2.3.19.1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Данная общая фармакопейная статья содержит общие сведения о биологических лекарственных препаратах, особенностях их производства и контроля качества.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В фармакопейных целях к биологическим лекарственным препаратам (БЛП) относят лекарственные препараты, действующее (активное) вещество которых произведено или выделено из биологического источника и для характеристики свойств которых обычно применяют комплекс биологических и физико-химических методов анализа совместно с оценкой производственного процесса и методов его контроля.

Среди БЛП выделяют следующие группы:

– по влиянию на иммунитет (например, иммунологические (иммунобиологические) лекарственные препараты);

– по способу получения (например, биотехнологические лекарственные препараты, высокотехнологичные лекарственные препараты);

– лекарственные препараты из крови человека и плазмы крови человека (например, лекарственные препараты факторов свертывания крови человека);

– лекарственные препараты, содержащие в качестве активных фармацевтических субстанций живые микроорганизмы (например, лекарственные препараты пробиотиков) или живые вирусы (например, лекарственные препараты бактериофагов);

– лекарственные препараты, содержащие активные фармацевтические субстанции нерекомбинантного происхождения, произведенные или выделенные из биологических источников (тканей, жидкостей и органов человека, сырья животного происхождения, микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности).

В фармакопейных целях к БЛП не относят цельную кровь, плазму и клетки крови человека (за исключением плазмы крови, приготовленной по методу, включающему промышленный процесс), а также низкомолекулярные продукты ферментации, например, антибиотики.

Требования, применимые к производству и контролю высокотехнологичных лекарственных препаратов, имеют значительные отличия от других БЛП, поэтому данная общая фармакопейная статья не распространяется на высокотехнологичные лекарственные препараты.

Выбор вида и объема фармацевтических и биологических испытаний, доклинической и клинической оценки БЛП должен осуществляться с учетом особенностей исходного сырья и технологического процесса производства в соответствии с актами Евразийской экономической комиссии в сфере регулирования обращения биологических лекарственных средств. В состав БЛП могут входить вспомогательные вещества различного функционального назначения (стабилизаторы, адъюванты, консерванты, наполнители и др.).

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Адъювант – химическое или биологическое вещество, усиливающее иммунную реакцию на антиген и (или) увеличивающее продолжительность иммунитета.

Антигены – чужеродные белки, токсины и др., вызывающие при введении специфический иммунный ответ.

Антитела – белки (иммуноглобулины), синтезированные В-лимфоцитами, которые специфически связываются с антигенами, индуцировавшими их синтез. В зависимости от метода производства выделяют два главных типа антител: моноклональные антитела и поликлональные антитела.

Банк клеток – набор контейнеров, каждый из которых содержит аликвоту одного пула клеток, хранящийся в определенных условиях.

Биотехнологические лекарственные препараты – лекарственные препараты, произведенные при помощи биотехнологических процессов и применения методов с использованием технологии рекомбинантной ДНК, контролируемой экспрессии генов, кодирующих выработку биологически активных белков, гибридомных технологий, моноклональных антител или других биотехнологических процессов.

Вектор – молекула нуклеиновой кислоты (чаще всего участок ДНК), используемая в качестве носителя для переноса чужеродного генетического материала от одной клетки (или организма) к другой (другому), например, плазмиды, вирусные векторы.

Вектор экспрессии – рекомбинантный вектор с нуклеотидной последовательностью, кодирующей белок, и содержащий регуляторные элементы, необходимые для ее экспрессии.

Высокотехнологичные лекарственные препараты – лекарственные препараты, относящиеся к следующим видам лекарственных препаратов для медицинского применения: генотерапевтические лекарственные препараты; лекарственные препараты на основе соматических клеток; тканеинженерные лекарственные препараты (препараты тканевой инженерии).

Главный банк клеток (ГБК) – аликвоты единого пула клеток, как правило, полученного из выбранного клона клеток в заданных условиях, которые распределены по множеству ёмкостей и хранятся в заданных условиях. ГБК применяют для получения всех рабочих банков клеток. При отсутствии другого обоснования результаты испытания, проводимые на новом ГБК (полученном из предшествующего первоначального клона клеток или ГБК), должны совпадать с результатами испытаний предшествующего ГБК.

Готовый нерасфасованный продукт – лекарственное средство на этапе производства лекарственного препарата, предшествующем фасовке в первичную упаковку.

Иммунологические (иммунобиологические) лекарственные препараты – лекарственные препараты, предназначенные для формирования активного или пассивного иммунитета, или диагностики наличия иммунитета, или диагностики (выработки) специфического приобретенного изменения иммунологического ответа на аллергизирующие вещества (вакцины, анатоксины, токсины, сыворотки, иммуноглобулины и аллергены).

Клетка-хозяин (мн. ч. клетки-хозяина) – клетки микроорганизмов или эукариотических клеточных линий, используемые для получения белков или пептидов, до встраивания в них вектора экспрессии.

Клеточная культура – популяция клеток, полученная в результате выращивания *in vitro* клеток, изолированных от многоклеточных организмов;

Клеточная линия – совокупность клеток, полученная из первичной культуры путем увеличения количества клеток после нескольких генераций с преобладанием клеток или линий дифференцировки с высоким темпом роста и высокой однородностью клеточной культуры. Как только первичная культура посеяна, она называется клеточной линией.

Клон – популяция генетически идентичных организмов или клеток.

Пассаж микроорганизма – перенос микроорганизма из одной питательной среды в другую среду или от одного хозяина (животного, культуры клеток и пр.) другому.

Плазмида – часть ДНК, обычно в виде кольцевой структуры, отделенной от клеточной хромосомы, которая способна реплицироваться автономно. Плазмида может быть модифицирована с помощью методов молекулярной биологии, выделена из бактериальной клетки и использована для переноса и встраивания ее ДНК в геном другой клетки.

Производственный штамм – штамм микроорганизмов, который хранится на производстве в определенных условиях и используется для производства БЛП.

Промежуточный продукт – материал, получаемый на технологических стадиях производства БЛП и охарактеризованный по определенному перечню показателей качества.

Рабочий банк клеток - аликвоты гомогенной суспензии клеток, полученной на определенном уровне пассажа при культивировании ГБК в заданных условиях.

Ферментация – поддержание или размножение клеток микроорганизмов *in vitro* в условиях аксеничной культуры.

Чистая культура микроорганизмов (аксеничная культура) – культура, представленная микроорганизмами только одного вида, характеризующимися общими морфологическими, культуральными, антигенными, биохимическими и другими свойствами.

Штамм-продуцент – система «вектор экспрессии/клетка-хозяин».

ПРОИЗВОДСТВО

Производство БЛП имеет ряд особенностей, связанных с уникальностью технологических процессов (например, культивирование производственных штаммов микроорганизмов, штаммов-продуцентов, эукариотических клеточных культур, экстракция веществ из биологических тканей и крови человека и животных и др.), вариабельностью свойств исходного сырья, что обуславливает сложность поддержания постоянства характеристик лекарственного препарата, в том числе спектра и природы родственных и производственных примесей. Любые изменения в производственном процессе БЛП оказывают влияния на характеристики лекарственного препарата, в том числе на его эффективность и безопасность. По этой причине на производственный процесс БЛП распространяются особые правила и рекомендации, соблюдение которых обеспечивает надлежащее качество лекарственных препаратов.

Стратегия контроля качества БЛП должна учитывать основные принципы обеспечения качества и базироваться на оценке риска с учетом данных контроля исходного сырья и материалов, контроля критичных параметров на промежуточных этапах производства с использованием подходящих методов, валидации процесса производства с целью подтверждения стабильности производимых серий, сопоставимых с сериями, имеющими доказанную клиническую эффективность и безопасность. Должна быть установлена эффективность каждого этапа очистки в отношении удаления и(или) инактивации посторонних агентов и примесей, источником которых могут быть клетки-хозяина (ДНК), штамм-продуцент (вирусы и вирусные частицы, белки), а также в отношении удаления примесей, связанных с процессом производства, например, гетерологичных белков (компоненты питательных сред, иммуносорбенты для афинной хроматографии др.). Процесс производства лекарственных препаратов из плазмы крови человека должен включать не менее двух эффективных взаимодополняющих стадий вирусной инактивации и(или) элиминации возможных контаминирующих вирусов.

ИСХОДНОЕ СЫРЬЕ И МАТЕРИАЛЫ

Все исходное сырье и материалы, которые получены от животных, несущих риск передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных, требуют оценки риска губчатой энцефалопатии, как описано в общих фармакопейных статьях *2.3.19.2. Продукты с риском передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных* и *2.3.19.3. Минимизация риска контаминации лекарственных средств инфекционными агентами прионных заболеваний*.

Для БЛП, полученных с использованием клеточных линий, характерен риск вирусной контаминации, связанный с возможной контаминацией клеточных субстратов или случайного попадания вируса на этапах технологического процесса. Безопасность

БЛП в отношении вирусного заражения может быть обеспечена соблюдением требований к субстратам производства в соответствии с общими фармакопейными статьями *2.3.19.4. Стада кур для производства и контроля качества вакцин, не содержащие определенных патогенов*, *номер Требования к клеточным культурам – субстратам производства биологических лекарственных препаратов*, а также применением программы испытаний на вирусы и оценки удаления и (или) инактивации вирусов, достигнутой в процессе производства, согласно указаниям общих фармакопейных статей *2.3.1.3. Вирусная безопасность*; *номер Испытания на посторонние агенты в вирусных вакцинах.*

Животных, используемых для производства БЛП, получают из постоянно контролируемых хозяйств, благополучных в отношении бактериальных, вирусных, прионных и других болезней, опасных для человека. При производстве или контроле качества вакцин допустимо использование птенцов, эмбрионов или культур клеток, полученных из яиц от стада здоровых птиц.

При производстве БЛП из плазмы и клеток крови, биологических жидкостей и органов человека соблюдают требования, предъявляемые к состоянию здоровья доноров.

СИСТЕМА БАНКОВ КЛЕТОК И ПОСЕВНЫХ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ

Для предотвращения нежелательного изменения свойств, которое может произойти вследствие многократных пересевов или большого числа пассажей, производство БЛП, получаемых из культур микроорганизмов или клеток, базируют на системе банков посевных культур микроорганизмов или клеток, охарактеризованных соответствующим образом.

В производственном процессе используют генетически стабильные производственные штаммы бактерий и вирусов, клеточные линии животного происхождения охарактеризованные и депонированные в официальных коллекциях, контролируемые по биологическим свойствам. Посевные культуры микроорганизмов и банки клеток создают, хранят и используют таким образом, чтобы риск их контаминации или изменения характеристик был минимальным (например, хранение в герметичных ёмкостях в жидком азоте). Количество допустимых для производства серии готового лекарственного препарата генераций (удвоений, пассажей) культуры микроорганизма или клеточной культуры устанавливают при фармацевтической разработке и подтверждают при валидации процесса производства. Критерием, ограничивающим число пассажей бактерий или вирусов, является генетическая стабильность производственных штаммов. Для культивирования микроорганизмов и клеточных линий используют подходящие питательные и культуральные среды. При культивировании клеточных линий животного и человеческого происхождения, как правило, не допускается использование бета-лактамных антибиотиков, а также сыворотки крови человека.

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для оценки биологической активности БЛП, выражаемой в международных единицах, используют биологические международные стандартные образцы. Могут быть использованы фармакопейные стандартные образцы, калиброванные относительно Международного стандартного образца. За международную единицу принимают активность определенного количества Международного стандартного образца, устанавливаемую Всемирной организацией здравоохранения.

Для оценки биологической активности БЛП, выражаемой в других единицах (например, единиц связывания анатоксина), используют подходящий стандартный образец, охарактеризованный надлежащим образом в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза.

В ряде случаев для идентификации, количественного определения и других испытаний некоторых БЛП в качестве стандартного образца используют серию лекарственного препарата с доказанной стабильностью и репрезентативностью по

отношению к сериям, прошедшим клинические исследования или репрезентативную серию фармацевтической субстанции. Данный стандартный образец должен быть охарактеризован надлежащим образом в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза

ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ

Установление характеристик БЛП (готового продукта) включает определение физико-химических свойств, чистоты и наличия примесей, биологической активности, безопасности и, при необходимости, иммунохимических свойств.

Испытания, результаты которых имеют решающее значение для оценки качества (например, отсутствие вирусов), но не могут быть проведены на лекарственном препарате, проводят на соответствующих промежуточных продуктах.

В ряде случаев активность некоторых БЛП зависит от конъюгации действующего вещества с другим соединением или от связывания с адъювантом. Диссоциацию активного ингредиента(ов) от носителя, используемого в составе конъюгатов или адъювантов, испытывают в реальном времени и при реальной температуре (в том числе в условиях транспортировки). Оценка стабильности таких препаратов может быть затруднена, поскольку иногда определение биологической активности и физико-химических характеристик в испытаниях *in vitro* нецелесообразны или дают неточные результаты. При необходимости разрабатывают, например, испытание промежуточного продукта до конъюгации/связывания или используют другое подходящее испытание.

Определение физико-химических свойств включает испытания по подтверждению состава, физических свойств, первичной структуры действующего вещества БЛП, в том числе структурную гетерогенность (если применимо).

Биологическая активность является особой характеристикой и показателем качества БЛП, которая определяется способностью (свойством) БЛП оказывать биологический эффект. Для оценки биологической активности как правило используют подходящий биологический метод испытаний. Примерами таких методов являются

– испытания *in vivo* (на животных), измеряющие биологический ответ организма на введение БЛП;

– испытания *in vitro* на культурах клеток, позволяющие определить биохимический или физиологический ответ на клеточном уровне;

– биохимические методы испытаний, характеризующие такие виды биологической активности, как, например, скорость ферментативных реакций или биологические ответы, индуцируемые иммунологическими взаимодействиями.

Активность (выражаемая в единицах активности) – количественная мера биологической активности, основанная на показателе качества БЛП, связанном с его релевантными биологическими свойствами.

Содержание действующего (активного) вещества (выражаемое по массе) – количество действующего (активного) вещества (например, белка), определяемое физико-химическими методами.

При фармацевтической разработке БЛП, если применимо, должна быть подтверждена сопоставимость результатов определения активности в биологических испытаниях при контроле качества с эффективностью ЛП.

В случаях, когда информация о физико-химических свойствах БЛП не позволяет подтвердить структуру более высокого порядка, допустимо проведение биологических испытаний с расширенными границами доверительного интервала в комбинации с определением содержания действующего (активного) вещества.

Для оценки биологической активности замена биологических испытаний физико-химическими допускается в случае, если с помощью таких физико-химических методов можно получить достаточно подробную характеристику БЛП, в том числе информацию о структуре высокого порядка, и показана релевантная корреляция с биологической активностью. Если для количественного определения биологической активности

используются только физико-химические испытания (на основании соответствующей корреляции), их результаты выражают по массе.

Если действующим (активным) веществом БЛП являются антитела, то определяют его **иммунологические свойства**. Для определения аффинности, авидности и иммунореактивности (включая перекрестную реактивность) проводят испытания связывания антитела с очищенными антигенами или установленными участками антигенов. Иммунохимические свойства действующего вещества БЛП могут быть использованы для установления его подлинности, однородности или чистоты, а также для его количественного определения.

Безопасность. Для определённых групп БЛП проводят испытание на безопасность, связанную, например, с вирулентностью вакцинных (аттенуированных) штаммов бактерий или вирусов, их токсигенностью.

Необходимость испытания на безопасность обусловлена возможной остаточной патогенностью производственных штаммов бактерий или вирусов, которая может также проявляться вирулентностью, токсигенностью.

Нарушения технологического процесса, например, недостаточная детоксикация бактериальных токсинов при производстве анатоксинов, могут приводить к реверсии токсических свойств.

Насколько возможно, вакцины и анатоксины, не должны содержать компоненты, обладающие известным токсическим, аллергическим или другим нежелательным действием на организм человека.