

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

ОФС.1.7.1.0014

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

1. 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. В испытаниях при подходящих условиях практически не содержат посторонних частиц.

Моноклональные антитела могут быть получены из иммортализованных В-лимфоцитов, клонированных и воспроизведённых 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 вариабельные домены тяжёлых и лёгких цепей антител человека замещаются на соответствующие домены антител другого видового происхождения, обладающие необходимой антигенной специфичностью;

– гуманизированные моноклональные антитела, в которых три короткие гипервариабельные последовательности (участки, определяющие комплементарность) вариабельных доменов каждой цепи антитела другого видового происхождения встраиваются в структуру вариабельных доменов антитела человека; для улучшения связывания антигенов могут быть произведены и другие изменения последовательности;

– рекомбинантные моноклональные антитела человека, в которых вариабельные домены тяжёлых и лёгких 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 *ОФС «Лекарственные средства, получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК»*.

2. ПРОИЗВОДСТВО

2.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Производство основано на системе посевных материалов с использованием главного банка клеток и, при необходимости, рабочего банка клеток, полученных из клонированных клеток. Технологию производства валидируют при фармацевтической разработке с целью предупреждения передачи инфекционных возбудителей с лекарственным препаратом. Все биологические материалы и клетки, используемые в производстве, должны быть охарактеризованы и соответствовать требованиям *ОФС «Минимизация риска контаминации лекарственных средств возбудителями губчатой энцефалопатии животных»*. При использовании в производстве моноклональных антител для медицинского применения материалов животного или человеческого происхождения также применяют требования *ОФС «Вирусная безопасность»*. При использовании иммунизирующего антигена определяют его характеристики и документируют метод иммунизации.

Валидация процесса. При разработке лекарственного средства процесс производства валидируют по следующим аспектам:

- постоянство процесса производства, включая этапы культивирования клеток и ферментацию, очистку и, если применимо, метод фрагментации;
- удаление или инактивация инфекционных агентов;

- надлежащее удаление родственных и производственных примесей (например, остаточные белки и ДНК клетки-хозяина, протеин А, антибиотики, компоненты культуральной среды);
- специфичность и биологическая активность моноклонального антитела;
- отсутствие пирогенных веществ неэндотоксиновой природы, если применимо;
- возможность повторного использования компонентов системы очистки (например, материал колонки); предельное содержание или критерии приемлемости устанавливают на основании результатов валидации;
- используемые методы конъюгирования, если применимо.

Определение характеристик продукта (моноклонального антитела).

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

Используют ряд подходящих аналитических методов, включая химические, физические, иммунохимические, биологические (например, пептидное картирование, секвенирование N- и C-концевых аминокислот, масс-спектрометрию, хроматографические, электрофоретические, спектроскопические методы). Для получения информации о перекрёстной реактивности с тканями человека проводят дополнительные испытания.

Для продуктов, модифицированных путём фрагментации или конъюгации, также характеризуют влияние используемых методов на моноклональное антитело.

Промежуточные продукты. При хранении промежуточных продуктов для каждого из них устанавливают срок годности или период хранения, обоснованные 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 стандартного образца проводят в соответствии с требованиями пункта *Определение характеристик продукта (моноклонального антитела)*, при этом перекрёстную реактивность нет необходимости определять для каждой серии стандартного образца.

Определение серии. На протяжении всего производственного процесса должно быть определено, что принимается за серию лекарственного средства.

2.2. ИСТОЧНИКИ КЛЕТОК

К источникам клеток относят участников слияния, лимфоциты, миеломные клетки, фидерные клетки и клетки-хозяина для экспрессии рекомбинантных моноклональных антител.

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

По возможности исходные клетки подвергают соответствующему скринингу на наличие посторонних и эндогенных контаминирующих агентов. Выбор вирусов для испытаний зависит от вида и происхождения тканей.

2.3. КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ, ПРОДУЦИРУЮЩАЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Пригодность клеточной линии, производящей моноклональные антитела, подтверждают:

- документально по истории клеточной линии, включая описание слияния клеток, иммортализацию или трансфекцию и процедуру клонирования;
- характеристикой клеточной линии (например, фенотип, анализ изоферментов, иммунохимические и цитогенетические маркёры);
- характеристикой соответствующих особенностей антител;
- постоянством критических показателей качества антитела до или после удвоения уровня популяции или количества генераций, используемых в рутинном производстве;
- для продуктов, полученных с использованием технологии рДНК, постоянством кодирующей экспрессионной конструкции в клетках, культивируемых до предельного для производства клеточного возраста *in vitro* (или более) или для других целей путём проведения либо испытания на нуклеиновые кислоты, либо количественного определения моноклонального антитела.

2.4. БАНКИ КЛЕТОК

Главный банк клеток представляет собой гомогенную суспензию клеточной линии, производящей моноклональные антитела, помещённую в равных объёмах в индивидуальные контейнеры для хранения в рамках одной операции.

Рабочий банк клеток представляет собой гомогенную суспензию клеточной линии, полученную из главного банка клеток при установленном уровне пассажей и помещённую в равных объёмах в индивидуальные контейнеры для хранения в рамках одной операции.

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

Для контроля главного банка клеток проводят испытания на жизнеспособность, подлинность, отсутствие бактериальной, грибковой и микоплазменной контаминации, определение характеристик производимых

моноклональных антител. 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*.

Для контроля рабочего банка клеток проводят 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 первого рабочего банка клеток данные испытания выполняют на послепроизводственных клетках, полученных из этого рабочего банка клеток. Для последующих рабочих банков клеток могут быть проведены единичные испытания *in vivo* и *in vitro*, либо непосредственно на клетках рабочего банка, либо на послепроизводственных клетках.

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

Для контроля послепроизводственных клеток проводят 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*.

3. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И СБОР БИОМАССЫ

3.1. 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 клеточной линии). Сбор биомассы осуществляют в рамках одной операции.

3.2. 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 производственной системы.

Для контроля каждого сбора проводят 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 трёх сборах с помощью ряда подходящих испытаний *in vitro*.

Критерии пригодности сбора биомассы для дальнейшей обработки должны быть чётко 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. Сбор биомассы, в котором обнаружены эндогенные вирусы, не используют для очистки, если не определён план соответствующих мероприятий по предотвращению передачи инфекционных агентов.

4. ОЧИСТКА

Сборы биомассы или промежуточные пулы могут быть объединены перед дальнейшей обработкой. Процесс очистки включает этапы удаления и(или) иактивации безоболочечных и оболочечных вирусов. Для очистки

используют валидированный процесс с подтверждённой эффективностью по удалению и(или) инактивации инфекционных агентов, родственных и производственных примесей. Чётко разработанные этапы процесса обеспечивают получение очищенных моноклональных антител (субстанции (действующего (активного) вещества)) с постоянным качеством и биологической активностью.

5. СУБСТАНЦИЯ (ДЕЙСТВУЮЩЕЕ (АКТИВНОЕ) ВЕЩЕСТВО)

Программа испытаний субстанции (действующего (активного) вещества) зависит от результатов валидации производственного процесса, подтверждения его постоянства и предполагаемого уровня родственных и производственных примесей. Испытания субстанции включают описание внешнего вида, идентичность, бионагрузку и бактериальные эндотоксины, родственные соединения, родственные и производственные примеси (включая белки клетки-хозяина и ДНК клетки-хозяина), а также структурную целостность, содержание белка и биологическую активность с помощью подходящих аналитических методов, сравнивая со стандартным образцом, где это необходимо. Если субстанция содержит конъюгированные или модифицированные антитела, должны быть выполнены соответствующие испытания до и после конъюгации или модификации.

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

6. ГОТОВЫЙ НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ

Для получения готового нерасфасованного продукта может быть использована одна или объединены несколько серий субстанции (действующего (активного) вещества). В процессе получения готового нерасфасованного продукта допустимо добавление соответствующих стабилизаторов и других вспомогательных веществ.

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

7. ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ

Готовый нерасфасованный продукт стерилизуют методом мембранный фильтрации и расфасовывают в асептических условиях в стерильные первичные упаковки. Затем продукт может быть подвергнут лиофилизации.

В рамках внутрипроизводственного контроля каждую упаковку (флакон, шприц или ампула) после заполнения осматривают, удаляя из серии («отбраковывая») те из них, которые содержат видимые частицы.

При разработке лекарственного препарата должно быть доказано, что в процессе его производства и хранения не происходит образования видимых белковых частиц или их количество снижено до обоснованного и разрешённого уровня.

7.1. ОПИСАНИЕ

Лекарственные препараты в жидкой лекарственной форме представляют собой прозрачную или опалесцирующую, бесцветную или слабоокрашенную жидкость.

Лекарственные препараты в виде лиофилизата представляют собой белый или слабоокрашенный порошок, или твёрдую рыхлую массу. После растворения лиофилизаты имеют те же характеристики, что и лекарственные препараты в жидкой лекарственной форме.

7.2. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Подлинность устанавливают с помощью подходящих валидированных методов, используя, где применимо, стандартный образец. Количественное определение также позволяет подтвердить подлинность.

7.3. ИСПЫТАНИЯ

Прозрачность (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»). Жидкие или восстановленные лиофилизированные

препараты должны соответствовать установленным для конкретного лекарственного препарата нормам.

Цветность (*ОФС «Степень окраски жидкостей»*). Жидкие или восстановленные лиофилизированные препараты должны соответствовать установленным для конкретного лекарственного препарата нормам.

Видимые механические включения (*ОФС «Механические включения: видимые частицы»*). Если иное не обосновано, лекарственный препарат должен выдерживать испытание.

Требования не распространяются на лекарственные препараты, в информации к которым указано, что они должны использоваться с конечным фильтром, при условии, что фильтр обеспечивает получение раствора, выдерживающего данное испытание.

Время растворения. Лекарственные препараты в виде лиофилизатов должны полностью растворяться в указанном объёме растворителя в течение установленного времени.

pH (*ОФС «Потенциометрическое определение pH»*). Лекарственный препарат должен соответствовать установленным требованиям.

Оsmоляльность (*ОФС «Осмоляльность и осмолярность»*). Не менее 240 мОsmоль/кг, если иное не обосновано и не разрешено.

Извлекаемый объём (*ОФС «Испытание на извлекаемый объём парентеральных лекарственных препаратов»*). Лекарственный препарат должен выдерживать испытание.

Общий белок (*ОФС «Определение белка»*). Лекарственный препарат должен соответствовать установленным требованиям.

Молекулярно-массовое распределение. Определяют молекулярно-массовое распределение подходящим методом, например, методом гель-хроматографии (*ОФС «Эксклюзионная хроматография»*). Лекарственный препарат должен соответствовать установленным требованиям.

Молекулярная идентичность и структурная целостность. В зависимости от природы моноклонального антитела, его микрогетерогенности

и изоформ для подтверждения молекулярной идентичности и структурной целостности может быть использован ряд различных испытаний. Такие испытания могут включать пептидное картирование, изоэлектрическое фокусирование, ионообменную хроматографию, хроматографию гидрофобных взаимодействий, олигосахаридное картирование, определение содержания моносахаридов, масс-спектрометрию.

Чистота. Испытания по определению родственных и производственных примесей проводят подходящими валидированными методиками. Если испытания по определению производственных примесей были проведены на субстанции или готовом нерасфасованном продукте с удовлетворительным результатом, эти испытания могут не проводиться на лекарственном препарате.

Стабилизатор. Где применимо, лекарственные препараты должны соответствовать установленным требованиям.

Вода (*ОФС «Полумикроопределение воды»*). Лиофилизированные лекарственные препараты должны соответствовать установленным требованиям.

Стерильность (*ОФС «Стерильность»*). Лекарственные препараты должны выдерживать требования испытания на стерильность.

Бактериальные эндотоксины (*ОФС «Бактериальные эндотоксины»*). Лекарственные препараты должны соответствовать установленным требованиям.

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

7.4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Испытания проводят подходящим биологическим методом в сравнении со стандартным образцом. Разработку методики испытания и расчёт результатов выполняют в соответствии с общепринятыми принципами

(например, ОФС «Статистическая обработка результатов биологических испытаний лекарственных средств»).

7.5. ХРАНЕНИЕ

В соответствии с указаниями на упаковке.

Срок годности рассчитывают с даты стерилизующей фильтрации, даты розлива (для жидких препаратов) или даты лиофилизации (где применимо).

7.6. ИНФОРМАЦИЯ О МАРКИРОВКЕ

Указывают:

- количество единиц на миллилитр, где применимо;
- содержание белка в первичной упаковке;
- содержание (активность) моноклональных антител в первичной упаковке;
- для жидких лекарственных препаратов объём препарата в первичной упаковке;
- для лиофилизированных лекарственных препаратов:
 - название и объём растворителя;
 - период времени, в течение которого лекарственный препарат (моноклональное антитело) должен быть использован после восстановления;
 - разбавление лекарственного препарата перед применением, если применимо;
 - использование конечного фильтра для раствора, если применимо.