

2.3.19.11. МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

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, а также к моноклональным антителам, получаемым из асцитической жидкости, требования к которым устанавливаются 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). При визуальном осмотре в подходящих условиях моноклональные антитела должны быть практически свободны от видимых частиц.

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 три короткие гипервариабельные последовательности (области, 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 аминокислотной последовательности;

– *рекомбинантные моноклональные антитела человека*, в которых переменные домены тяжелых и легких цепей антитела человека объединяются 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 основано на системе посевных материалов с использованием главного банка клеток и, если применимо, рабочего банка клеток, полученных из клонированных клеток. Технологию производства валидируют в ходе фармацевтической разработки 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 2.3.19.3. *Минимизация риска контаминации лекарственных средств инфекционными агентами прионных заболеваний.* 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 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, белок А, антибиотики, компоненты клеточной среды);
- специфичность и биологическая активность моноклонального антитела;
- отсутствие пирогенных веществ неэндоксиновой природы, 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 (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).

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 или срок хранения, обоснованный данными о стабильности.

Количественное определение биологическими методами. Испытания выбирают, с учетом их корреляции с предполагаемым механизмом действия моноклонального антитела.

Стандартные образцы. В качестве стандартного образца для идентификации, количественного определения и других испытаний можно применять образцы из серии лекарственного препарата с доказанной стабильностью и эффективностью, использованной в клинических исследованиях, или репрезентативной ей. Исследования проводят в соответствии с требованиями раздела *Определение характеристик продукта (моноклонального антитела)* исключая определение перекрестной реактивности для каждой серии стандартного образца.

Определение серии. 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 агентов 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, стабильностью кодирующей экспрессионной конструкции в клетках, культивируемых до предельного возраста клеток *in vitro* (или более) для использования в производстве или других целей путем проведения либо испытания на нуклеиновые кислоты, либо количественного определения продукта (моноклонального антитела).

БАНКИ КЛЕТОК

Главный банк клеток представляет собой гомогенную суспензию линии клеток, продуцирующих моноклональные антитела, распределенную 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 распределенных в равных объемах 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.

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 первого рабочего банка клеток данные испытания выполняют на послепроизводственных клетках, полученных из 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 использовался

потенциально контаминированный биологический материал, проводят испытания на наличие отдельных вирусов с учетом происхождения данного материала. Допускается не проводить испытание, если этот материал подвергается валидированной процедуре инактивации вирусов.

Послепроизводственные 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 установленного 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 зависят от природы продуцирующей системы.

Каждый сбор проверяют на содержание антител, бионагрузку, содержание эндотоксинов и наличие 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 трех 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. Сбор биомассы, в котором обнаружены эндогенные вирусы, не используют для очистки, если отсутствует план соответствующих мероприятий по предотвращению передачи инфекционных агентов.

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 родственных и производственных примесей, а также по удалению и (или) инактивации инфекционных агентов. 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 остаточных белков клетки-хозяина и ДНК клетки-хозяина и вектора; 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 представляет собой конъюгированное или модифицированное антитело, должны быть выполнены соответствующие испытания до и после конъюгации или модификации антитела.

Если предполагается хранение промежуточных продуктов, проводят соответствующую оценку их стабильности и влияния на качество или срок годности или 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 подвергают стерилизующей фильтрации и расфасовывают в асептических условиях в стерильные контейнеры, при необходимости проводят лиофилизацию.

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

Серия лекарственного препарата в жидкой лекарственной форме для инъекций или инфузий, должна соответствовать требованию практически свободны от видимых механических включений.

Рекомендации по визуальному осмотру и контролю качества лекарственных препаратов на видимые механические включения приведены в общей фармакопейной статье **номер** *Применение испытания на видимые механические включения*.

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 уровня.

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 восстановления 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. Количественное определение также позволяет подтвердить подлинность.

ИСПЫТАНИЯ

Прозрачность раствора. Жидкие или восстановленные твёрдые лекарственные формы лекарственных препаратов должны соответствовать пределам, установленным для конкретного лекарственного препарата в отношении степени опалесценции (2.1.2.1).

Цветность раствора. Жидкие или восстановленные твёрдые лекарственные формы лекарственных препаратов должны соответствовать пределам, установленным для конкретного лекарственного препарата в отношении степени окрашивания (2.1.2.2).

Механические включения: видимые частицы (номер). Жидкие или восстановленные твёрдые лекарственные формы лекарственных препаратов должны выдерживать требования испытания на видимые механические включения, при отсутствии других указаний.

Требования не распространяются на лекарственные препараты, на этикетке которых указано использование 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 объеме растворителя в течение времени, установленного для конкретного лекарственного препарата.

pH (2.1.2.3). Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, установленным для конкретного лекарственного препарата.

Осмоляльность (2.1.2.32). Не менее 240 мОсмоль/кг при отсутствии других указаний.

Извлекаемый объем (2.1.9.9). Лекарственный препарат должен выдерживать требования испытания на извлекаемый объем.

Общий белок (2.1.5.14). Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, установленным для конкретного лекарственного препарата.

Молекулярно-массовое распределение. Определяют молекулярно-массовое распределение подходящим методом, например, методом эксклюзионной хроматографии (2.1.2.29). Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, установленным для конкретного лекарственного препарата.

Молекулярная идентичность и структурная целостность. В зависимости от природы моноклонального антитела, его 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 подходящие валидированные методики. Если испытания по определению производственных примесей были проведены на фармацевтической субстанции или готовом нерасфасованном продукте с удовлетворительным результатом, допускается не проводить эти испытания на лекарственном препарате.

Стабилизатор и другие вспомогательные вещества. Если применимо, лекарственный препарат должен соответствовать пределам, установленным для конкретного лекарственного препарата.

Вода (2.1.5.12). Лекарственные препараты в виде лиофилизатов должны соответствовать пределам, установленным для конкретного лекарственного препарата.

Стерильность (2.1.6.1). Лекарственные препараты должны выдерживать испытания на стерильность.

Бактериальные эндотоксины (2.1.6.8). Лекарственные препараты должны соответствовать установленным требованиям.

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение активности 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.

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:

- количество единиц на миллилитр, если применимо;
- содержание белка в упаковке;
- содержание (активность) моноклональных антител в упаковке;
- для жидких лекарственных препаратов – объём препарата в упаковке;
- для лекарственных препаратов в виде лиофилизатов:
 - название и объём растворителя (восстанавливающей жидкости);
 - 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.