

Номер. МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Anticorpora monoclonalia ad usum humanum

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на лекарственные средства на основе моноклональных антител для медицинского применения, включая конъюгаты. Их применяют для лечебных и профилактических целей, а также в диагностике *in vivo*. Требования и положения настоящей общей фармакопейной статьи не применяют к моноклональным антителам, используемым в качестве реактивов при производстве лекарственных препаратов. Данные требования также не применимы к моноклональным антителам, продуцируемым с накоплением в асцитической жидкости в случае, если требования к ним установлены уполномоченным органом.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Моноклональные антитела для медицинского применения представляют собой иммуноглобулины или фрагменты иммуноглобулинов, например, F(ab')₂, с установленной специфичностью, продуцируемые одним клоном клеток. Они могут быть конъюгированы с другими веществами, включая изотопы, предназначенные для радиоактивных меток.

Моноклональные антитела могут быть получены из иммортализованных В-лимфоцитов, клонированных и воспроизведенных в виде непрерывных линий клеток, или из линий клеток, созданных с использованием технологии рекомбинантной ДНК (рДНК).

В настоящее время с использованием технологии рДНК получают следующие типы моноклональных антител:

- *химерные моноклональные антитела*, в которых переменные домены тяжелых и легких цепей антител человека замещаются на соответствующие домены антител другого видового происхождения, обладающих необходимой антигенной специфичностью;
- *гуманизированные моноклональные антитела*, в которых 3 короткие гиперпеременные последовательности (участки, определяющие комплементарность, CDR) переменных доменов каждой цепи антитела другого видового происхождения встраиваются в структуру переменных доменов антитела человека; для улучшения связывания антигенов могут быть произведены и другие изменения последовательности;
- *рекомбинантные моноклональные антитела человека*, в которых переменные домены тяжелых и легких цепей антитела человека комбинируются с постоянными (константными) доменами антитела человека.

Моноклональные антитела, полученные из линий клеток, модифицированных по технологии рДНК, также должны соответствовать требованиям и положениям общей фармакопейной статьи *Номер. Лекарственные средства, полученные с использованием технологии рекомбинантной ДНК.*

ПРОИЗВОДСТВО

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Производство моноклональных антител основано на системе посевных материалов с использованием подходящей системы вектор/клетка-хозяин, а также главного банка клеток и рабочего банка клеток. Технологию производства валидируют в ходе разработки продукта с целью предупреждения передачи инфекционных возбудителей готовым продуктом. Все биологические материалы и клетки, используемые в производстве, должны быть охарактеризованы и соответствовать требованиям общей фармакопейной статьи *Номер. Минимизация риска передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных при применении медицинских и ветеринарных лекарственных препаратов.* При использовании в производстве моноклональных антител для медицинского применения материалов животного или человеческого происхождения также применяют требования общей фармакопейной статьи *2.3.1.3. Вирусная безопасность.* При использовании иммунизирующего антигена определяют его характеристики и описывают методику иммунизации.

Валидация процесса. При разработке лекарственного препарата процесс производства валидируют по следующим критериям:

- постоянство процесса производства, включая этапы культивирования клеток и ферментацию, очистку и любую последующую преднамеренную модификацию целевого белкового продукта;
- удаление или инактивация инфекционных возбудителей;
- надлежащее удаление родственных и производственных примесей (например, нежелательные молекулярные варианты, остаточные белки и ДНК клетки-хозяина, антибиотики, компоненты клеточной среды), а также материалов, используемых в ходе очистки целевого продукта;
- специфичность и биологическая активность моноклонального антитела;
- отсутствие пирогенных веществ неэндоксиновой природы, если применимо;
- возможность проведения повторной обработки продукта, если применимо;
- возможность повторного использования компонентов системы очистки (например, материал колонки), предельное содержание или критерии приемлемости, устанавливаемые на основании результатов валидации;

- используемые методы конъюгирования, если применимо.

Определение характеристик продукта. Продукт исследуют для получения объективной информации о его структурной целостности, изоформе, аминокислотной последовательности, вторичной структуре, углеводной части молекул, дисульфидных связях, конформации, специфичности, аффинности, биологической активности и гетерогенности (характеристика изоформ).

С этой целью используют ряд подходящих аналитических методов, позволяющих проводить химические, физические, иммунохимические и биологические испытания (пептидное картирование, секвенирование N- и C-концевых аминокислот, масс-спектрометрия, хроматографические, электрофоретические, спектроскопические и другие методы). Для получения информации о перекрестной реактивности с тканями человека выполняют дополнительные испытания.

Для продуктов, модифицированных путем фрагментации или конъюгации, также характеризуют воздействие применяемых методов на результаты испытания антител.

Промежуточные продукты. Для каждого промежуточного продукта, требующего хранения, устанавливают срок годности (срок хранения), подтвержденный данными о стабильности.

Количественное определение биологическими методами. Испытания выбирают, исходя из предполагаемого механизма действия моноклонального антитела.

Стандартные образцы. Для идентификации, количественного определения и других испытаний утверждают стандартный образец, полученный из серии препарата с доказанной стабильностью и эффективностью в клинических исследованиях или репрезентативной ей. Исследования проводят в соответствии с требованиями вышеуказанного раздела *Определение характеристик продукта* и характеризуют надлежащим образом в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза, исключая, при отсутствии необходимости, определение перекрестной чувствительности для каждой серии стандартного образца.

Определение серии. Так как серия продукции должна характеризоваться однородностью, на протяжении всего производственного процесса должно быть определено, что понимается под серией лекарственного препарата.

ИСТОЧНИКИ КЛЕТОК

К источникам клеток относятся участники слияния, лимфоциты, миеломные клетки, фидерные клетки и клетки хозяина для экспрессии рекомбинантных моноклональных антител.

Происхождение и характеристики родительских клеток должны быть документально описаны, включая информацию о состоянии здоровья доноров и используемых участников слияния (например, линия миеломных клеток, линия лимфобластоидных В-клеток человека).

По возможности источники клеток подвергают соответствующему скринингу на

наличие посторонних и эндогенных вирусов. Выбор вирусов для испытаний зависит от вида и происхождения тканей.

ЛИНИЯ КЛЕТОК, ПРОДУЦИРУЮЩАЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Пригодность линии клеток, продуцирующей моноклональные антитела, подтверждают:

- документально по истории линии клеток, включая описание слияния клеток, иммортализацию или трансфекцию и процедуры клонирования;
- характеристикой линии клеток (например, фенотип, анализ изоферментов, иммунохимические и цитогенетические маркеры);
- характеристикой соответствующих особенностей антител;
- постоянством критических показателей качества антитела до или после удвоения уровня популяции или числа генераций, используемых в рутинном производстве;
- для продуктов, полученных с использованием технологии рДНК, постоянством кодирующей экспрессионной конструкции в клетках, культивируемых до предельного возраста клеток *in vitro* (или более) для производственного использования или других целей путем проведения либо испытания на нуклеиновые кислоты, либо анализа продукта.

БАНКИ КЛЕТОК

Главный банк клеток представляет собой гомогенную суспензию линии клеток, продуцирующих моноклональные антитела, помещенную в равных объемах в индивидуальные контейнеры для хранения в рамках одной операции.

Рабочий банк клеток представляет собой гомогенную суспензию линии клеток, полученных из главного банка клеток при установленном уровне пассажей и помещенных в равных объемах в индивидуальные контейнеры для хранения в рамках одной операции.

Постпродукционные клетки представляют собой клетки, культивированные вплоть до (или более) уровня удвоения популяции клеток или количества генераций, используемых в рутинном производстве.

Главный банк клеток контролируют, проводя испытания на жизнеспособность, подлинность, отсутствие бактериальной, грибковой и микоплазменной контаминации, определение характеристик продуцируемых моноклональных антител. Контаминацию неэндогенными вирусами определяют с помощью ряда подходящих испытаний *in vivo* и *in vitro*, а контаминацию ретровирусами и другими эндогенными вирусами – с использованием ряда подходящих испытаний *in vitro*.

Рабочий банк клеток проверяют, проводя испытания на жизнеспособность, подлинность, отсутствие бактериальной, грибковой и микоплазменной контаминации. Контаминацию посторонними вирусами определяют с помощью ряда подходящих испытаний *in vivo* и *in vitro*. Для первичного рабочего банка клеток данные испытания выполняют на постпродукционных клетках, полученных из рабочего банка клеток. Для последующего рабочего банка клеток могут быть проведены единичные испытания *in vivo* и *in vitro*, либо непосредственно на клетках рабочего банка, либо на постпродукционных клетках.

Если при подготовке главного и рабочего банков клеток использовался потенциально контаминированный биологический материал, проводят испытания на наличие отдельных вирусов с учетом происхождения данного материала. Допускается не проводить испытание, если инактивация материала выполняется с использованием валидированных методик.

Постпродукционные клетки контролируют, проводя испытания на отсутствие бактериальной, грибковой и микоплазменной контаминации. Контаминацию посторонними вирусами определяют с помощью ряда подходящих испытаний *in vivo* и *in vitro*, а контаминацию ретровирусами и другими эндогенными вирусами – с использованием ряда подходящих испытаний *in vitro*.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И СБОР БИОМАССЫ

Производство с использованием ограниченного количества пассажей (однократный сбор). Клетки культивируют до установленного максимального количества пассажей, или до удвоения популяции, или до заданного времени сбора биомассы (в соответствии со стабильностью линии клеток). Сбор биомассы осуществляют в рамках одной операции.

Производство с непрерывным культивированием (многократный сбор). Клетки культивируют непрерывно в течение установленного периода времени (в соответствии со стабильностью системы и постоянством производства). Мониторинг необходимо проводить на протяжении всего периода культивирования. Требуемая частота и тип мониторинга будут зависеть от природы продуцирующей системы.

Каждый сбор проверяют, проводя испытания на содержание антител, бионагрузку, присутствие эндотоксинов и микоплазм. Общие или специфические испытания на посторонние вирусы проводят на соответствующей технологической стадии в зависимости от характера производственного процесса и используемых материалов. При производстве с использованием ограниченного количества пассажей (однократный сбор) посторонние вирусы определяют не менее чем в 3 сборах с помощью ряда подходящих испытаний *in vitro*.

Критерии приемлемости для сборов биомассы (необработанного нерасфасованного продукта) с целью последующей обработки должны быть четко определены и связаны с применяемым графиком мониторинга. При обнаружении любых посторонних вирусов процесс тщательно исследуют для установления причины контаминации, и дальнейшую обработку собранной биомассы не проводят. Сборы биомассы, в которых обнаружены эндогенные вирусы, не используют для очистки, если план соответствующих

мероприятий по предотвращению передачи инфекционных агентов в готовый продукт отсутствует.

ОЧИСТКА

Сборы биомассы или промежуточные пулы могут быть объединены перед дальнейшей обработкой. Процесс очистки включает этапы удаления и (или) инактивации безоболочечных и оболочечных вирусов. Для очистки используют валидированный процесс с подтвержденной эффективностью по удалению и (или) инактивации инфекционных агентов, родственных и производственных примесей. Четко разработанные этапы процесса обеспечивают получение очищенных моноклональных антител (активной фармацевтической субстанции) с постоянным качеством и биологической активностью.

АКТИВНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ СУБСТАНЦИЯ

Программа испытаний активной фармацевтической субстанции зависит от результатов валидации производственного процесса, подтверждения его постоянства и предполагаемого уровня родственных и производственных примесей. Испытания активной фармацевтической субстанции проводят по следующим показателям: описание (внешнего вида); идентификация; прозрачность; цветность; бионагрузка и бактериальные эндотоксины; родственные соединения; родственные и производственные примеси, включая содержание белков клетки-хозяина и ДНК клетки-хозяина; а также молекулярная идентичность и структурная целостность, содержание белка и биологическая активность, определенные с помощью подходящих аналитических методов, при необходимости, с использованием стандартного образца. Если активная фармацевтическая субстанция содержит конъюгированные или модифицированные антитела, должны быть выполнены соответствующие испытания до и после конъюгации или модификации.

Если предполагается хранение промежуточных продуктов, проводят соответствующую оценку их стабильности и влияния на качество или срок годности (срок хранения) лекарственного препарата.

ГОТОВЫЙ НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ

Для получения готового нерасфасованного продукта могут быть объединены одна или несколько серий активной фармацевтической субстанции. В процессе его получения допускается добавление соответствующих стабилизаторов и других вспомогательных веществ.

Готовый нерасфасованный продукт должен храниться в условиях, валидированных в отношении бионагрузки и стабильности.

ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ

Готовый нерасфасованный продукт стерилизуют методом мембранной фильтрации и расфасовывают в асептических условиях в стерильные контейнеры, после чего его могут подвергать лиофилизации.

В рамках производственного контроля каждый контейнер (флакон, шприц или ампула) после заполнения осматривают, отбрасывая те из них, которые содержат видимые частицы. При разработке лекарственного препарата должно быть доказано, что в процессе получения и хранения серии лекарственного препарата не происходит образования видимых белковых частиц или их количество снижено до обоснованного и разрешенного уполномоченным органом уровня.

Лекарственный препарат должен выдерживать требования на однородность массы (2.1.9.5) или извлекаемый объем (2.1.9.9).

СВОЙСТВА

Лекарственные препараты в жидкой лекарственной форме представляют собой прозрачную или опалесцирующую, бесцветную или слабоокрашенную жидкость. Лекарственный препарат в виде лиофилизата представляет собой белый или слабоокрашенный порошок или твердую рыхлую массу. После растворения лиофилизаты имеют те же характеристики, что и лекарственные препараты в жидкой лекарственной форме.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Подлинность устанавливают с помощью подходящих валидированных методик, сравнивая, если применимо, испытуемый лекарственный препарат со стандартным образцом. В испытаниях используют принцип ортогонального подхода с применением комплекса физико-химических и биологических методов. Подлинность подтверждают также при количественном определении.

ИСПЫТАНИЯ

Механические включения: видимые частицы (номер). Лекарственные препараты должны выдерживать испытание в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи *Номер. Механические включения: видимые частицы* при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье или нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Время растворения. Лекарственные препараты в виде лиофилизатов должны полностью растворяться в указанном объеме растворителя в течение времени, указанного в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Осмоляльность (2.1.2.32). Не менее 240 мОсмоль/кг при отсутствии других указаний в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Общий белок (2.1.5.14). Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, указанным в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Молекулярная идентичность и структурная целостность. В зависимости от природы моноклональных антител, их микрогетерогенности и изоформ для подтверждения молекулярной идентичности и структурной целостности может использоваться целый ряд различных испытаний. Такие испытания включают пептидное картирование, изоэлектрическое фокусирование, ионообменную хроматографию, хроматографию гидрофобных взаимодействий, олигосахаридное картирование, определение содержания моносахаридов и масс-спектрометрию.

Чистота. Для определения родственных и производственных примесей используют комплекс взаимодополняющих методов (жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез, эксклюзионная хроматография и др.).

Стабилизатор и другие вспомогательные вещества. Если применимо, лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, указанным в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Вода (2.1.5.12). Лекарственные препараты в виде лиофилизатов должны соответствовать требованиям, указанным в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Испытания, применяемые к модифицированным антителам. Выполняют соответствующие испытания в зависимости от типа модификации.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят подходящим биологическим методом с использованием стандартного образца. Дизайн испытания и расчет результатов выполняют в соответствии с общепринятыми принципами (изложенными, например, в общей фармакопейной статье 2.3.12.0. *Статистическая обработка результатов биологических испытаний лекарственных средств*).

ХРАНЕНИЕ

В соответствии с указаниями на этикетке лекарственного препарата.

Срок годности (срок хранения) рассчитывают от даты стерилизующей фильтрации, даты наполнения упаковки (для лекарственных препаратов в жидкой лекарственной форме) или даты лиофилизации (если применимо).

МАРКИРОВКА

На этикетке указывают:

- содержание белка в первичной упаковке;
- содержание (активность) моноклональных антител на миллилитр, если применимо;
- содержание (активность) моноклональных антител в первичной упаковке.