8. Li Y., Wang X., and Yang Z. Neuron-specific enolase in patients with acute ischemic stroke and related dementia. *Chin. Med. J.*, 1995, 108(3), 221–223.

Actual Problems in Standardization in RF of Biotechnological Medical Products on the basis of Monoclonal Antibodies

I.G. OSIPOVA*, O.A. VAGANOVA, and E.I. SAKANYAN

The Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of RF, Moscow 127051, Russia

*e-mail: osipova@expmed.ru

Received May 17, 2016

Accepted July 13, 2016

Abstract—The present review is devoted to the state of art in the field of standardization of medicines based on monoclonal antibodies in this country and in abroad. At present, the registration of about 10 pharmaceutical substances and 40 dosage forms of monoclonal antibodies that are strongly embedded in the modern medical practice has been completed or is in progress in the Russian Federation. The leading Foreign Pharmacopoeias (USP, EP, BP, etc.) include monographs on this group of medicines. However, neither general monographs nor individual monographs on monoclonal antibodies dosage forms exist in the State Pharmacopoeia of Russian Federation. Therefore, it was topical to describe investigations on general monographs “Monoclonal antibodies for medical use” designed to be included in the State Pharmacopoeia of RF and taking into account characteristics of the here-existing processes, on one hand, and foreign requirements to modern harmonized dosage forms of monoclonal antibodies, on the other.

Key words: dosage form, general monograph, medical product, monoclonal antibodies, production of medical biopreparations, quality indicators.

doi: 10.1016/0234-2758-2017-33-1-80-90

Рег. № 1306 от 28.06.99

Выдано Министерством печати РФ

Издатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение
Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов
(ФГБУ ГосНИИГенетика)

Сдано в набор 01.02.17. Подписано в печать 09.03.17 Формат бумаги 60 × 88^{1/8}
Бумага офсетная. Офсетная печать. Печ. л. 10,25. Уч.-изд. л. 10,42. Усл.-кр. отт. 10,29. Тираж 200 экз.

Заказ № 231

Отпечатано с готового оригинала-макета в ООО "Типография Гарт"
105082, Москва, М. Почтовая, 12